



**EFFECTOS DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN
Y DE INCUBACIÓN SOBRE LA VIABILIDAD DEL HUEVO FÉRTIL DE
PERDIZ ROJA (*Alectoris rufa*)**

Trabajo realizado para optar al grado de Doctor en Ingeniería Agronómica
Programa de Doctorado: Recursos Naturales y Medio Ambiente
Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

Autora:

Paloma Gómez de Travededo Calvo

Directores:

Dr. Pedro González Redondo y Dr. Francisco P. Caravaca Rodríguez
Departamento de Ciencias Agroforestales

Tutor:

Dr. Antonio Jordán López
Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

Sevilla, 2014



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

TÍTULO DE LA TESIS: EFECTOS DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN Y DE INCUBACIÓN SOBRE LA VIABILIDAD DEL HUEVO FÉRTIL DE PERDIZ ROJA (*Alectoris rufa*)

AUTORA: PALOMA GÓMEZ DE TRAVECEDO CALVO D.N.I.: 24237488-L

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES Y EL TUTOR DE LA TESIS.

Esta tesis se ha desarrollado correctamente en tiempo y en forma y ha dado lugar a tres artículos. El primer artículo ha sido publicado en la revista Poultry Science, con Índice de Impacto de 1,516 y posición 11/54 (primer cuartil y primer tercil) en la categoría “Agriculture, Dairy & Animal Science” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012). El segundo artículo ha sido aceptado para su publicación en la revista International Journal of Agriculture and Biology, con Índice de Impacto de 0,808 y posición 21/57 (segundo cuartil y segundo tercil) de la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012). El tercer artículo ha pasado la segunda ronda de revisiones en la revista Spanish Journal of Agricultural Research, con Índice de Impacto de 0,659 y posición 28/57 (segundo cuartil y segundo tercil) de la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012). No hay que destacar ninguna circunstancia desfavorable.

Por todo ello, **se autoriza la presentación de la tesis doctoral.**

Sevilla, 22 de abril de 2014

Firma de los directores:

Pedro González Redondo
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Francisco P. Caravaca Rodríguez
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

Firma del tutor:

Antonio Jordán López
Dpto. Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola
Universidad de Sevilla



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

TÍTULO DE LA TESIS: **EFFECTOS DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN Y DE INCUBACIÓN SOBRE LA VIABILIDAD DEL HUEVO FÉRTIL DE PERDIZ ROJA (*Alectoris rufa*)**

AUTORA: M. PALOMA GÓMEZ DE TRAVECEDO CALVO D.N.I.: 24237488-L

INFORME DE LOS DIRECTORES Y TUTOR DE LA TESIS SOBRE LA IDONEIDAD DE SU PRESENTACIÓN BAJO LA MODALIDAD DE COMPENDIO DE PUBLICACIONES Y SOBRE LA RELAVENCIA CIENTÍFICA DE LAS MISMAS

La Tesis realizada es fruto de un importante trabajo de investigación al abordar y desarrollar distintos aspectos del manejo del huevo fértil de perdiz roja durante su conservación y durante su incubación. La Tesis Doctoral se ha elaborado a modo de “**compendio de publicaciones**”, estructurándose en los siguientes apartados:

- Resumen
- Abstract
- Introducción
- Objetivos. Se ha planteado un objetivo general y tres objetivos específicos.
- Resumen global de los resultados: Para alcanzar cada objetivo específico se ha realizado un estudio. A partir de cada estudio se ha redactado un artículo científico.
- Discusión global de los resultados.
- Conclusiones.
- Bibliografía.
- Copia completa de las publicaciones:

Artículo 1:

Gómez-de-Travedo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo, 2014. **Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**. Poultry Science 93:747–754. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03329>.

La revista Poultry Science, tiene un índice de impacto de 1,516 y está situada en el primer cuartil y primer tercil de la categoría “Agriculture, Dairy & Animal Science”, del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

Este artículo recoge los resultados del Estudio 1, que analiza el efecto sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa* de dos periodos de almacenamiento (7 y 42 d) con tres temperaturas diferentes cada uno de ellos (9, 12 y 15 °C).

Artículo 2:

Gómez-de-Travecedo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo. **Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs on hatchability and incubation length.** Este artículo ha sido aceptado en octubre de 2013 para su publicación en la revista International Journal of Agriculture and Biology y se encuentra actualmente en fase de galeradas corregidas.

La revista International Journal of Agriculture and Biology tiene un índice de impacto de 0,808 y está situada en el segundo cuartil y segundo tercil de la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Este artículo recoge los resultados del Estudio 2, que analiza el efecto sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa* de dos periodos de almacenamiento (7 y 42 d), cada uno de ellos con tres tratamientos de incubación previa al almacenamiento (PRESI) diferentes (0, 6 y 12 h PRESI).

Artículo 3:

Gómez-de-Travecedo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo. **Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs.** Este artículo ha pasado la segunda ronda de revisiones en la revista Spanish Journal of Agricultural Research.

La revista Spanish Journal of Agricultural Research tiene un índice de impacto de 0,659 y está situada en el segundo cuartil y segundo tercil de la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

El artículo recoge los resultados del Estudio 3, que analiza el efecto sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa* del momento en el que se transfieren los huevos de la incubadora (a 37,8 °C) a la nacedora (37,5 °C), entre los días 18 y 22 desde el inicio de la incubación.



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

Así pues, de los tres artículos que conforman esta Tesis Doctoral, uno de ellos ya está publicado en una revista indexada de alto impacto (primer cuartil y primer tercil), otro ya está aceptado para su publicación, en fase de galeradas corregidas, en una revista indexada del segundo cuartil y segundo tercil, y el tercero ha pasado la segunda ronda de revisiones, también en una revista indexada del segundo cuartil y segundo tercil.

En resumen, consideramos que la originalidad, grado de innovación y calidad científica de la Tesis Doctoral que se presenta es indudable, y por todo ello, autorizamos la Presentación y Defensa de esta Tesis Doctoral bajo la modalidad de “**compendio de publicaciones**”, para obtener el grado de Doctor.

Sevilla, 22 de abril de 2014

Firma de los directores:

Pedro González Redondo
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Francisco P. Caravaca Rodríguez
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Firma del tutor:

Antonio Jordán López
Dpto. Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola
Universidad de Sevilla



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

TÍTULO DE LA TESIS: **EFFECTOS DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN Y DE INCUBACIÓN SOBRE LA VIABILIDAD DEL HUEVO FÉRTIL DE PERDIZ ROJA (*Alectoris rufa*)**

AUTORA: M. PALOMA GÓMEZ DE TRAVECEDO CALVO D.N.I.: 24237488-L

ACEPTACIÓN DE LOS COAUTORES PARA LA PRESENTACIÓN DE LOS TRABAJOS COMO TESIS DOCTORAL

Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo, coautores de los artículos científicos que se relacionan a continuación, autorizan a la primera autora, Paloma Gómez de Travededo y Calvo, a su presentación como parte integrante de su tesis doctoral.

Artículo 1:

Gómez-de-Travededo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo, 2014. **Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**. Poultry Science 93:747–754. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03329>.

Artículo 2:

Gómez-de-Travededo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo. **Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs on hatchability and incubation length**. Aceptado en octubre de 2013 para su publicación en la revista International Journal of Agriculture and Biology.

Artículo 3:

Gómez-de-Travededo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo. **Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**. Ha pasado la segunda ronda de revisiones en la revista Spanish Journal of Agricultural Research.

Sevilla, 22 de abril de 2014

Firma de los coautores:

Pedro González Redondo
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla

Francisco P. Caravaca Rodríguez
Dpto. Ciencias Agroforestales
Universidad de Sevilla



Programa de doctorado:
Recursos Naturales y Medio Ambiente

Departamento:
Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola

TÍTULO DE LA TESIS: **EFFECTOS DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN Y DE INCUBACIÓN SOBRE LA VIABILIDAD DEL HUEVO FÉRTIL DE PERDIZ ROJA (*Alectoris rufa*)**

AUTORA: M. PALOMA GÓMEZ DE TRAVECEDO CALVO D.N.I.: 24237488-L

DECLARACIÓN DE PARTICIPACIÓN DE LA DOCTORANDA EN LA ELABORACIÓN DE LOS TRABAJOS

Yo, Paloma Gómez-de-Travededo Calvo, primera autora de los trabajos que se relacionan a continuación, declaro que en cada uno de ellos describo un estudio en el que me he encargado del diseño experimental, adquisición y puesta a punto de los materiales, realización de los experimentos, recogida de datos, análisis estadístico de los resultados, discusión de los mismos y extracción de conclusiones y redacción del artículo científico para su publicación en revistas de alto impacto. Todo ello lo he realizado bajo la dirección y supervisión de mis directores de tesis, Dr. Pedro González Redondo y Dr. Francisco P. Caravaca Rodríguez.

Artículo 1:

Gómez-de-Travededo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo, 2014. **Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**. Poultry Science 93:747–754. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03329>.

Artículo 2:

Gómez-de-Travededo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo. **Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs on hatchability and incubation length**. Aceptado en octubre de 2013 para su publicación en la revista International Journal of Agriculture and Biology.

Artículo 3:

Gómez-de-Travededo, P.; F.P. Caravaca y P. González-Redondo. **Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**. Ha pasado la segunda ronda de revisiones en la revista Spanish Journal of Agricultural Research.

Sevilla, 22 de abril de 2014

Fdo. Paloma Gómez-de-Travededo Calvo

ÍNDICE GENERAL

Índice de tablas	17
Índice de figuras	19
Agradecimientos	21
Resumen	23
Abstract	27
Organización de la tesis doctoral	29
Glosario de abreviaturas utilizadas	31
INTRODUCCIÓN	33
1. La perdiz roja. Hábitat y distribución geográfica.....	35
2. Importancia cinegética de la especie	36
3. Importancia económica de la especie.....	38
4. Evolución de la cría intensiva de perdiz roja en España	40
5. Producción intensiva de perdiz roja en España	42
6. Mercado del huevo fértil de perdiz roja	46
7. Manejo del huevo fértil de perdiz roja	47
7.1. Recogida de los huevos tras la puesta	47
7.2. Selección y limpieza de los huevos	48
7.3. Fumigación de los huevos	49
7.4. Conservación de los huevos	50
7.4.1. Influencia de la duración y temperatura de conservación sobre la viabilidad del huevo fértil	51
7.5. Incubación	53
7.5.1. Influencia de la temperatura de incubación sobre la viabilidad del huevo fértil.....	55
OBJETIVOS	57
RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS	61
1. Efecto de la duración y de la temperatura de conservación sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>)	64

1.1. Fertilidad y peso inicial del huevo.....	64
1.2. Pérdidas de peso del huevo fértil.....	65
1.2.1. Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación.....	66
1.2.2. Pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 días de incubación	67
1.2.3. Pérdida total de peso del huevo fértil.....	67
1.3. Tasa de eclosión y fase de mortalidad embrionaria.....	67
1.4. Duración de la incubación.	69
1.5. Peso del perdigón en la eclosión.....	70
2. Efecto de la incubación previa al almacenamiento sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz (<i>Alectoris rufa</i>).....	71
2.1. Fertilidad y peso inicial del huevo.....	71
2.2. Pérdidas de peso del huevo fértil.....	72
2.2.1. Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación.....	73
2.2.2. Pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 días de incubación	74
2.2.3. Pérdida total de peso del huevo fértil.....	74
2.3. Tasa de eclosión y fase de mortalidad embrionaria.....	75
2.4. Duración de la incubación.	77
2.5. Peso del perdigón en la eclosión.....	77
3. Efecto del momento del cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja. (<i>Alectoris rufa</i>).....	78
3.1. Fertilidad y peso inicial del huevo.....	79
3.2. Pérdidas de peso del huevo fértil.....	79
3.3. Tasa de eclosión y fase de mortalidad embrionaria.....	79
3.4. Duración de la incubación.	80
3.5. Peso del perdigón en la eclosión.....	80
DISCUSIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS	83
1. Fertilidad y peso inicial del huevo	85
2. Pérdida de peso del huevo fértil	85
2.1. Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación.....	85

2.2. Pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 días de incubación	86
2.3. Pérdida total de peso del huevo fértil.....	87
3. Tasa de eclosión del huevo fértil y fase de mortalidad embrionaria	87
3.1. Influencia de la duración de la conservación.....	88
3.2. Influencia del tratamiento PRESI	89
4. Duración de la incubación y dispersión de las eclosiones.....	90
4.1. Influencia de la duración del periodo de conservación.....	91
4.2. Influencia del momento de cambio de la temperatura de incubación a la temperatura de nacimiento	91
5. Peso del perdigón al nacimiento.....	93
6. Implicaciones y líneas de investigación futuras	94
CONCLUSIONES	99
BIBLIOGRAFÍA	103
COPIA COMPLETA DE LAS PUBLICACIONES	115
Autores, revistas de publicación e índice de impacto	117
Artículo 1. Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (<i>Alectoris rufa</i>) eggs	119
Artículo 2. Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (<i>Alectoris rufa</i>) eggs on hatchability and incubation length	129
Artículo 3. Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial incubation of red-legged partridge (<i>Alectoris rufa</i>) eggs	141

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Evolución del número de explotaciones de perdices en España durante los últimos años	42
Tabla 2. Tiempos, temperaturas y humedades recomendadas en la conservación de huevos de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>)	51
Tabla 3. Fertilidad y tasa de eclosión de los huevos de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) en función de la duración y la temperatura de conservación.....	65
Tabla 4. Peso del huevo fértil de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) y pérdidas de peso durante la conservación y durante los primeros 21 d de incubación en función de la duración y la temperatura del almacenamiento	66
Tabla 5. Efecto de la duración y de la temperatura de conservación sobre la mortalidad embrionaria en huevos fértiles de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>)	69
Tabla 6. Peso del perdigón al nacimiento y duración de la incubación en perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) en función de la duración y la temperatura del almacenamiento.....	70
Tabla 7 Fertilidad y tasa de eclosión de los huevos de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) en función de la duración de la conservación y del tratamiento de incubación previo a la conservación	72
Tabla 8. Peso del huevo fértil de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) y pérdidas de peso durante la conservación y durante los primeros 21 d de incubación en función de la duración del almacenamiento y del tratamiento de incubación previo a la conservación	73
Tabla 9. Efecto de la duración y de la temperatura de conservación sobre la mortalidad embrionaria en huevos fértiles de perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>)	76
Tabla 10. Peso del perdigón al nacimiento y duración de la incubación en perdiz roja (<i>Alectoris rufa</i>) en función de la duración del almacenamiento y del tratamiento de incubación previo a la conservación.....	78
Tabla 11. Fertilidad, tasa de eclosión, mortalidad embrionaria y peso del perdigón al nacimiento en función del momento de cambio de la temperatura de incubación (37,8°C) a la de nacimiento (37,5°C) en huevos de perdiz roja.....	81

Tabla 12. Peso del huevo, pérdida de peso del huevo a los 21 d de incubación y duración de la incubación de huevos de perdiz roja en función del momento de cambio de la temperatura de incubación (37,8°C) a la de nacimiento (37,5°C)..... 82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de <i>Alectoris rufa</i>	35
Figura 2. Distribución geográfica de <i>Alectoris rufa</i> en España	36
Figura 3. Evolución del número de ejemplares de perdiz roja capturados y soltados en España entre los años 2007 y 2011.....	39
Figura 4. Seltas de especies cinegéticas en España, año 2011	40
Figura 5. Frecuencia de puesta de la perdiz roja criada en cautividad con suplementación artificial del fotoperiodo (Fernandes Barbosa, 2009).....	47
Figura 6. Calendario de recogida de huevos para la realización de los Estudios 1, 2 y 3	63

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral se ha realizado en la Universidad de Sevilla (España) y ha sido parcialmente financiada por el Grupo de Investigación “Tecnología de la Producción Animal” (código AGR-233) del Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación (Junta de Andalucía, España), al cual quiero agradecer su colaboración.

Además, quiero dar las gracias a José Emilio Guerrero por animarme a embarcarme en esta aventura, de la que tanto he aprendido y tanto he disfrutado, al Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola de la Universidad de Sevilla por admitirme en su programa de doctorado Recursos Naturales y Medio Ambiente, a mi tutor Antonio Jordán por recoger el guante, y muy especialmente a mis directores, y ahora amigos, Pedro González Redondo y Francisco Caravaca, del Departamento de Ciencias Agroforestales de la misma Universidad, por el grandísimo apoyo ofrecido a lo largo de estos años. Sin sus conocimientos, orientación, apoyo y dedicación, este trabajo nunca se hubiera llevado a cabo. No me olvido de María Pérez y José González, que me ayudaron en la fase experimental, de Manolo Delgado, por sus aportaciones al análisis estadístico de los resultados, ni de Fernando Martínez, que nos echó una mano con el inglés. También quiero mostrar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que me han rodeado a lo largo de estos años y me han ofrecido su cariño, me han dado ánimos para trabajar, o me han ayudado a desconectar y disfrutar en los momentos de descanso.

RESUMEN

La perdiz roja (*Alectoris rufa*) es una especie cinegética endémica del suroeste de Europa (España, Portugal, Francia, noroeste de Italia y algunas islas del Mediterráneo). También ha sido introducida con éxito en Reino Unido, Baleares, Azores, Islas Canarias y Madeira. En estos países, con el fin de proporcionar perdices para repoblación y asegurar los cupos de captura, se ha desarrollado con éxito a partir de los años 60 la cría en cautividad de esta especie. Sin embargo, algunos aspectos del manejo del huevo fértil de *A. rufa*, desde la puesta hasta la eclosión, no han sido aún científicamente investigados a pesar de tratarse de una de las fases clave en la productividad de las explotaciones cinegéticas de perdiz roja. Concretamente, las temperaturas de conservación y de incubación del huevo fértil son dos de los factores determinantes para conseguir óptimas tasas de eclosión y perdigones vigorosos.

El objetivo general de esta tesis doctoral consiste en conocer el efecto de la temperatura sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja, tanto durante la fase de conservación como durante la fase de incubación artificial. Con este propósito se llevaron a cabo tres estudios. Con el primer estudio se investigó el efecto de dos periodos de almacenamiento (7 y 42 d) a diferentes temperaturas (9, 12 y 15 °C) sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa*. Con el segundo estudio se analizó el efecto de 0, 6 y 12 h de calentamiento (a 37,8 °C y 55% HR) previo a 7 y 42 d de conservación (a 15 °C) sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa*. Con el tercer estudio se investigó el efecto que tiene sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa* el momento en el que se cambia la temperatura de incubación (37,8 °C) a la de nacimiento (37,5 °C). En cada estudio y para cada tratamiento, según procediera, se midió la pérdida de peso del huevo durante el almacenamiento y durante la incubación, la tasa de eclosión y fases de desarrollo en que se produjo mortalidad embrionaria, la duración de la incubación y el peso del perdigón al nacimiento.

En el Estudio 1 se observó que el almacenamiento de huevos fértiles de perdiz roja durante 42 d provocaba un incremento de la mortalidad embrionaria, especialmente en la fase de aborto tardío, e incubaciones más largas que el almacenamiento durante 7 d. Temperaturas de 9, 12 o 15 °C durante periodos de almacenamiento de 7 o 42 d no influyeron sobre la tasa de eclosión de los huevos fértiles de perdiz roja, la duración de la incubación o el peso del

perdigón al nacimiento. Tampoco se observó interacción entre la duración y la temperatura de conservación para estas variables.

En el Estudio 2 se observó que, al contrario que en otras especies avícolas, en *A. rufa* el tratamiento de la incubación previa a la conservación de los huevos fértiles no contrarrestaba el efecto perjudicial del almacenamiento a largo plazo sobre la tasa de eclosión, sino que incluso lo agravaba. De hecho, cuando los huevos fueron sometidos a 37,8 °C durante 12 h previamente a un periodo de conservación de 42 d, la tasa de eclosión disminuyó drásticamente y la mortalidad embrionaria aumentó en el estado de desarrollo positivo.

En el Estudio 3 pudimos constatar que al cambiar la temperatura de incubación (37,8 °C) a la de nacimiento (37,5 °C) entre los días 18 y 22 desde el comienzo de la incubación, ni la tasa de eclosión del huevo fértil de *A. rufa*, ni la mortalidad embrionaria, ni el peso del perdigón al nacimiento ($P > 0,05$) se vieron afectados. Sin embargo, la pérdida de peso del huevo fértil tras 21 d de incubación y la duración de la incubación se vieron influenciadas por el momento en que se reduce la temperatura de incubación ($P < 0,05$ y $P < 0,001$, respectivamente). Así, cuando se redujo la temperatura de incubación a la de nacimiento entre los días 18 y 21 desde el inicio de la misma, los huevos de *A. rufa* eclosionan a los 23,49 d (coincidiendo con la media descrita en la literatura para esta especie), mientras que cuando la temperatura de incubación se redujo después (el día 22 desde el comienzo de la incubación) los perdigones nacieron antes (a los 23,04 d) y con menor dispersión que los del resto de los lotes. Este hecho tiene relevancia, puesto que una mayor sincronización de las eclosiones permite extraer todos los perdigones de la nacedora de una sola vez, minimizando las colas de extracción. Así, los primeros pollos en nacer no tienen que esperar mucho para ser extraídos y su riesgo de deshidratación se minimiza. Además, sacar a todos los perdigones de la nacedora de una sola vez permite criar lotes homogéneos de perdigones, facilitando el manejo posterior. No obstante, y dado que el objetivo final de la explotaciones cinegéticas de perdiz roja es producir perdices saludables y vigorosas para su suelta posterior en el campo, se deberían realizar estudios posteriores para investigar si el hecho de mantener la temperatura a 37,8 °C hasta el día 22 de incubación tiene algún efecto perjudicial sobre el desarrollo y viabilidad posterior del perdigón.

Palabras clave: Perdiz roja, *Alectoris rufa*, Granjas Cinegéticas, Incubación, Huevo fértil, Conservación de huevos, Incubación pre-almacenamiento

ABSTRACT

The red-legged partridge (*Alectoris rufa*) is a game species endemic to south-western Europe (Spain, Portugal, France, north-western Italy and some Mediterranean islands). It has also been successfully introduced in the United Kingdom, Balears, Azores, Canary Islands and Madeira. In these countries, captive breeding of *A. rufa* for hunting purpose has been successfully developed from the mid-sixties onwards in order to ensure hunting bags and provide birds for re-establishment purposes. However, several aspects of eggs handling, from laying to hatching, which is one of the keys to the productivity of these game farms, have not yet been rigorously investigated. Specifically, conservation and incubation temperature of hatching eggs are two of the main factors to achieve good hatchability and viable chicks.

The general aim of this doctoral thesis is to determine the effects of temperature, both during storage and during artificial incubation, on hatchability of *A. rufa* eggs. To this aim, three studies were carried out. The first study investigated the effects of 7- and 42-d storage periods with different storage temperatures (9, 12 and 15 °C) on *A. rufa* hatching eggs. The second study investigated whether 0, 6 or 12 h of pre-storage incubation (PRESI) at 37.8 °C and 55% RH before 7 and 42 d of storage improves viability of red-legged partridge eggs. The third study aimed to investigate the effects, on red-legged partridge eggs, of the time when the temperature is lowered from the incubation temperature (37.8 °C) to the hatcher temperature (37.5 °C). In every study, and for each treatment, egg weight losses during conservation and during incubation, hatchability, chick weight at hatch, incubation length, and developmental stage at embryonic mortality were measured, where appropriate.

In the first study it was found that 42 d of storage of fertile red-legged partridge eggs increased embryo mortality, mainly at late abortion stage, and lengthened incubation period, with respect to 7 d of storage. During 7- or 42-d storage periods, temperatures of 9, 12 or 15 °C did not affect the hatching rate of fertile red-legged partridge eggs, the incubation length or the chick weight at hatch. No interaction was found between storage length and storage temperature on these variables.

In contrast with other poultry species, in the second study it was found that PRESI did not offset the detrimental effect of the storage length on the hatchability and performance of

A. rufa eggs, but even aggravates it in case of 42 d of storage. Thus, 6 h of PRESI did not improve the hatching rate of 42-d stored fertile eggs, and 12 h of PRESI highly deteriorated hatchability of 42-d stored fertile eggs, increasing embryo mortality at positive development stage.

In the third study, we found that, if incubation temperature (37.8 °C) was lowered to hatching temperature (37.5 °C) on days 18 to 22 of incubation, hatchability, development stage at embryonic mortality and chick weight at hatch were not affected by the time of change of temperatures ($P > 0.05$). However, egg weight loss after 21 d of incubation and incubation length were highly influenced by the incubation treatment ($P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectively). Thus, eggs whose temperature was reduced on days 18 to 21 of incubation showed a 23.49-d incubation period, and eggs maintained at the incubation temperature of 37.8°C for 22 d not only hatched earlier (23.04 d) but also with lower dispersion than the eggs from the other treatments. This is a relevant finding, since improving hatching synchrony could enable farmers to extract all the chicks from the hatcher at the same time, thus minimizing extraction queues. That is, chicks that hatch earlier would not have to wait long for extractions and their dehydration risk would be minimized. Besides, extracting all the chicks from the hatcher at the same time could allow farmers to rear homogeneous batches of chicks, facilitating subsequent handling in the game farm. Nevertheless, since the final purpose of red-legged partridge farms is to rear healthy and vigorous partridges for releasing in natural environments, further research should investigate whether maintaining high the temperature until day 22 of incubation has any negative effect on chick growth and survival rate after hatch.

Key words: Red-legged partridge, *Alectoris rufa*, Game farms, Incubation, Hatching egg, Eggs storage, Pre-storage incubation

ORGANIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

La presente tesis doctoral comienza con una introducción, en la que se realiza una breve revisión bibliográfica sobre la perdiz roja (*Alectoris rufa*), el sector de su cría intensiva con fines cinegéticos y el manejo del huevo fértil, desde la puesta hasta la eclosión. El manejo del huevo durante su almacenamiento y su incubación es determinante en la cría en cautividad de *A. rufa*, ya que las condiciones ambientales a que se sometan los huevos, especialmente la temperatura, influirán en el desarrollo del embrión, la tasa de eclosión y la viabilidad de los perdigones.

Sobre la base del conocimiento generado en estudios previos con otras especies avícolas (gallina, pavo, codorniz y otras especies del género *Alectoris*), acerca de la influencia de la temperatura sobre la viabilidad del huevo fértil, se ha establecido un objetivo general y tres objetivos específicos.

Para alcanzar cada objetivo específico se ha realizado un estudio. Cada estudio ha dado lugar a un artículo científico presentados para su publicación en revistas internacionales de alto impacto incluidas en el Journal Citation Reports. Los resultados de los tres estudios se muestran en el apartado Resumen global de los resultados.

A continuación se expone una discusión global de los resultados, en la que se analizan los principales hallazgos de las investigaciones, emitiendo recomendaciones para futuras líneas de investigación y sugiriendo posibles estrategias de manejo del huevo en granjas y plantas de incubación.

Por último, y a modo de síntesis, se presentan las conclusiones finales derivadas de los resultados.

Al final del documento se incluye copia completa de los tres artículos y las características de cada una de las revistas elegidas para su publicación.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

<i>A. rufa</i>	<i>Alectoris rufa</i>
AD	aborto tardío
AT.....	aborto temprano
Ca	calcio
cm	centímetro
°C.....	grados centígrados
d.....	día
DP.....	desarrollo positivo
EEM	error estándar de la media
EM.....	energía metabolizable
ET	error típico
FB	fibra bruta
FSD.....	fértil sin desarrollo
g.....	gramo
GB	grasa bruta
h.....	hora
HR	humedad relativa
m.s.n.m.	metros sobre el nivel del mar
M.S.U.	Mississippi State University
m ³	metro cúbico
ml.....	mililitro
Núm.	número
<i>P</i>	significación estadística
P.....	huevo picado pero sin salir del cascarón
PB	proteína bruta
PRESI.....	pre-storage incubation (incubación previa a la conservación)
s.	Siglo

Revistas

Anim. Res.....	Animal Research.
Avian Biol. Res.	Avian Biology Research.
Br. Poul. Sci.	British Poultry Science.

Braz. J. Poult. Sci.	Brazilian Journal of Poultry Science.
Game Conserv. Ann. Rev.	Game Conservancy Annual Review.
Inf. Tec. Econ. Ag.	Información Técnica Económica Agraria.
Int. J. Agri. Biol.	International Journal of Agriculture and Biology.
J. Agric. Res.	Journal of Agricultural Research.
J. Agric. Sci.	Journal of Agricultural Science.
J. Appl. Poult. Res.	Journal of Applied Poultry Research.
J. Embryol. Exp. Morph.	Journal of Embryology and Experimental Morphology.
J. Exp. Zool.	Journal of Experimental Zoology.
J. Poult. Sci.	Journal of Poultry Science.
Missouri AES Res. Bull.	Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin.
Poult. Sci.	Poultry Science.
Rev. Esp. Estud. Agrosoc. Pesq.	Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros.
Rev. Med. Vet.	Revue de Médecine Vétérinaire
Riv. Avic.	Rivista di Avicoltura.
U. S. Dep. Agric. Tech. Bull.	United States Department of Agriculture Technical Bulletin.
World's Poult. Sci. J.	World's Poultry Science Journal.

INTRODUCCIÓN

1. La perdiz roja. Hábitat y distribución geográfica.

La perdiz roja (*Alectoris rufa*) es una gallinácea de la familia Phasianidae de pequeño-mediano tamaño, endémica del suroeste de Europa. (España, Portugal, Francia, noroeste de Italia y algunas islas del Mediterráneo; Figura 1). Desde tiempos inmemoriales, el hombre la ha cazado por su belleza, bravura de carácter y las peculiares y atractivas características de su lance, además de por su gran valor gastronómico. Ya en el s. XIII, el atractivo cinegético de esta especie propició que el hombre la introdujera con éxito en lugares donde no existía como las Islas Baleares, Islas Canarias y Madeira. Más tarde, en el s. XV, se introdujo en Azores e incluso en Reino Unido, donde no se consiguió su aclimatación hasta el s. XVIII, tras varios intentos (Aebischer y Lucio, 1997, González-Redondo, 2004). También ha sido introducida, aunque con poco éxito, en Estados Unidos, Nueva Zelanda y Europa central (Cramp y Simmons, 1980; Del Hoyo *et al.*, 1994).



Figura 1. Distribución geográfica de *Alectoris rufa* (Aebischer y Lucio, 1997)

Alectoris rufa se adapta a una gran diversidad de biotopos, desde el nivel del mar hasta los prados alpinos existentes por encima de los 2.000 m (Mullarney *et al.*, 2001). En cambio, muestra preferencia por los lugares secos y templados de altitud baja a media, y raramente supera los 1.500 m de altitud (Madroño *et al.*, 2004). Prefiere zonas abiertas (pseudosteparias o agrícolas), en especial zonas de agricultura poco intensiva con alternancia de cultivos herbáceos con viñas, olivares, campos en barbecho (Lucio y Purroy, 1992), o campos con cobertura arbustiva media (Lucio, 1991). El motivo es que esta distribución posibilita la

conservación de márgenes de vegetación natural (Lucio, 1991; Blanco-Aguilar *et al.*, 2003) y ofrece una mayor diversidad de alimentos vegetales y animales.

En España es mucho más abundante en el centro (Castilla-La Mancha, Extremadura, Castilla y León y norte de Andalucía), y más escasa en el norte de España (Galicia, Asturias, Cantabria, Navarra y País Vasco) (Figura 2, Martí y Del Moral, 2003).

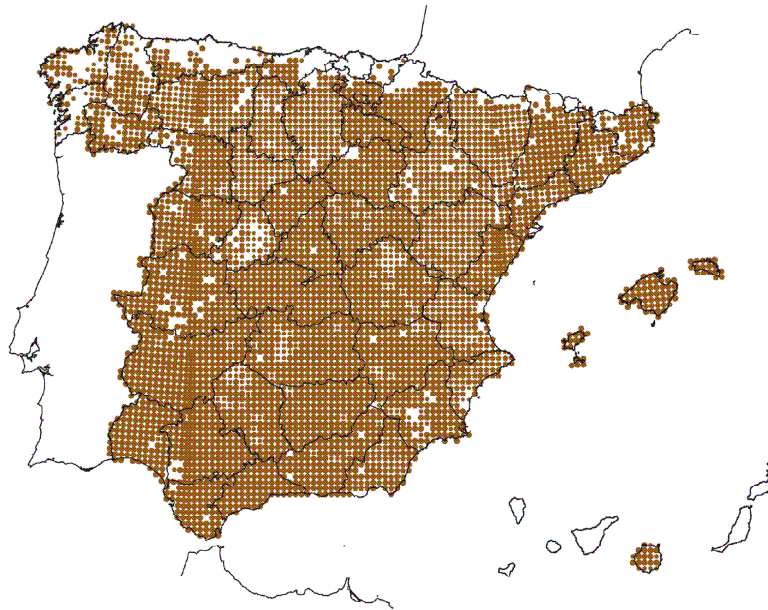


Figura 2 Distribución de *Alectoris rufa* en España (Martí y Del Moral, 2003)

2. Importancia cinegética de la especie

Desde tiempos inmemorables, el hombre ha cazado la perdiz roja, que es apreciada por su belleza, su bravura de carácter, su gran valor gastronómico y las peculiares y atractivas características de su lance. Los primeros pobladores de la Península Ibérica ya cazaban perdiz y otras especies. Pero el esplendor de la caza de la perdiz roja en España tiene lugar en los comienzos de la Edad Media, época en que se empezaron a dictar las primeras normas sobre la caza (Alonso, 1994; González-Redondo, 2004).

La caza de la perdiz roja tiene multitud de modalidades cinegéticas, que en la actualidad son las siguientes (Alonso, 1994):

- **En ojeo:** El ojeo es una de las modalidades tradicionales de la caza menor española, practicada normalmente sobre la perdiz roja, la especie más representativa de la caza menor en España. Sobre un terreno predeterminado se colocan los puestos o pantallas - alrededor de una docena- en disposición, normalmente, semicircular. Los ojeadores o batidores (en número de dos o tres por escopeta) se colocan en la dirección opuesta a la de las pantallas y también en semicírculo. Avanzan hacia los puestos y profieren voces haciendo ruido con el objeto de dirigir las perdices, levantadas y en huida, hacia los cazadores. Esta acción de ojear ha de realizarse de tal manera que se impida que las perdices se aplasten asustadas dando lugar a grandes concentraciones que, al arrancar el vuelo en grupos, darían poco aprovechamiento cinegético al tirador. El objetivo es que las perdices rompan a volar de manera natural, gradual y progresiva y así entren a los puestos de forma continua y "chorreada" permitiendo mayores oportunidades de disparo. Con esta modalidad se pueden cobrar centenares de ejemplares por jornada, frecuentemente unos 300.
- **En mano:** La caza en mano es aquella practicada por varios cazadores conjuntamente, abiertos en ala y a una distancia aproximadamente equidistante, generalmente ayudados por perros, con el objeto de batir el campo. Cada mano se compone comúnmente de una partida de entre dos y seis cazadores. Es una modalidad muy popular y generalizada que reúne los alicientes de ser una caza en equipo y con perro, que además requiere de un cierto esfuerzo físico.
- **Al salto:** La caza al salto -con o sin perro- es probablemente una de las modalidades más duras y esforzadas y más practicadas por los cazadores en el campo español. El cazador en solitario avanza por el terreno levantando las piezas siendo su conocimiento de los territorios, de las especies y de las reacciones de los animales, además de una buena preparación física, las claves de los resultados de la cacería. Es por definición la caza al salto con perro -"caza menor con perro"- la modalidad reina de las disciplinas cinegéticas, objeto también de competiciones deportivas de alto nivel.
- **Con reclamo:** En esta modalidad de caza, el reclamo (un macho de perdiz enjaulado) atraerá a sus congéneres salvajes durante el periodo del celo hasta entrar en plaza

aproximadamente a unos quince metros del puesto del cazador, momento que se aprovecha para abatirlos. La jaula con el reclamo ha de colocarse sobre un pequeño promontorio consistente en alguna piedra o arbusto ligeramente elevado llamado "pulpitillo". El elemento más importante de esta forma tradicional de caza no es tanto el lance final y el disparo como el comportamiento del reclamo. Esta modalidad de caza tiene un fuerte arraigo en ciertas Comunidades Autónomas, como Andalucía.

Estas modalidades cuentan con numerosos matices entre las distintas zonas geográficas. El periodo de caza también es variable según la legislación de cada comunidad, aunque suele corresponder con la temporada general (octubre-enero) para todas las modalidades menos para el reclamo que, al tener que practicarse en época de celo, suele llevarse a cabo entre febrero y marzo.

Actualmente, las modalidades de caza de perdiz más practicadas en España son la caza en ojeo y con reclamo.

3. Importancia económica de la especie

La caza de esta especie representa una importante actividad económica generadora de sustanciales beneficios y es una de las principales opciones complementarias para el uso de la tierra de muchos propietarios en países como Reino Unido, Francia, España o Portugal, especialmente en zonas rurales menos favorecidas, donde tanto el aprovechamiento cinegético como agrícola son la principal fuente de ingresos (Bernabéu, 2000). En España la caza de la perdiz es una actividad con gran relevancia económica en multitud de áreas rurales de Castilla-La Mancha, Castilla y León, Andalucía y Extremadura (Lucio, 1998; Bernabéu, 2000; Blanco-Aguiar *et al.*, 2003; Casas, 2008).

A nivel nacional, aunque la perdiz está en segunda posición detrás del conejo en cuanto a número de capturas, su montante total económico es superior a cualquier otra especie, y especialmente en lo que a ingresos complementarios se refiere (arrendamientos de tierras, guardería, ojeadores, licencias, munición, etc.). Así, en el año 2011 se cobraron 3,1 millones de perdices, con un valor imputable a las piezas de 4,7 millones de euros, al que habría que adicionar los ingresos complementarios por la utilización cinegética de las tierras,

que se estiman en 28,5 millones de euros (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014a).

Hoy día, la caza de *A. rufa* está asociada a su cría intensiva en explotaciones cinegéticas, otro elemento importante de la economía existente alrededor de la caza de esta galliforme, y a la vez de la gestión cinegética (Blanco-Aguilar, 2007). Según datos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2014a) anualmente se sueltan en España entre 1,7 y 2,3 millones de perdices para la caza inmediata tras su liberación (Figura 3), lo que representa el 80% del total de las sueltas de especies cinegéticas (Figura 4), hecho indicativo de la importancia de la cría en cautividad de esta especie.

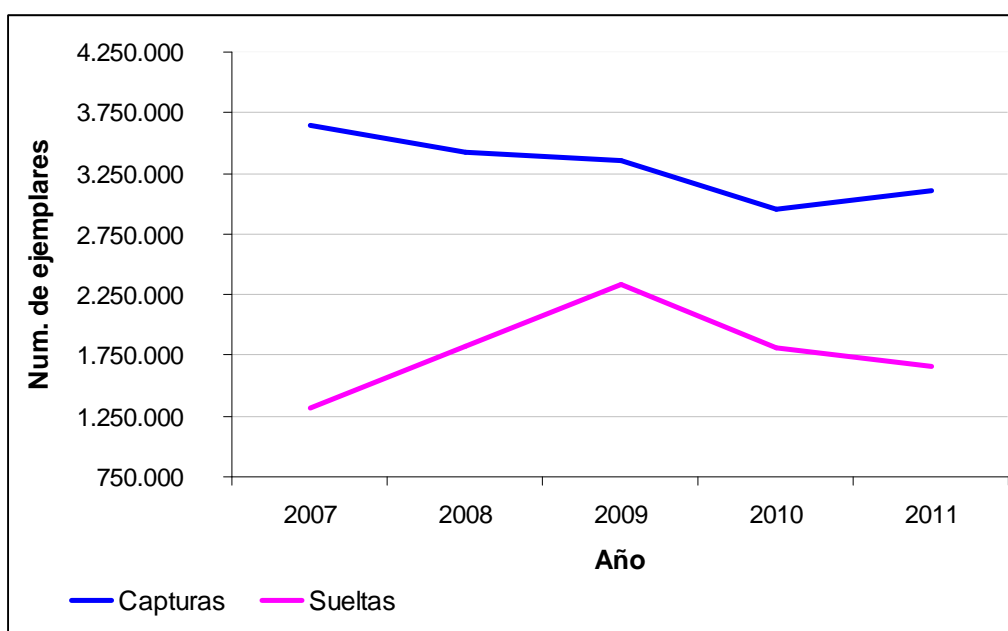


Figura 3. Evolución del número de ejemplares de perdiz roja capturados y soltados en España entre los años 2007 y 2011 (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014a)

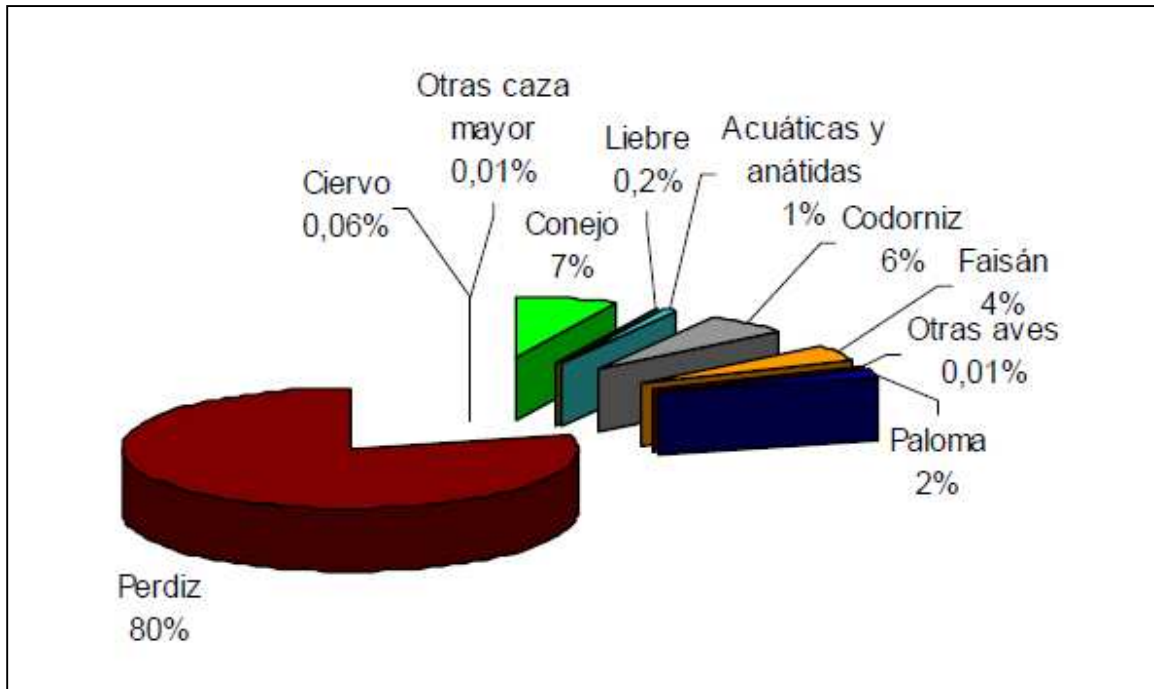


Figura 4. Seltas de especies cinegéticas en España, año 2011 (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014a)

4. Evolución de la cría intensiva de perdiz roja en España

Las primeras experiencias de cría en cautividad de perdiz roja en España tuvieron lugar a comienzos de los años 50. Consistían en coger huevos de los nidos de perdiz del campo y hacer que gallinas domésticas los incubasen (sistema de padres adoptivos). A continuación, estas madres adoptivas criaban también a los perdigones hasta el momento de su suelta. La cría natural de perdices manteniendo a los padres en cautividad se intentaba, pero con muy poco éxito (Silos, 1953; González-Redondo, 2004).

Entre 1950 y 1960 se empezaron a desarrollar ensayos sistemáticos, con mayores fundamentos científicos y mejores medios técnicos, entre los que destacan los de Esponera (1960a, 1960b, 1960c, 1960d), quien sentó las bases de la cría artesanal o semiextensiva. Esponera alojaba a las perdices reproductoras en amplias pajareras provistas de elementos de refugio y las alimentaban mediante una mezcla compuesta principalmente por harinas de cereales. Los huevos eran retirados tras la puesta para conseguir mayores puestas gracias a la inhibición de la cloquez y eran incubados por gallinas o, como novedad, en incubadoras artificiales que ya empezaban a comercializarse para los huevos de gallina. Para la cría y

recria de los perdigones, las dos o tres primeras semanas de vida los alojaba en baterías y después los alojaba bajo lámparas calefactores. Descubrió que los piensos para aves con un alto contenido en proteínas incrementaban mucho la supervivencia de los perdigones.

Más tarde, a mediados de los años 60, y a raíz de las experiencias realizadas en el primer Centro Piloto de Cría Artificial de Perdiz Roja del Servicio Nacional de Pesca Fluvial y Caza, Lara y Arenzana (1965) sentaron las bases del actual sistema industrial o intensivo de cría en cautividad de perdiz roja con fines cinegéticos, seguido actualmente en la mayoría de las granjas cinegéticas que crían esta especie en España (González-Redondo, 2004). Ello fue consecuencia de las mejoras en las técnicas de producción animal, que desarrollaron la avicultura industrial (perfeccionamiento de la incubación artificial, formulación racional de piensos equilibrados, adaptados a las necesidades de los animales en sus diferentes etapas de desarrollo, etc.), los ensayos realizados en la etapa preindustrial de la cría de perdiz roja en cautividad (que permitieron un mayor conocimiento de la biología, etología y manejo de la perdiz en cautividad) y el aprovechamiento de la tecnología ya desarrollada en otros países, como Francia, donde se investigaba sobre la elección de reproductores, la suplementación artificial de la iluminación para aumentar la fecundidad y, sobre la incubación de huevos, todo ello para la producción industrial de aves cinegéticas como el faisán o la perdiz gris (*perdix perdix*) (González-Redondo, 2004). El sistema de explotación propuesto se caracterizaba por lo siguiente (Lara y Arenzana, 1965):

- Las parejas reproductoras se alojaban en una jaula, elevada sobre el suelo, de dimensiones 1,90 × 0,75 × 0,80 m, con un parque descubierto y un refugio cerrado donde ponían los huevos.
- La puesta tenía lugar desde mediados de abril hasta julio, recogándose los huevos diariamente. El número medio de huevos puesto por pareja durante la temporada era de 18,5.
- Los huevos procedentes de las parejas reproductoras, se incubaban en máquinas incubadoras, habiéndose conservado previamente a temperatura de entre 10 y 13 °C. El periodo de incubación duraba 23 días y medio, entre 37,5-38,5 °C, y con una humedad relativa (HR) entre 60 y 80% y con ventilación creciente para renovar el aire viciado por la respiración de los embriones.

- Los perdigones se criaban sobre yacija, en salas cerradas equipadas con calentadores de gas propano para mantener la temperatura adecuada durante las 7 primeras semanas de edad.
- La alimentación de los perdigones, durante las primeras semanas de vida, consistía en piensos complementados con huevos cocidos para aumentar el nivel de proteína.
- Después de 7 semanas, los perdigones pasaban a grandes parques al aire libre, donde se habituaban a condiciones de semilibertad antes de la suelta.

5. Producción intensiva de perdiz roja en España

En poco más de cuatro décadas, el número de explotaciones cinegéticas ha aumentado rápidamente en España (Sánchez García-Abad *et al.*, 2009) hasta alcanzar las 1.129 explotaciones censadas en el año 2012 (Tabla 1. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014b).

Tabla1. Evolución del número de explotaciones de perdices en España durante los últimos años (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014b)

Año	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Número de explotaciones	591	705	919	978	1.080	1.129

Hoy día, las granjas de cría de perdiz roja para fines cinegéticos están ubicadas prácticamente en todas las regiones del país, siendo el modelo de explotación más generalizado el de ciclo cerrado, en el que se desarrolla la actividad de reproducción, incubación y cría-recría-acabado. Además, el productor suele encargarse de la comercialización. Las granjas de este tipo son las más antiguas, y en la mayoría de los casos se establecieron antes de 1996 (González-Redondo *et al.*, 2010). El tamaño de explotación más frecuente es de 200–300 parejas reproductoras y la mayoría son explotaciones familiares manejadas por una sola persona (García, 2006).

Como resultado de una enorme actividad de extensión de las compañías, organizaciones y técnicos del sector durante la primera mitad de los años 90 (Pagés y García, 1991; González-Redondo, 2004), empezaron a establecerse explotaciones empresariales de mayor tamaño (la mayoría de ellas con más de 1.000 parejas reproductoras), muy tecnificadas. La mayoría utilizan programas de iluminación artificial suplementaria para las parejas reproductoras, con el fin de conseguir puestas más tempranas (adelantando el periodo de puesta) y más abundantes (Flores, 1979; Bagliacca *et al.*, 1988). Este nuevo tipo de explotación, también con estructura de ciclo cerrado, ofrece, además de las perdices para suelta o repoblación, otro tipo de productos como huevos para incubar y perdigones de 1 día para criar en otras explotaciones especializadas en su cría-recría-acabado.

Actualmente, explotaciones de ciclo cerrado, en las que se desarrolla la actividad de reproducción, incubación y cría-recría-acabado de perdiz roja, coexisten con otras explotaciones especializadas según fases de producción (González-Redondo, 1999, 2005; Sánchez García-Abad *et al.*, 2009; González-Redondo *et al.*, 2010). Esta estructura, similar a la de la avicultura convencional moderna, sugiere que la producción industrial de la perdiz roja pudiera haber alcanzado su madurez como sector ganadero. Aunque las bases del sistema de cría intensiva o industrial de *A. rufa* siguen siendo las establecidas por Lara y Arenzana (1965). Como resultado de esta evolución y especialización, las granjas cinegéticas de perdiz roja ofrecen hoy una gran gama de productos (González-Redondo, 2004), tales como perdices subadultas para suelta directa y caza intensiva, perdices de diferentes edades para repoblaciones, machos para reclamo, huevos fértiles para incubar, perdigones de un día, o futuros reproductores para otras granjas.

1) Perdices sub-adultas para suelta directa y caza intensiva. Su destino es la caza más o menos inmediata tras la liberación. Suponen, con diferencia, el principal producto de las granjas cinegéticas de perdiz roja.

2) Perdices para repoblaciones que persiguen el establecimiento de poblaciones equilibradas de perdiz roja susceptibles de un aprovechamiento posterior sostenible. Para este objetivo se venden tres tipos de perdices:

- Animales juveniles para suelta al final del verano y principios de otoño, cuya finalidad es su integración en los bandos silvestres.

- Perdices adultas que se sueltan en invierno hasta la época de celo, con la finalidad de que se apareen tras la liberación y se reproduzcan inmediatamente.
- Animales de edades intermedias a las anteriores que se sueltan a lo largo del otoño y el invierno.

Todas las granjas cinegéticas de perdiz roja ofrecen perdices para sueltas o perdices para repoblación. Además algunas ofrecen los siguientes productos:

3) Machos para reclamo. La caza de la perdiz con reclamo está fuertemente arraigada en algunas regiones de España, especialmente en Andalucía, Extremadura y Castilla-La Mancha (Pérez y Pérez, 1981; González-Redondo, 1999, 2005).

Antiguamente, para esta modalidad de caza se utilizaban perdices capturadas en campo pero, con el surgimiento de las granjas cinegéticas, la cría y venta de machos de perdiz para reclamo está alcanzando cada vez más importancia, hasta el punto de que en la actualidad tres cuartas partes de las granjas cinegéticas de perdiz roja lo ofrecen como producto (González-Redondo *et al.*, 2010). Estos animales son escogidos por su buen porte, la calidad de su canto y su bravura y cuestan entre 3 y 5 veces más que una perdiz para suelta (González-Redondo *et al.*, 2010), lo que es motivo añadido para la rentabilidad de su producción. Los machos para reclamo se venden a lo largo de todo el año, de uno o más celos.

4) Futuros reproductores para otras granjas. Hoy día hay un mercado consolidado de perdices reproductoras (que nacieron en la estación reproductora anterior), ya que en los últimos años se han establecido muchas explotaciones especializadas en la fase de reproducción que demandan grandes lotes de parejas reproductoras para establecer su actividad de una vez (González-Redondo, 1999). También son demandados por las granjas que necesitan reponer parte de sus reproductores, renovando a la vez el material genético para evitar la consanguinidad con el resto de ejemplares de la explotación, o incluso por gestores y propietarios de cotos que compran algunas perdices reproductoras con el fin de criar ellos mismos pequeños lotes para repoblar sus fincas.

Alrededor del 17,5% de las granjas que producen perdiz roja ofrecen perdices especialmente seleccionadas y preparadas para su empleo como reproductores en otras granjas cinegéticas (González-Redondo *et al.*, 2010).

5) Perdigones de un día: La práctica de vender perdigones de 1 día para ser criados en otra granja especializada ha surgido a la vez y en las mismas circunstancias que la de vender huevos fértiles, para abastecer a aquellas granjas que desean criar pequeños lotes de perdices rojas sin tener que hacer frente al manejo de los reproductores ni a la incubación de los huevos.

Para los que se inician en el sector, tener una granja especializada en la cría-recría es una manera de ahorrar los riesgos y costes en las fases previas de producción, como el de los ejemplares reproductores, jaulas, incubadoras y equipo relacionado, manejo, etc. (González-Redondo, 1999).

En la actualidad, la quinta parte de las granjas cinegéticas de perdiz roja venden perdigones de 1 día (González-Redondo *et al.*, 2010). Su temporada de venta está desplazada respecto a la de los huevos fértiles en 3-4 semanas (el tiempo necesario para su incubación).

6) Huevos fértiles para incubar, demandados por personas que desean criar pequeños lotes de perdices, sin necesidad de mantener los lotes de reproductores con sus respectivas dificultades de manejo, ahorrándose sus costes y sus riesgos o por pequeñas granjas que han obtenido malos resultados de cría o han tenido una mala gestión y se ven imposibilitados de servir los lotes de perdices ya comprometidos. Hoy día, la quinta parte de las granjas cinegéticas de perdiz roja venden huevos fértiles para incubar (González-Redondo *et al.*, 2010).

Algunas granjas cinegéticas de perdiz roja también pueden ofrecer otros productos como asesoramiento y organización de sueltas y repoblaciones, cacerías intensivas en sus propios cotos de caza, u otras especies cinegéticas como faisán, codorniz, conejo, liebre (González-Redondo *et al.*, 2010).

6. Mercado del huevo fértil de perdiz roja

La demanda de huevos fértiles para incubar se ha ido consolidando desde comienzos de la década de los 90, principalmente por parte de productores que desean criar pequeños lotes de perdices sin necesidad de mantener los planteles de reproductores, con sus respectivas dificultades de manejo, ahorrándose sus costes y sus riesgos (González-Redondo, 1999). Eventualmente, los huevos fértiles de perdiz roja también son demandados por pequeñas granjas que se ven imposibilitadas de servir los lotes de perdices ya comprometidos por haber obtenido malos resultados de cría, por haber tenido una mala gestión o por haber tenido una demanda mayor que la planificada. Para hacer frente a esta demanda, en España, un quinto del total de las granjas cinegéticas de perdiz roja, y la mitad de las explotaciones modernas establecidas entre finales de 1990 y principios de la década de 2000 venden huevos para incubar con un determinado porcentaje de fertilidad asegurado en base a su experiencia previa (González-Redondo *et al.*, 2010).

Los huevos fértiles de *A. rufa* se comercializan en mayor proporción cuando se dan los picos de puesta de las explotaciones, en torno al mes de abril. El motivo es que esta especie tiene una marcada estacionalidad reproductiva (Pérez y Pérez, 1981, Bagliacca *et al.*, 1988; González Redondo *et al.*, 2003), ya que la puesta está inducida por mecanismos de tipo hormonal influidos por el fotoperiodo y la intensidad luminosa que percibe el ave. De ahí que el inicio del periodo de puesta no coincida en fecha entre zonas de latitudes distintas.

En condiciones naturales de fotoperiodo la puesta dura aproximadamente 14 semanas (Gaudioso *et al.*, 2002). Dependiendo del área climática, puede comenzar a finales de febrero y finalizar en julio o a principios de agosto (Torres y Garcés, 1995; Molleda, 1998; García Martín y Dalmau, 2003). Al principio y al final de la estación reproductora, la frecuencia de puesta, fertilidad y tasa de eclosión de los huevos son bajas (Beer y Jenkinson, 1981; Pérez y Pérez, 1981; Bagliacca *et al.*, 1988; González-Redondo *et al.*, 2003; González-Redondo, 2006), mientras que estos valores se maximizan a mitad del periodo de puesta, dibujando una campana de Gauss (Gaudioso *et al.*, 2002). La estación reproductora se puede ampliar hasta 21-22 semanas adelantándola dos meses mediante estímulos de duración de luz creciente (Mori *et al.*, 1985; Bagliacca *et al.*, 1988; Peña y Caballero, 1997; Bugalho *et al.*, 2008; Fernandes Barbosa, 2009; Figura 5), lo que se conoce como suplementación artificial del fotoperiodo.

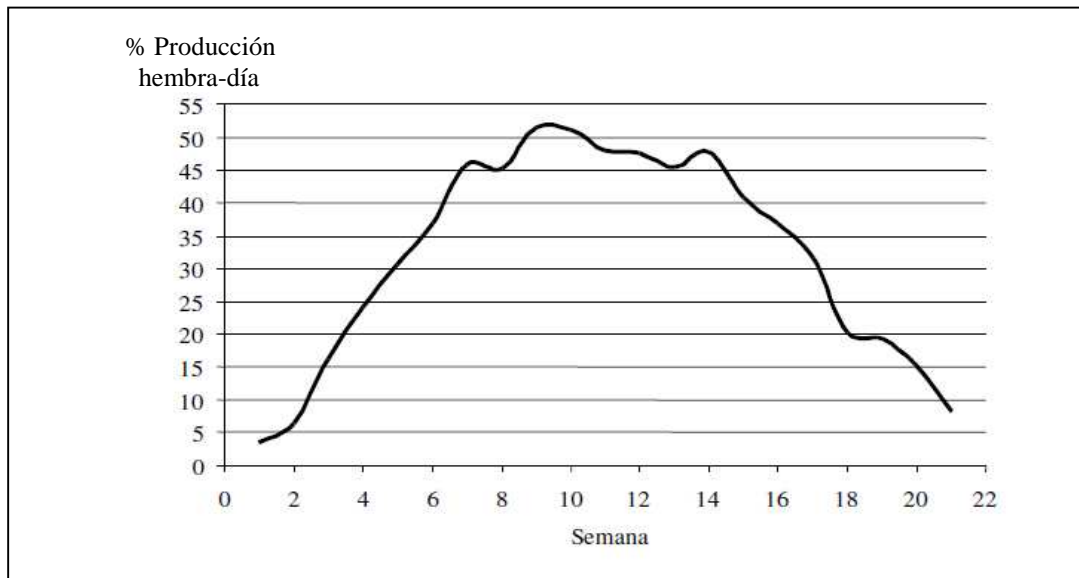


Figura 5. Frecuencia de puesta de la perdiz roja criada en cautividad con suplementación artificial del fotoperiodo (Fernandes Barbosa, 2009)

7. Manejo del huevo fértil de perdiz roja

El manejo del huevo fértil, desde la puesta hasta la eclosión, es uno de los factores clave en la productividad de las explotaciones intensivas de *A. rufa* (Pérez y Pérez, 1981; González-Redondo, 2004; González-Redondo y De la Rosa Sánchez, 2009; González-Redondo, 2010). Tanto las condiciones ambientales de conservación como las de incubación (temperatura, humedad relativa, concentración de CO₂, volteo de los huevos) influyen sobre la viabilidad del embrión, su ritmo de desarrollo, la tasa de eclosión y el vigor de los futuros perdigones (Pérez y Pérez, 1981; Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003). Además, habrá que ser especialmente cuidadoso en el manejo del huevo para evitar contaminaciones de origen horizontal (Cancho, 1991). Los pasos recomendados para el manejo óptimo del huevo fértil de perdiz roja son los siguientes

7.1. Recogida de los huevos tras la puesta

Cuando el huevo es puesto por la perdiz no posee cámara de aire, sino que ésta se forma después. Cuando el huevo se seca y se enfría, el contenido se retrae y en el espacio restante entra aire por aspiración a través de los poros de la cáscara, de manera que si la superficie del huevo está sucia, de manera visible o no, o contaminada por bacterias

procedentes del oviducto de la perdiz, los microorganismos pasan al interior del huevo con el aire. Este fenómeno se realiza aproximadamente en unas tres horas desde la puesta. Por esta razón, y también para evitar el recalentamiento de los huevos, es práctica recomendable recogerlos al menos dos veces al día en las granjas cinegéticas (Cancho, 1991; Saperas, 1992). Además, la presencia de un huevo en la jaula inhibe, en cierto modo, la puesta de otro y por el contrario, la ausencia del mismo estimula a la hembra a poner un nuevo huevo (García Martín y Dalmau, 2003).

Es práctica habitual que la recogida de huevos se realice siempre a la misma hora y por la misma persona, para evitar que las perdices se estresen, y colocarlos en cestos o alveolos diferentes según estén aparentemente limpios o sucios para evitar que pase la suciedad de unos a otros (Cancho, 1991; Saperas, 1992).

Para lograr una mayor proporción de huevos limpios, es habitual que las jaulas donde se alojan las parejas reproductoras tengan el piso inclinado y una salida de huevos orientada hacia el norte para evitar el contacto innecesario del huevo con las deyecciones de los padres así como la ovofagia y su recalentamiento. Otra manera de evitar el recalentamiento de los huevos es disponer sobre las jaulas algún sistema de sombraje, de manera que los rayos solares no incidan directamente sobre el huevo (Saperas, 1992).

7.2. Selección y limpieza de los huevos

Tras la recogida de los huevos, y antes de que finalice la jornada, se seleccionan los incubables eliminando los huevos muy sucios, rotos o con fisuras, para evitar infecciones, así como los huevos despigmentados, por prematuros (Cancho, 1991; Saperas, 1992).

El resultado de incubar huevos infectados es el incremento de gérmenes en su interior, que incluso pueden llegar a provocar la explosión del huevo y la diseminación de los microorganismos por toda la incubadora en detrimento del éxito de la incubación (Saperas, 1992).

Los huevos de perdiz roja no deben lavarse. Es preferible desechar los huevos muy sucios que lavarlos, ni siquiera con una gamuza, trapo o algodón impregnado en alcohol, ya que con esta operación se destruye la fina cutícula que recubre la cáscara del huevo, que

constituye una barrera defensiva del embrión frente a agentes externos, facilitando así la entrada de microorganismos ambientales al interior del huevo (Saperas, 1992).

7.3. Fumigación de los huevos

El objetivo de la fumigación de los huevos es reducir la carga bacteriana sobre su cáscara. Para que la fumigación resulte efectiva debe realizarse después de la selección y limpieza de los huevos y lo más rápidamente posible, antes de que transcurra el tiempo necesario para la formación de la cámara de aire, durante el cual los microorganismos pueden penetrar en su interior. Las granjas cinegéticas realizan usualmente la fumigación antes de introducir los huevos en la cámara de conservación, y se lleva a cabo en una cámara estanca (para no perder gases) provista de un ventilador que origine una circulación de aire suave y una buena distribución del producto (Cancho, 1991; Saperas, 1992).

En el interior de la cámara de fumigación, los huevos de perdiz roja se disponen sobre bandejas (no en alvéolos) y cuando en el interior de la cámara se alcanza una temperatura aproximada de 30 °C y 60-70% HR, se vierten 60 ml de formol al 40% sobre 30 g de permanganato potásico por cada m³ de la cámara durante 15 minutos (Saperas, 1992). También se puede utilizar 45 ml de formol al 40% añadidos a 30 g de permanganato potásico por cada m³ de espacio donde se practica la fumigación durante 20 minutos y a una temperatura de 24-35 °C y 85-90% HR (Cancho, 1991).

Otros métodos para la desinfección de huevos, aunque menos extendidos, son la radiación durante unos 5 minutos con luz ultravioleta y la utilización de una finísima neblina de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) (Saperas, 1992).

La fumigación se desaconseja en la sala de conservación de los huevos porque pierde efectividad debido a la baja temperatura de la misma (12-16 °C) y provoca una condensación indeseable del formol sobre los huevos. En cambio, es aconsejable realizar una segunda fumigación después de la entrada de los huevos en la sala de incubación (Cancho, 1991; Saperas, 1992).

7.4. Conservación de los huevos

Tras la puesta, los perdicultores necesitan almacenar los huevos de perdiz roja hasta reunir un lote suficientemente grande como para llenar la incubadora, lo que en las explotaciones de tamaño grande o mediano suele ocurrir semanalmente o cada quince días (Almendro, 1979; Pérez y Pérez, 1981; Torres y Garcés, 1995). En cambio, en las pequeñas explotaciones, con pocas parejas reproductoras, se tarda más en reunir los huevos necesarios para los lotes de incubación, y por tanto el periodo de almacenamiento es mayor (Beer y Jenkinson, 1981; Cancho, 1991). Además, debido a la marcada estacionalidad reproductiva de esta especie (Pérez y Pérez, 1981; Bagliacca *et al.*, 1988; González-Redondo *et al.*, 2003; González-Redondo, 2006), durante el principio y el final de la estación reproductiva, cuando la frecuencia de puesta es menor (Beer y Jenkinson, 1981), el periodo de conservación excede a menudo el tiempo recomendado para que los huevos no pierdan viabilidad (González-Redondo, 2010), que para *A. rufa* se ha establecido usualmente en 14 d (Almendro, 1979; Beer y Jenkinson, 1981; Pérez y Pérez, 1981; Cancho, 1991; Torres y Garcés, 1995).

Las explotaciones que ofrecen perdigones de un día también necesitan conservar los huevos fértiles de *A. rufa*, hasta que corresponda cargar la incubadora según las demandas de perdigones programadas. El almacenamiento también es una práctica habitual en las explotaciones especializadas en la venta de huevos fértiles para incubar, hasta reunir los lotes de expedición. Por todo ello, la conservación a largo plazo de los excedentes de huevos producidos en las semanas de máxima frecuencia de puesta, fertilidad y tasa de eclosión podría ser útil para abastecer la creciente demanda de perdigones de un día y de huevos fértiles y distribuir los lotes de cría y los beneficios de las explotaciones en un intervalo de tiempo más amplio a lo largo del año, siempre que las condiciones de conservación permitan garantizar una tasa de eclosión óptima y homogénea (González-Redondo, 2010).

El almacenamiento de los huevos fértiles debe acompañarse de una regulación adecuada de la temperatura y de la humedad relativa en la cámara de conservación para detener el desarrollo embrionario y para evitar la deshidratación del huevo, respectivamente. Unas malas condiciones de temperatura y humedad durante el almacenamiento pueden provocar abortos (García Martín y Dalmau, 2003). La tabla 2 muestra los tiempos, temperaturas y humedades recomendados en la conservación de huevos fértiles de *A. rufa*.

Tabla 2. Tiempos, temperaturas y humedades recomendadas en la conservación de huevos de perdiz roja (*Alectoris rufa*)

Tiempo (d)	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
3	20	65
7-10	15	70
10-21	12	85

Fuente: García Martín y Dalmau (2003)

7.4.1. Influencia de la duración y temperatura de conservación sobre la viabilidad del huevo fértil

A pesar de las ventajas que supone la conservación de huevos fértiles, tanto para una más eficiente gestión de los lotes de incubación en la propia explotación como para prolongar la vida comercial necesaria para su puesta en el mercado, estudios previos con huevos fértiles de gallina, codorniz, pavo y perdiz demuestran que su viabilidad disminuye con la duración del periodo de conservación (Proudfoot, 1969; Meijerhof, 1992; Christensen, 2001; Fassenko *et al.*, 2009; González-Redondo, 2010).

La razón es que la deshidratación del huevo aumenta cuando la duración de la conservación se alarga, lo que se manifiesta en una pérdida de peso del huevo (Tilki y Saatci, 2004; Çağlayan *et al.*, 2009). Esta pérdida de vapor de agua desde el interior del huevo fértil contribuye al envejecimiento o deterioro progresivo de su calidad interna (Nahm, 2001; Tilki y Saatci, 2004; Fassenko, 2007; Çağlayan *et al.*, 2009). Es decir, a medida que pasa el tiempo disminuye la tasa de supervivencia de las células originales y disminuye el nivel de sustitución por parte de células nuevas, aumenta el pH del albumen y disminuye la elasticidad de la yema. Como resultado de este deterioro, los largos periodos de conservación perjudican y ralentizan el desarrollo embrionario produciendo incubaciones más largas (Elibol *et al.*, 2002; Ruiz y Lunam, 2002; Tona *et al.*, 2003), mayor probabilidad de mortalidad embrionaria durante la incubación (Fassenko *et al.*, 1992; Nahm, 2001) y pollitos con menor peso al nacimiento (Christensen *et al.*, 2002; Elibol *et al.*, 2002; Tona *et al.*, 2003).

Para especies del género *Alectoris*, Woodard y Morzenti (1975) demostraron que el almacenamiento de huevos fértiles de perdiz chukar (*A. chukar*) a 16 °C y 70% HR durante 28 d altera poco su tasa de eclosión. González-Redondo (2010) tampoco encontró

disminución significativa en la tasa de eclosión de huevos de perdiz roja (*A. rufa*) almacenados hasta 28 d a 15 °C y 80% HR. En cambio, sí encontró una disminución significativa en la tasa de eclosión de los huevos almacenados durante 35 d en las mismas condiciones ambientales.

En otras especies avícolas como gallina, codorniz o pavo se ha demostrado que puede haber dos maneras de evitar o minimizar el deterioro que sufren los huevos fértiles durante el almacenamiento a largo plazo: disminuyendo la temperatura de la cámara de conservación (Olsen y Haynes, 1948; Funk y Forward, 1960; Kirk *et al.*, 1980; Brake *et al.*, 1997) ó mediante una incubación previa al almacenamiento (Fasenko *et al.*, 2001a, 2001b; Petek y Dikmen, 2004; Reijrink *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2011).

Olsen y Haynes (1948) y Funk y Forward (1960) observaron que cuando los huevos de gallina son almacenados durante más de 14 d se obtienen mayores tasas de eclosión si la cámara de conservación se mantiene a 12 °C que si se mantiene a temperaturas mayores. Otros estudios con huevos de broiler han demostrado que 15 °C es la temperatura óptima de almacenamiento cuando los huevos son conservados durante 8 d, y 18 °C es mejor si solo se van a almacenar durante 2 d (Kirk *et al.*, 1980). Y, aunque no hay ningún estudio científico al respecto con huevos fértiles de perdiz roja, sí hay publicaciones divulgativas que recomiendan almacenar sus huevos fértiles a 20 °C si van a ser conservados durante menos de 3 d, a 13-16 °C si van a ser almacenados hasta 7 d y a 11-12 °C si van a ser conservados durante más de 7 d (Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003).

Por tanto, y teniendo en cuenta que González-Redondo (2010) demostró que es posible conservar los huevos fértiles de perdiz roja durante 28 d a 15 °C y 80% HR sin pérdida significativa de la tasa de eclosión, sería interesante investigar si es posible almacenarlos durante más tiempo sin merma de viabilidad mediante una disminución de la temperatura en la cámara de conservación.

Por otro lado, estudios previos con huevos fértiles de gallina, codorniz y pavo han puesto de manifiesto que cuando los huevos se someten a un precalentamiento a 37,5 °C durante 6-8 h antes de periodos de conservación relativamente largos (11-15 d) se obtienen menores tasas de mortalidad embrionaria y mayores tasas de eclosión que cuando los huevos son almacenados durante el mismo tiempo sin ser sometidos a este calentamiento previo

(Kosin, 1956; Fasenko *et al.*, 2001a, 2001b; Petek y Dikmen, 2004; Reijrink *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2011). A este tratamiento de calor previo a la conservación se le conoce en la literatura científica como “pre-storage incubation” y se abrevia con las siglas PRESI. Reijrink *et al.* (2008) sugieren que el motivo de este efecto es que la incubación previa al almacenamiento acelera el desarrollo embrionario y aumenta el número de células viables, lo que hace que el embrión sobreviva mejor al periodo de conservación. Sin embargo, el tratamiento PRESI no altera la tasa de eclosión en caso de periodos de conservación más cortos (4 d) (Fasenko *et al.*, 2001a, 2001b; Petek y Dikmen, 2004; Reijrink *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2011).

Por tanto, también sería interesante investigar si, aplicando una incubación previa a la conservación, es posible aumentar la duración de la conservación de los huevos de perdiz roja sin perder viabilidad, por encima de los 28 d señalados por González-Redondo (2010).

7.5. Incubación

Tras la correcta conservación de los huevos, y cuando se dispone de suficiente número para formar un lote, se procede a su incubación, que en *A. rufa* tiene una duración media de 23-24 d (Lara y Arenzana, 1965; Flores, 1979; Pérez y Pérez, 1981; González-Redondo *et al.*, 2012), aunque las primeras eclosiones se pueden producir a partir de los 21,5 d desde el inicio de la incubación y prolongarse hasta los 26 d (González-Redondo *et al.*, 2012).

Previamente a la introducción de los huevos en la incubadora se procede al precalentamiento de los mismos dejándolos a temperatura ambiente en la sala de incubación (20-25 °C) durante 8-12 h. El objetivo de esta tarea es evitar la condensación de gotas de agua sobre la cáscara del huevo, que se produciría al introducir los huevos fríos (12-15 °C) en la incubadora, a 37,8°C (Saperas, 1992).

Para esta especie, las publicaciones divulgativas recomiendan que los huevos permanezcan durante los primeros 21 d de incubación en una máquina incubadora, a 37,8 °C, 55% HR y con volteo regular de los huevos para optimizar el desarrollo embrionario (Pérez y Pérez, 1981; Carrasco, 1990; Setién, 1991; Saperas, 1992; García Martín y Dalmau, 2003). El objetivo del volteo del huevo es simular la rotación periódica que la hembra le proporciona en el nido para favorecer la movilidad de las estructuras internas del huevo. De este modo se

evita que el embrión adopte posturas defectuosas que producen deformaciones y adherencias de éste con las membranas que lo rodean, en particular del corion con las membranas testáceas (New, 1957; Martínez-Alesón, 2003). En la incubadora, los huevos se colocan con el polo agudo hacia abajo y la cámara de aire hacia arriba para que los embriones se mantengan en la posición adecuada para su desarrollo (sobre la yema), y al final del periodo de incubación puedan romper la membrana testácea interna y acceder a la cámara de aire para comenzar a respirar, preparándose para la eclosión (Bauer *et al.*, 1990; Cancho, 1992; M.S.U., 2010). Se recomienda además que la incubadora posea un mecanismo de ventilación que renueve el aire de su interior a partir del de la sala donde está ubicada (Cancho, 1991) ya que, como fruto del desarrollo embrionario, el huevo transpira y precisa una renovación de aire en el interior de la incubadora.

Pasados los primeros 21 d de incubación, y siempre según las publicaciones divulgativas (Pérez y Pérez, 1981; Carrasco, 1990; Setién, 1991; Saperas, 1992; García Martín y Dalmau, 2003), se recomienda que los huevos sean trasladados a una nacedora distinta de la incubadora.

Aprovechando el momento de transferir los huevos desde la incubadora a la nacedora se efectúa el miraje de los mismos mediante ovoscopio. En este momento, los huevos en los que el embrión esté vivo y en desarrollo estarán calientes y al trasluz el conjunto del huevo es oscuro y opaco, contrastando mucho la parte opaca del embrión con la parte traslúcida, correspondiente a la cámara de aire y que ocupa una quinta parte del total del huevo (Saperas, 1992). Si el embrión no se ha desarrollado, el huevo está frío, el contorno de la cámara de aire no se observa claramente al examen con ovoscopio, y en el lugar que debiera ocupar el embrión se observan zonas flotantes y zonas de penumbra. Los huevos en los que no se advierta un adecuado desarrollo del embrión se desechan y el resto se introducirán en la incubadora.

En la incubadora se finalizará el proceso de incubación con otras condiciones ambientales diferentes, más favorables para el nacimiento de los perdigones. En esta fase los huevos ya no se voltean para facilitar que el embrión se coloque en la posición adecuada para eclosionar (Bauer *et al.*, 1990; M.S.U., 2010), la humedad relativa se incrementa respecto a la de la incubadora hasta 75-80% para facilitar la rotura de la cáscara por parte del perdigón (Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003), y la temperatura se disminuye ligeramente

hasta los 37,2-37,5 °C para compensar el calor extra provocado por el aumento del metabolismo del embrión en esta fase de su desarrollo (Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003). Además, se incrementa la ventilación porque al aumentar la actividad metabólica del embrión aumentan también sus necesidades de oxígeno, y para facilitar el secado del plumón de los perdigones al nacer (Cancho, 1991).

Tras la eclosión de los huevos, se recomienda sacar a los perdigones de la nacedora simultáneamente para no alterar las condiciones de humedad y temperatura en la misma en caso de sucesivas aperturas (Saperas, 1992; Peña y Caballero, 1997) y para manejarlos conjuntamente, bien como lote de cría, bien para su expedición, según los casos. En el momento de sacarlos, los perdigones tienen que estar con el plumón ya seco para que no se enfríen al salir (Cancho, 1991). Esto ocurre varias horas o incluso un día después de la eclosión (González-Redondo *et al.*, 2012). Durante estas horas el perdigón se nutre de sus reservas vitelinas (Setién, 1991; Saperas, 1992; Peña y Caballero, 1997).

7.5.1. Influencia de la temperatura de incubación sobre la viabilidad del huevo fértil

La temperatura de incubación junto con la humedad relativa y el intervalo de volteo de los huevos son factores clave para conseguir óptimas tasas de eclosión y máxima viabilidad de perdigones (Pérez y Pérez, 1981; Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003). En otras especies avícolas como gallina y pavo se ha demostrado científicamente que la temperatura de incubación es el factor que más influye sobre el desarrollo embrionario y la tasa de eclosión de los huevos (Romanoff, 1935, 1936; Decuypere y Michels, 1992). Barott (1937) demostró que la temperatura de incubación óptima para conseguir mayores tasas de eclosión y pollos de gallina más vigorosos es de $37,8 \pm 0,3$ °C, y que variaciones en la temperatura de incubación pueden alterar el desarrollo embrionario de un modo diferente en función del momento en que tenga lugar. Así, con huevos de gallina, perdiz y pavo se ha demostrado que una temperatura excesiva de incubación, incluso durante periodos cortos de tiempo, provoca un incremento anormal de la mortalidad embrionaria (Romanoff, 1935, 1936; Setién, 1991; French, 1994, 2000). En cambio, reducir la temperatura durante los últimos días de incubación, puede mejorar la tasa de eclosión porque durante estos días aumenta la actividad metabólica del embrión, incrementando la temperatura del huevo casi 2 °C (Romijn y Lokhorst, 1956).

Aunque en las publicaciones divulgativas sobre incubación de huevos fértiles de *A. rufa* se recomienda disminuir la temperatura de incubación a la de nacimiento el día 21 desde el inicio de la incubación, este dato aún no ha sido contrastado científicamente para esta especie. Por ello, consideramos que sería interesante investigar cuál sería el momento óptimo para disminuir la temperatura de incubación a la de nacimiento y su influencia sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa*.

OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis doctoral es conocer el efecto de la temperatura, tanto durante la fase de conservación como durante la fase de incubación artificial, sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja.

Para alcanzar el objetivo general se han planteado tres objetivos específicos. El primero de los cuales consiste en comprobar si es posible, mediante la disminución de la temperatura de almacenamiento, prolongar el periodo de conservación de los huevos fértiles de perdiz roja respecto al máximo usualmente recomendado para esta especie (14 d) sin que éstos pierdan viabilidad. Para ello se ha realizado el Estudio 1, en el que se han sometido huevos fértiles de *A. rufa* a dos periodos de almacenamiento (7 y 42 d) con tres temperaturas diferentes cada uno de ellos (9, 12 y 15 °C).

El segundo objetivo específico es investigar, en huevos fértiles de perdiz roja, si 6 o 12 h de incubación (a 37,8 °C y 55% HR) previa al almacenamiento (a 15 °C) podría reducir el declive que sufre la tasa de eclosión de los huevos cuando son almacenados a largo plazo (42 d) en comparación con los huevos almacenados durante un periodo estándar de 7 d. Para ello se ha realizado el Estudio 2, en el que se han sometido huevos fértiles de perdiz roja a dos periodos de almacenamiento (7 y 42 d), cada uno de ellos con tres tratamientos PRESI diferentes (0, 6 y 12 h de PRESI).

El tercer objetivo específico es investigar el efecto, sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja, del momento del cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento. Para ello se ha realizado el Estudio 3, en el que cinco lotes de huevos han sido transferidos de la incubadora (a 37,8 °C) a la nacedora (37,5 °C) los días 18, 19, 20, 21 y 22 desde el inicio de la incubación, respectivamente.

RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

Los huevos utilizados en los tres estudios que sustentan esta tesis doctoral procedían de perdices rojas (*A. rufa*) de 2 y 3 años de edad criadas en una misma explotación de aves cinegéticas situada en El Ronquillo, Sevilla. La perdices reproductoras estaban alojadas al aire libre, por parejas, en jaulas de 50×65×50 cm, alimentadas con pienso compuesto (2.775 kcal/kg EM, 20% PB, 4,25% GB, 4% FB y 3,3% Ca) y sometidas a regulación artificial del fotoperiodo. Los tres ensayos se realizaron en la misma estación reproductiva (primavera de 2012). El periodo de puesta comenzó en enero y finalizó a finales de junio (Figura 6). En la mayoría de los casos, los huevos fueron recogidos entre marzo y abril, coincidiendo con las semanas de máxima frecuencia de puesta, fertilidad y tasa de eclosión de la estación reproductiva (Gaudioso *et al.*, 2002; Fernandes Barbosa, 2009), excepto los huevos del Estudio 1 a conservar durante 7 d, que se recogieron un poco más tarde, en mayo, aunque todavía cuatro semanas antes de que finalizara la estación reproductiva.

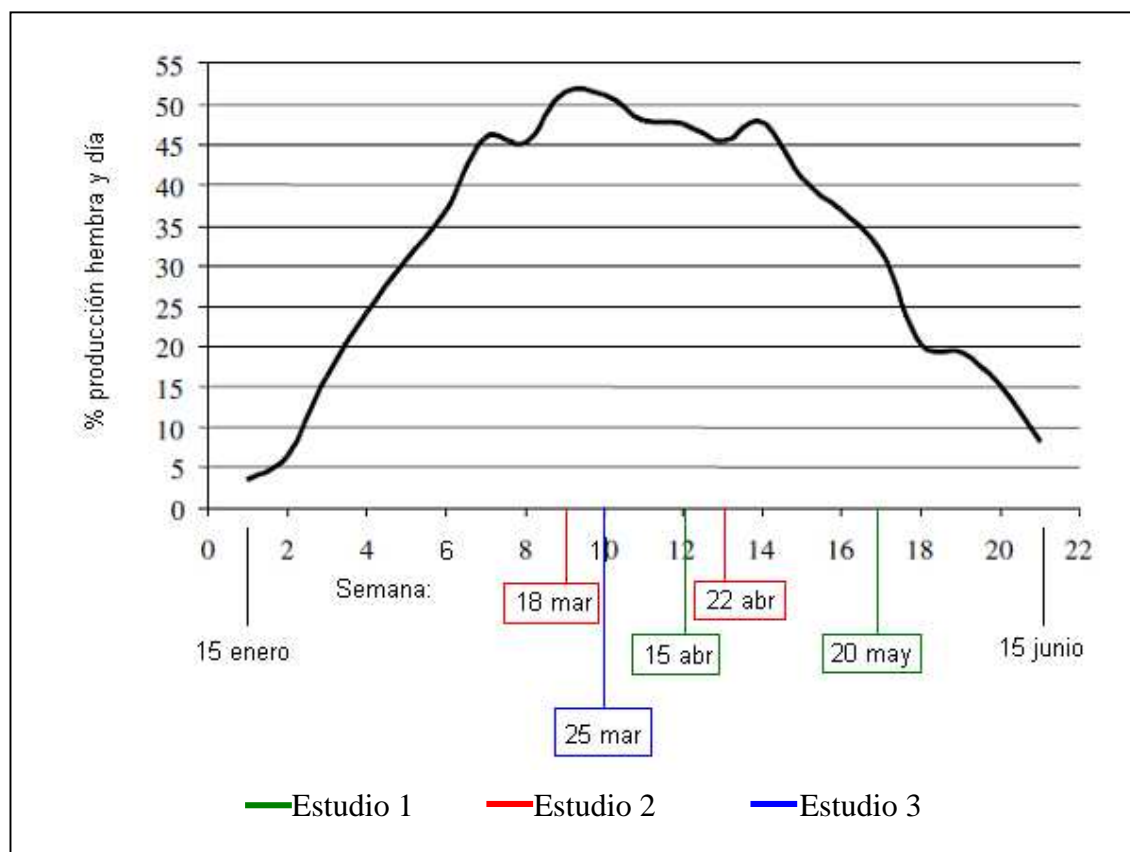


Figura 6. Calendario de recogida de huevos para la realización de los Estudios 1, 2 y 3

1. Efecto de la duración y de la temperatura de conservación sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*)

Para investigar el efecto de la duración y de la temperatura de conservación sobre la viabilidad del huevo fértil de perdiz roja (*Alectoris rufa*) se realizó el Estudio 1, con un total de 420 huevos dispuestos en un diseño factorial 2×3 , con 2 niveles de duración de la conservación (7 y 42 d) y 3 niveles de temperatura de conservación (9, 12 y 15 °C), lo que resultó en 6 tratamientos con 10 réplicas de 7 huevos cada uno. Para cada tratamiento se recogieron los datos necesarios para estudiar la pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación y durante los primeros 21 d de incubación a 37,8 °C y 55% HR (ya que a partir del día 21,5 pueden comenzar a eclosionar algunos huevos), la tasa de eclosión, la duración de la incubación, el peso del perdigón al nacimiento y, en caso de mortalidad embrionaria, la fase de desarrollo en que tuvo lugar. A continuación se analizan, para cada variable, los resultados obtenidos en este estudio.

1.1. Fertilidad y peso inicial del huevo

La fertilidad media de los huevos utilizados en este estudio fue del 58,33% (Tabla 3). No se encontraron diferencias en la fertilidad en función de la duración del periodo de almacenamiento, la temperatura de almacenamiento o la interacción entre ambos factores ($P > 0,05$).

El valor medio obtenido en el Estudio 1 para el peso inicial de los huevos fértiles fue de 19,63 g (Tabla 4).

Tabla 3. Fertilidad y tasa de eclosión de los huevos de perdiz roja (*Alectoris rufa*) en función de la duración y la temperatura de conservación¹

Tratamiento	Número de huevos incubados ²	Fertilidad ³ (%)	Tasa de eclosión del total de los huevos ⁴ (%)	Tasa de eclosión de los huevos fértiles ⁵ (%)
Duración del almacenamiento (d)				
7	30	57,14	50,48	89,39 ^a
42	30	59,52	44,29	74,50 ^b
Temperatura de almacenamiento (°C)				
9	20	60,00	49,29	83,58
12	20	57,14	47,86	83,00
15	20	57,86	45,00	79,25
Duración (d) × temperatura (°C) de almacenamiento				
7-9	10	61,43	52,86	86,83
7-12	10	55,71	50,00	90,00
7-15	10	54,29	48,57	91,33
42-9	10	58,57	45,71	80,33
42-12	10	58,57	45,71	76,00
42-15	10	61,43	41,43	67,17
EEM		1,90	1,97	2,34
<i>P</i> -valor				
Duración del almacenamiento		0,545	0,126	0,001
Temperatura de almacenamiento		0,825	0,673	0,673
Interacción		0,580	0,945	0,252

¹Media.²Número de replicas de 7 huevos cada una.³Porcentaje de huevos incubados que eran fértiles.⁴Porcentaje de huevos incubados que eclosionaron.⁵Porcentaje de huevos fértiles que eclosionaron.^{a-b}Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

1.2. Pérdidas de peso del huevo fértil

La tabla 4 muestra las pérdidas de peso del huevo observadas en este estudio durante la conservación, durante los primeros 21 d de incubación y la pérdida de peso total, desde la puesta hasta la eclosión del perdigón.

Tabla 4. Peso del huevo fértil de perdiz roja (*Alectoris rufa*) y pérdidas de peso durante la conservación y durante los primeros 21 d de incubación en función de la duración y la temperatura del almacenamiento¹

Tratamiento	Número de huevos incubados ²	Peso del huevo fértil antes de la incubación (g)	Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación ³ (%)	Pérdida de peso del huevo fértil a los 21 d de incubación ⁴ (%)	Pérdida de total de peso del huevo fértil ⁵ (%)
Duración del almacenamiento (d)					
7	30	19,43 ^b	0,63 ^b	11,20	11,75 ^b
42	30	19,82 ^a	3,04 ^a	11,01	13,70 ^a
Temperatura de almacenamiento (°C)					
9	20	19,49	1,18 ^b	11,01	12,06 ^b
12	20	19,79	1,49 ^b	11,15	12,48 ^b
15	20	19,60	2,82 ^a	11,16	13,65 ^a
Duración (d) × temperatura (°C) de almacenamiento					
7-9	10	19,34	0,43 ^e	10,88	11,26
7-12	10	19,54	0,41 ^e	11,34	11,69
7-15	10	19,42	1,05 ^d	11,39	12,30
42-9	10	19,65	1,93 ^c	11,14	12,85
42-12	10	20,03	2,58 ^b	10,97	13,26
42-15	10	19,79	4,60 ^a	10,92	14,99
EEM		0,06	0,19	0,13	0,21
<i>P</i> -valor					
Duración del almacenamiento		0,001	< 0,001	0,473	< 0,001
Temperatura de almacenamiento		0,112	< 0,001	0,871	< 0,001
Interacción		0,824	< 0,001	0,486	0,205

¹Media.²Número de replicas de 7 huevos cada una.³ Valores expresados como porcentaje del peso del huevo al comienzo del periodo de conservación la incubación.⁴ Valores expresados como porcentaje del peso del huevo al comienzo de la incubación.⁵Valores expresados como porcentaje de la pérdida de peso entre el comienzo del periodo de conservación y 21 de incubación.^{a-e} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

1.2.1. Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación

Durante la conservación, los huevos fértiles de perdiz roja utilizados en este estudio perdieron como media un 1,84% de su peso inicial (Tabla 4). Esta variable se vio influida por la duración de la conservación ($P < 0,001$), de modo que los huevos fértiles almacenados durante 42 d perdieron un 3,04% de su peso inicial mientras que los huevos fértiles almacenados durante 7 d solo perdieron el 0,63% de su peso inicial.

También se observó una influencia significativa de la temperatura de conservación sobre la pérdida de peso del huevo fértil durante la misma ($P < 0,001$). Los huevos almacenados a 9 y 12 °C perdieron una media de 1,34% de su peso inicial, mientras que los huevos almacenados a 15 °C perdieron significativamente más peso que los anteriores (2,82%).

Hubo interacción entre la duración y temperatura de conservación sobre la pérdida de peso del huevo fértil durante el almacenamiento (Tabla 4). Como consecuencia, los huevos almacenados durante 42 d a 15 °C perdieron un 4,60% de su peso inicial mientras que los huevos almacenados durante 7 d a 9 °C solo perdieron una media del 0,43% de su peso inicial.

1.2.2. Pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 días de incubación

En este estudio se obtuvo un porcentaje de pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 d de incubación del 11,11% respecto al peso del huevo tras su conservación (Tabla 4). Para esta variable no se encontró ninguna diferencia entre tratamientos para esta variable ($P > 0,05$).

1.2.3. Pérdida total de peso del huevo fértil

Sin embargo, la pérdida de peso total del huevo, desde la puesta hasta la eclosión, aumentó significativamente para los lotes de huevos almacenados durante mayor tiempo (Tabla 4, $P < 0,001$; 42 d: 13,70% y 7 d: 11,75%).

La pérdida de peso total del huevo fértil también aumentó progresivamente con la temperatura a la que fueron almacenados antes de su incubación (Tabla 4, $P < 0,001$). Los huevos almacenados a 9 y 12 °C sufrieron pérdidas de peso totales iguales, con una media de 12,27%; mientras que los huevos almacenados a 15 °C perdieron un 13,65% de su peso inicial. En cambio, no se encontró interacción entre la duración y la temperatura del periodo de almacenamiento sobre la pérdida de peso total del huevo fértil ($P = 0,205$).

1.3. Tasa de eclosión y fase de mortalidad embrionaria

En este estudio, la tasa media de eclosión del total de huevos incubados fue del 47,39% (Tabla 3). No se encontraron diferencias de esta variable en función de la duración del periodo de almacenamiento, la temperatura de almacenamiento o la interacción entre ambos factores ($P > 0,05$).

La tasa de eclosión media de los huevos fértiles fue del 81,95% y significativamente más alta ($P = 0,001$) para los huevos almacenados durante 7 d (89,39%) que para los huevos almacenados durante 42 d (74,50%). No se encontraron diferencias significativas de la tasa de eclosión de los huevos fértiles en función de la temperatura de almacenamiento ($P > 0,05$) y no hubo interacción entre la duración y la temperatura de conservación sobre esta variable ($P > 0,05$).

La tabla 5 muestra la tasa de mortalidad embrionaria de los huevos fértiles obtenida en el estudio 1, dividida en cinco grupos dependiendo del estado de desarrollo en el momento de la muerte del embrión y en función de la duración y la temperatura del almacenamiento previo a la incubación.

La tasa de abortos tardíos ($P = 0,001$) se vio altamente afectada por la duración del almacenamiento previo a la incubación. Así, en los huevos almacenados durante 7 d el porcentaje de abortos tardíos fue del 3,17% mientras que éste aumentó a un 13,94% in los huevos almacenados durante 42 d. La mortalidad embrionaria en el resto de las fases de desarrollo no se vio afectada por los tratamientos aplicados en este estudio ($P > 0,05$).

Sin embargo, la temperatura del almacenamiento no influyo sobre la tasa de eclosión total o la mortalidad embrionaria en cada una de las fase de desarrollo del embrión ($P > 0,05$). Tampoco hubo interacción entre la duración de la conservación y la temperatura de conservación sobre estas variables ($P > 0,05$).

Tabla 5. Efecto de la duración y de la temperatura de conservación sobre la mortalidad embrionaria en huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*)

Tratamiento	Número de huevos incubados ¹	Mortalidad embrionaria ² (% de los huevos fértiles)				
		FSD	DP	AT	AD	P
Duración del almacenamiento (d)						
7	30	2,22 ^a	1,78	3,44	3,17 ^b	0,00
42	30	0,00 ^b	4,94	5,78	13,94 ^a	0,83
Temperatura de almacenamiento (°C)						
9	20	2,08	4,25	2,25	7,83	0,00
12	20	0,00	2,08	7,08	7,83	0,00
15	20	1,25	3,75	4,50	10,00	1,25
Duración (d) × temperatura (°C) de almacenamiento						
7-9	10	4,17	2,00	0,00	7,00	0,00
7-12	10	0,00	1,67	8,33	0,00	0,00
7-15	10	2,50	1,67	2,00	2,50	0,00
42-9	10	0,00	6,50	4,50	8,67	0,00
42-12	10	0,00	2,50	5,83	15,67	0,00
42-15	10	0,00	5,83	7,00	17,50	2,50
EEM		0,64	1,07	1,29	1,68	0,41
<i>P</i> -valor						
Duración del almacenamiento		0,084	0,151	0,370	0,001	0,322
Temperatura de almacenamiento		0,405	0,697	0,318	0,801	0,375
Interacción		0,405	0,749	0,421	0,118	0,375

¹ Número de replicas de 7 huevos cada una.

²FSD: fértil sin desarrollo; DP: desarrollo positivo; AT: aborto temprano; AD: aborto tardío; P: huevo picado pero sin salir el pollo del cascarón.

^{a-b} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

1.4. Duración de la incubación.

El periodo de incubación duró una media de 23,22 d y fue altamente influenciado por la duración del periodo de conservación previo a la incubación (Tabla 6, $P < 0,001$). Así, los huevos almacenados durante 7 d eclosionaron antes (23,04 d) que los huevos almacenados durante 42 d (23,39 d).

La temperatura a la que se conservaron los huevos no afectó a la duración de la incubación ($P > 0,05$). Y se observó interacción entre la duración y la temperatura de

conservación sobre la duración de la incubación ($P = 0,005$), de modo que los huevos almacenados durante 42 d a 15 °C tendieron a eclosionar después (23,49 d) que los huevos almacenados durante 42 d a 9 °C (23,26 d), y los huevos almacenados durante 7 d a 15 °C (22,93 d) tendieron a eclosionar antes que los almacenados 7 d a 9°C (23,23 d).

Tabla 6. Peso del perdigón al nacimiento y duración de la incubación en perdiz roja (*Alectoris rufa*) en función de la duración y la temperatura del almacenamiento¹

Tratamiento	Número de huevos incubados ²	Peso del perdigón al nacimiento (g)	Duración de la incubación (d)
Duración del almacenamiento (d)			
7	30	13,99	23,04 ^b
42	30	14,03	23,39 ^a
Temperatura de almacenamiento (°C)			
9	20	13,92	23,25
12	20	14,08	23,19
15	20	13,03	23,21
Duración (d) × temperatura (°C) de almacenamiento			
7-9	10	13,79	23,23 ^{ab}
7-12	10	14,13	22,96 ^b
7-15	10	14,04	22,93 ^b
42-9	10	14,05	23,26 ^{ab}
42-12	10	14,02	23,41 ^a
42-15	10	14,02	23,49 ^a
EEM		0,07	0,04
<i>P</i> -valor			
Duración del almacenamiento		0,773	< 0,001
Temperatura de almacenamiento		0,692	0,784
Interacción		0,580	0,005

¹Media.

²Número de replicas de 7 huevos cada una.

^{a-b} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

1.5. Peso del perdigón al nacimiento

El peso medio del perdigón en el momento del nacimiento fue de 14,01 g (Tabla 6). Ni la duración ni la temperatura del almacenamiento previo a la incubación influyeron sobre esta variable ($P > 0,05$). Tampoco hubo interacción entre estos factores sobre el peso del perdigón al nacimiento ($P > 0,05$).

2. Efecto de la incubación previa al almacenamiento sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz (*Alectoris rufa*)

Para investigar el efecto de la incubación previa al almacenamiento (pre-storage incubation o PRESI) sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*) se realizó el Estudio 2. En este estudio se utilizaron un total de 420 huevos organizados en un diseño factorial 2×3 , con 2 niveles de duración de la conservación (7 y 42 d) y 3 niveles de temperatura de tratamiento PRESI (0, 6 y 12 h de incubación a 37,8 °C y 55% HR), lo que resultó en 6 tratamientos con 10 réplicas de 7 huevos cada uno. Para cada tratamiento se midieron las pérdidas de peso del huevo durante la conservación y durante los primeros 21 d de incubación, la tasa de eclosión, el peso del perdigón al nacimiento, la duración de la incubación y, en caso de muerte embrionaria, la fase de desarrollo en que tuvo lugar. Los resultados obtenidos en este estudio se detallan a continuación, dentro de cada apartado.

2.1. Fertilidad y peso inicial del huevo

La fertilidad media del conjunto de los huevos incubados en este estudio fue del 50,24%. No se obtuvieron diferencias significativas ($P > 0,05$) para la variable fertilidad entre los tratamientos determinados por la combinación de los factores “periodo de almacenamiento” e “incubación previa al almacenamiento (PRESI)”, tal y como se recoge en la Tabla 7.

El peso medio inicial de los huevos fértiles de perdiz roja utilizados en este Estudio fue de 19,80 g (Tabla 8). Para esta variable no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los diferentes lotes de tratamiento.

Tabla 7. Fertilidad y tasa de eclosión de los huevos de perdiz roja (*Alectoris rufa*) en función de la duración de la conservación y del tratamiento de incubación previo a la conservación¹

Tratamiento	Número de huevos incubados ²	Fertilidad ³ (%)	Tasa de eclosión del total de los huevos ⁴ (%)	Tasa de eclosión de los huevos fértiles ⁵ (%)
Duración del almacenamiento (d)				
7	30	54,29	45,71 ^a	83,61 ^a
42	30	46,19	16,19 ^b	31,39 ^b
Duración del tratamiento PRESI ⁶ (h)				
0	20	54,29	33,57	62,75 ^a
6	20	52,86	34,29	63,50 ^a
12	20	43,57	25,00	46,25 ^b
Duración del almacenamiento (d) × duración del PRESI ⁶ (h)				
7-0	10	50,00 ^{ab}	38,57 ^{abc}	75,00 ^a
7-6	10	58,57 ^a	48,57 ^{ab}	83,33 ^a
7-12	10	54,29 ^{ab}	50,00 ^a	92,50 ^a
42-0	10	58,57 ^a	28,57 ^{bc}	50,50 ^b
42-6	10	47,14 ^{ab}	20,00 ^{cd}	43,66 ^b
42-12	10	32,86 ^b	0,00 ^d	0,00 ^c
EEM		2,46	3,00	4,53
<i>P-valor</i>				
Duración del almacenamiento		0,081	< 0,001	< 0,001
Duración del tratamiento PRESI ⁶		0,123	0,133	0,002
Interacción		0,030	0,001	< 0,001

¹Media.²Número de replicas de 7 huevos cada una.³Porcentaje de huevos incubados que eran fértiles.⁴Porcentaje de huevos incubados que eclosionaron.⁵Porcentaje de huevos fértiles que eclosionaron.^{a-b}Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).⁶PRESI: Pre-storage incubation: Incubación previa al almacenamiento

2.2. Pérdidas de peso del huevo fértil

En la Tabla 8 se muestran, además de los valores medios del peso inicial de los huevos fértiles tras la puesta, los porcentajes de sus pérdidas de peso tras el periodo de almacenamiento, tras 21 d de incubación y el porcentaje total de la pérdida de peso del huevo fértil en función del tratamiento PRESI y del tiempo de almacenamiento.

Tabla 8. Peso del huevo fértil de perdiz roja (*Alectoris rufa*) y pérdidas de peso durante la conservación y durante los primeros 21 d de incubación en función de la duración del almacenamiento y del tratamiento de incubación previo a la conservación¹

Tratamiento	Número de huevos incubados ²	Peso del huevo fértil antes de la incubación (g)	Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación ³ (%)	Pérdida de peso del huevo fértil a los 21 d de incubación ⁴ (%)	Pérdida de total de peso del huevo fértil ⁵ (%)
Duración del almacenamiento (d)					
7	30	19,68	1,39 ^b	10,72	12,11 ^b
42	30	19,91	2,70 ^a	10,41	13,11 ^a
Duración del tratamiento PRESI ⁶ (h)					
0	20	19,92	2,01 ^b	10,56	12,57
6	20	19,69	1,87 ^b	10,30	12,17
12	20	19,78	2,25 ^a	10,84	13,09
Duración del almacenamiento (d) × duración del PRESI ⁶ (h)					
7-0	10	20,18	1,16 ^c	10,51	11,69
7-6	10	19,54	1,30 ^c	10,27	11,52
7-12	10	20,01	1,81 ^b	11,39	13,12
42-0	10	19,65	2,84 ^a	10,61	13,45
42-6	10	19,84	2,48 ^a	10,33	12,82
42-12	10	19,55	2,77 ^a	10,29	13,06
EEM		0,11	0,10	0,14	0,19
<i>P-valor</i>					
Duración del almacenamiento		0,296	< 0,001	0,271	0,004
Duración del tratamiento PRESI ⁶		0,705	0,001	0,294	0,084
Interacción		0,235	0,005	0,145	0,074

¹Media.

²Número de replicas de 7 huevos cada una.

³ Valores expresados como porcentaje del peso del huevo al comienzo del periodo de conservación la incubación.

⁴ Valores expresados como porcentaje del peso del huevo al comienzo de la incubación.

⁵Valores expresados como porcentaje de la pérdida de peso entre el comienzo del periodo de conservación y 21 de incubación.

⁶PRESI: Pre-storage incubation: Incubación previa al almacenamiento

^{a-c} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

2.2.1. Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación

La media obtenida para la pérdida de peso del huevo fértil durante el almacenamiento fue del 2,05%. Esta pérdida de peso se vio significativamente influenciada por el periodo de

almacenamiento ($P < 0,001$) y por el tratamiento PRESI ($P = 0,001$). Así pues, los huevos almacenados durante siete días perdieron durante la conservación el 1,39% de su peso inicial, mientras que los huevos fértiles almacenados durante 42 días perdieron durante la conservación el 2,70% de su peso inicial (Tabla 8). Los huevos que no fueron sometidos a tratamiento PRESI (0-h PRESI) o aquellos que tuvieron una incubación previa de seis horas (6-h PRESI) perdieron el 1,94% de su peso inicial, mientras que los que fueron sometidos a una incubación previa de 12 horas (12-h PRESI) perdieron el 2,70% de su peso inicial. Al analizar la interacción entre los tratamientos PRESI y los tiempos de conservación se encontró una influencia significativa en el porcentaje de pérdida de peso inicial ($P = 0,005$). Así, en el tratamiento de almacenaje durante siete días, los huevos que fueron pre-incubados durante 12 horas mostraron un mayor porcentaje de pérdida de peso (1,81 % de su peso inicial) que aquellos lotes sometidos a cero o seis horas de tratamiento PRESI (1,23%). Por el contrario, para los lotes con una conservación de 42 días no se observaron diferencias significativas para la variable pérdida de peso entre los tratamientos PRESI de 0, 6 y 12 h.

2.2.2. Pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 días de incubación

Durante los primeros 21 días de incubación no se observaron diferencias significativas entre el tiempo de almacenamiento o el tratamiento PRESI para la variable porcentaje de pérdida de peso de los huevos fértiles (Tabla 8, $P > 0,05$). Tampoco se obtuvo interacción entre ambos factores ($P > 0,05$) para esta variable.

2.2.3 Pérdida total de peso del huevo fértil

En lo referente al porcentaje de pérdida de peso total (pérdida de peso durante el almacenamiento más pérdida de peso durante la incubación), se obtuvieron diferencias significativas para esta variable (Tabla 8, $P = 0,004$). Así pues, el porcentaje de pérdida de peso total fue del 13,11% para los lotes de huevos almacenados durante 42 días y del 12,11% para los conservados durante 7 días. No obstante no se encontraron diferencias significativas para esta variable con el tratamiento PRESI ni se observó interacción entre los tratamientos de conservación y PRESI para la misma.

2.3. Tasa de eclosión y fase de mortalidad embrionaria

La tasa de eclosión media del conjunto de los huevos utilizados en el Estudio 2 fue del 30,95% (Tabla 7) y estuvo altamente influenciada por la duración de la conservación ($P < 0,001$). La media de la tasa de eclosión para los lotes de huevos almacenados durante 42 d fue claramente más baja (16,19%) que la de los huevos almacenados durante 7 d (45,71%). Por el contrario, no se observó influencia significativa del tratamiento PRESI sobre la citada tasa de eclosión ($P > 0,05$). Sin embargo sí se constató una clara interacción para dicha variable entre los tratamientos PRESI y tiempo de almacenamiento ($P = 0,001$), de tal forma que para los huevos almacenados durante 42 días la tasa de eclosión disminuyó conforme aumentaron las horas de tratamiento PRESI (Tabla 7), aunque esto no ocurrió para el caso de los huevos almacenados durante 7 días.

Si solo se tienen en cuenta los huevos fértiles, la media de la tasa de eclosión para estos aumentó hasta el 57,5%. Se observaron para esta variable diferencias significativas entre los lotes según el tiempo de conservación (Tabla 7, $P < 0,001$). La tasa de eclosión en los lotes almacenados hasta siete días fue del 83,61%, mientras que para los almacenados durante 42 d resultó muy inferior (31,39%). Se constató como el tratamiento PRESI tuvo una influencia significativa sobre las tasa de eclosión de los huevos fértiles ($P < 0,010$), de tal forma que con el tratamiento PRESI de 12 horas dicha tasa (46,25%) fue menor que la obtenida para los tratamientos con cero o seis horas PRESI (62,75 y 63,50%, respectivamente). También se obtuvo una clara interacción entre los tratamientos PRESI y tiempo de almacenamiento ($P < 0,001$) para la tasa de eclosión del el conjunto de huevos fértiles. Todos los lotes de huevos fértiles con siete días de almacenamiento y sometidos a los tratamientos PRESI (0, 6 y 12 h) mostraron una mayor tasa de eclosión que aquellos lotes almacenados durante 42 días y con tratamientos PRESI de cero o seis horas. Además, todos ellos tuvieron mayores tasas de eclosión que el lote de huevos almacenado durante 42 días y sometido a un tratamiento PRESI previo de 12 horas.

La tabla 9 muestra las tasas de mortalidad embrionaria de los huevos fértiles diferenciando cinco grupos en función del desarrollo embrionario observado en el momento de la muerte del mismo y según los tratamientos. El almacenamiento incrementó la mortalidad durante la fase de desarrollo positivo ($P < 0,001$), los abortos tempranos ($P = 0,001$) y los abortos tardíos ($P = 0,001$).

Tabla 9. Efecto de la duración de la conservación y del tratamiento PRESI sobre la mortalidad embrionaria en huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*)

Tratamiento	Número de huevos incubados ¹	Mortalidad embrionaria ² (% de los huevos fértiles)				
		FSD	DP	AT	AD	P
Duración del almacenamiento (d)						
7	30	0,83	1,67 ^b	0,83 ^b	11,67 ^b	0,56
42	30	1,11	21,22 ^a	12,44 ^a	33,83 ^a	0,00
Duración del tratamiento PRESI ³ (h)						
0	20	0,00	3,50 ^b	6,17	27,58	0,00
6	20	1,25	3,75 ^b	7,08	23,58	0,83
12	20	1,67	27,08 ^a	6,67	17,08	0,00
Duración del almacenamiento (d) × duración del PRESI ³ (h)						
7-0	10	0,00	2,50 ^b	0,00	22,50	0,00
7-6	10	2,50	2,50 ^b	2,50	7,50	1,67
7-12	10	0,00	0,00 ^b	0,00	5,00	0,00
42-0	10	0,00	4,50 ^b	12,33	32,67	0,00
42-6	10	0,00	5,00 ^b	11,67	39,67	0,00
42-12	10	3,33	54,17 ^a	13,33	29,17	0,00
EEM		0,69	3,20	1,80	3,50	0,28
<i>P-valor</i>						
Duración del almacenamiento		0,842	< 0,001	0,001	0,001	0,322
Duración del tratamiento PRESI ³		0,597	< 0,001	0,976	0,413	0,375
Interacción		0,237	< 0,001	0,874	0,377	0,375

¹ Número de replicas de 7 huevos cada una.

²FSD: fértil sin desarrollo; DP: desarrollo positivo; AT: aborto temprano; AD: aborto tardío; P: huevo picado pero sin salir el pollo del cascarón.

³PRESI: Pre-storage incubation: Incubación previa al almacenamiento

^{a-b} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

La incubación previa al almacenamiento durante 12 horas incrementó de forma significativa la tasa total de mortalidad embrionaria ($P = 0,005$), sobre todo durante la fase de desarrollo positivo ($P < 0,001$). Se apreció también una interacción significativa entre ambos tratamientos para la variable tasa total de mortalidad embrionaria ($P < 0,001$) y para la variable tasa de mortalidad durante la fase de desarrollo positivo ($P < 0,001$). Así, la mortalidad total llegó a ser del 100% para los huevos del tratamiento de 42 días de almacenamiento y 12 horas de PRESI. Por el contrario no hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos PRESI para los lotes almacenados durante siete días. La

mortalidad embrionaria durante la fase de desarrollo positivo fue del 54,17% para el lote almacenado durante 42 días y con 12 horas de tratamiento PRESI, mientras que no se hallaron diferencias significativas entre otros tratamientos, cuya mortalidad en la fase positiva fue del 2,9%.

2.4. Duración de la incubación.

El tiempo transcurrido entre el inicio de la incubación y el momento de la eclosión estuvo significativamente influenciado por el periodo de almacenamiento previo ($P < 0,001$) pero no por el tratamiento PRESI (Tabla 10). Los lotes de huevos almacenados durante siete días eclosionaron antes (23,29 d) que aquellos que se almacenaron durante 42 días (24,17 d). No se encontraron diferencias para esta variable dentro de los lotes sometidos a tratamiento PRESI ni se observó interacción para la misma entre los tratamientos PRESI y tiempo de almacenamiento.

2.5. Peso del perdigón al nacimiento

La media obtenida para el peso del perdigón al nacimiento fue de 13,95 g. No se encontró ninguna influencia sobre esta variable debida a los tratamientos PRESI o periodo de almacenamiento ($P > 0,05$, Tabla 10). Tampoco se observó ningún tipo de interacción entre ambos factores para dicha variable.

Tabla 10. Peso del perdigón al nacimiento y duración de la incubación en perdiz roja (*Alectoris rufa*) en función de la duración del almacenamiento y del tratamiento de incubación previo a la conservación¹

Tratamiento	Número de huevos incubados ²	Peso del perdigón al nacimiento (g)	Duración de la incubación (d)
Duración del almacenamiento (d)			
7	30	14,05	23,29 ^b
42	30	13,84	24,17 ^a
Duración del tratamiento PRESI ³ (h)			
0	20	14,15	23,85
6	20	13,85	23,63
12	20	13,82	23,26
Duración del almacenamiento (d) × duración del PRESI ³ (h)			
7-0	10	14,23	23,44
7-6	10	14,09	23,18
7-12	10	13,82	23,26
42-0	10	14,08	24,27
42-6	10	13,61	24,08
42-12	10	-	-
EEM		0,11	0,09
<i>P-valor</i>			
Duración del almacenamiento		0,225	< 0,001
Duración del tratamiento PRESI		0,289	0,382
Interacción		0,528	0,814

¹Media.²Número de replicas de 7 huevos cada una.³PRESI: Pre-storage incubation: Incubación previa al almacenamiento^{a-b} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

3. Efecto del momento del cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja. (*Alectoris rufa*)

Para investigar el efecto del momento del cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento sobre la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*) se realizó un estudio con un total de 400 huevos organizados en cinco lotes, cada uno con 80 huevos distribuidos aleatoriamente. Los lotes de huevos se incubaron a una temperatura de 37,8 °C durante los primeros 18, 19, 20, 21 y 22 d respectivamente y a continuación, y hasta

la eclosión, a una temperatura de 37,5 °C. Para cada tratamiento se midieron las pérdidas de peso del huevo durante los primeros 21 d de incubación, la tasa de eclosión, el peso del perdigón al nacimiento, la duración de la incubación y, en caso de muerte embrionaria, la fase de desarrollo en que tuvo lugar. Los resultados obtenidos en este estudio se describen en los siguientes apartados.

3.1. Fertilidad y peso inicial del huevo

La fertilidad media de los huevos utilizados en este estudio fue del 50,8% (Tabla 11). No se encontraron diferencias entre los tratamientos experimentales en la fertilidad de los huevos incubados ($P > 0,05$). El peso medio de los huevos fértiles antes de la incubación fue 19,84 g, con independencia del tratamiento (Tabla 12; $P > 0,05$).

3.2. Pérdidas de peso del huevo fértil

En el estudio 3, la pérdida media de peso de los huevos fértiles a los 21 d de incubación fue de un 10,22% de su peso inicial. Se encontraron diferencias de esta variable entre los distintos tratamientos ($P < 0,05$), aunque no se observó una progresión lineal de la pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 d de incubación respecto al momento del cambio de la temperatura entre los días 18 y 22 de incubación (Tabla 12).

3.3. Tasa de eclosión y fase de mortalidad embrionaria

La tasa de eclosión del total de los huevos incubados fue del 44,5% y la tasa de eclosión de los huevos fértiles fue del 87,7% (Tabla 11). No se encontraron diferencias entre los tratamientos experimentales en la tasa de eclosión del total de huevos incubados ni en la tasa de eclosión de los huevos fértiles ($P > 0,05$ en ambos casos).

Entre los tratamientos establecidos, según el momento de cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento, no se encontraron diferencias en la mortalidad embrionaria en cada fase de desarrollo embrionario, cuyos valores medios fueron 0% de huevos fértiles sin desarrollo, 2,5% de huevos con desarrollo positivo, 5,4% de abortos tempranos, 3,9% de abortos tardíos y 0,5% de embriones que murieron picando la cáscara (Tabla 11).

3.4. Duración de la incubación.

El periodo de incubación duró una media de 23,39 d, disminuyendo conforme se retrasaba el cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento (Tabla 12, $P < 0,001$). Así, los huevos mantenidos a la temperatura de incubación durante 22 d eclosionaron significativamente antes (23,04d) que los huevos de los demás tratamientos, y mostraron el menor coeficiente de variación (1,26) y la mayor curtosis (5,71) para la duración de la incubación. No se encontró diferencia en la varianza de la duración de la incubación entre los tratamientos sometidos al cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento en los días 18, 19, 20 y 21, que mostraron una varianza media de 0,21. Sin embargo, encontramos diferencia ($P < 0,05$) en la varianza de la duración de la incubación entre éstos tratamientos y el tratamiento de cambio de la temperatura a los 22 d de incubación, que mostró una varianza de 0,08.

3.5. Peso del perdigón en la eclosión

El peso medio del perdigón en la eclosión fue 14,27 g. El momento de cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento no influyó en el peso del perdigón al nacimiento (Tabla 11, $P > 0,05$).

Tabla 11. Fertilidad, tasa de eclosión, mortalidad embrionaria y peso del perdigón al nacimiento en función del momento de cambio de la temperatura de incubación (37,8°C) a la de nacimiento (37,5°C) en huevos de perdiz roja

Momento de cambio de temperatura ¹ (d)	Número de huevos incubados	Fertilidad ² (%)	Tasa de eclosión del total de los huevos ³ (%)		Mortalidad embrionaria ⁵ (% de los huevos fértiles)					Peso del perdigón al nacimiento (g, Media ± ET)
			eclosión de los huevos fértiles ⁴ (%)	de los huevos fértiles ⁴ (%)	FSD	DP	AT	AD	P	
18	80	48,8	38,8	79,5	0,0	5,1	10,3	5,1	0,0	14,36 ± 0,17
19	80	47,5	43,8	92,1	0,0	0,0	5,3	2,6	0,0	14,36 ± 0,16
20	80	58,8	55,0	93,6	0,0	0,0	2,1	4,3	0,0	14,21 ± 0,16
21	80	42,5	36,3	85,3	0,0	2,9	2,9	5,9	2,9	14,36 ± 0,21
22	80	56,3	48,8	86,7	0,0	4,4	6,7	2,2	0,0	14,13 ± 0,20
<i>P</i> -valor		0,226	0,114	0,301	1,000	0,400	0,508	0,910	0,290	0,813

¹Tiempo transcurrido desde el comienzo de la incubación.

²Porcentaje de los huevos incubados que eran fértiles.

³Porcentaje de los huevos incubados que eclosionaron.

⁴Porcentaje de los huevos fértiles que eclosionaron.

⁵FSD: fértil sin desarrollo; DP: desarrollo positivo; AT: aborto temprano; AD: aborto tardío; P: huevo picado pero sin salir el pollo del cascarón.

ET: Error típico.

Tabla 12. Peso del huevo, pérdida de peso del huevo a los 21 d de incubación y duración de la incubación de huevos de perdiz roja en función del momento de cambio de la temperatura de incubación (37,8°C) a la de nacimiento (37,5°C)

Momento de cambio de temperatura ¹ (d)	Número de huevos fértiles	Peso de los huevos fértiles antes de la incubación (g)	Pérdida de peso de los huevos fértiles a los 21 d de incubación ² (%)	Duración de la incubación (d)						
				Media ± ET	Varianza	CV ³ (%)	Asimetría	Curtosis	Min	Máx
18	39	19,78 ± 0,22	10,03 ± 0,31 ^{ab}	23,63 ± 0,07 ^a	0,17 ^x	1,72	1,06	3,07	23,00	25,00
19	38	19,88 ± 0,17	9,72 ± 0,24 ^b	23,40 ± 0,08 ^b	0,25 ^x	2,12	1,76	4,88	22,50	25,00
20	47	19,89 ± 0,19	10,56 ± 0,20 ^a	23,51 ± 0,07 ^{ab}	0,19 ^x	1,86	1,48	3,02	23,00	25,00
21	34	19,96 ± 0,22	9,91 ± 0,22 ^{ab}	23,41 ± 0,09 ^b	0,22 ^x	1,98	1,80	4,43	23,00	25,00
22	45	19,70 ± 0,23	10,68 ± 0,30 ^a	23,04 ± 0,05 ^c	0,08 ^y	1,26	1,71	5,71	22,50	24,00
P-valor		0,911	0,036	< 0,001						

¹ Tiempo transcurrido desde el comienzo de la incubación.

² Valores expresados como porcentaje del peso del huevo al comienzo de la incubación.

³ CV: Coeficiente de variación.

^{a-b} Medias en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

^{x-y} Varianzas en la misma columna acompañadas de superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0,05$).

ET: Error típico.

DISCUSIÓN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

1. Fertilidad y peso inicial del huevo

La fertilidad media de los huevos obtenida en los Estudios 1, 2 y 3 (58,33, 50,24 y 50,8%, respectivamente) resultó muy por debajo de los valores medios descritos para esta especie criada en explotaciones intensivas (73,5 a 85,6%; Bagliacca *et al.*, 1988; Paci *et al.*, 1992; González-Redondo, 2006, 2010; Mourão *et al.*, 2010). Dada la homogeneidad entre los valores de fertilidad encontrados en nuestros ensayos, y puesto que todos los huevos procedían de la misma explotación y estación reproductiva, las bajas tasas de fertilidad debieron estar motivadas por las condiciones de manejo de la propia explotación, tales como selección genética de los reproductores, tipo de alojamiento, alimentación, regulación de la iluminación artificial del fotoperiodo, etc. (King'ori, 2011).

En cambio, los valores medios obtenidos para el peso inicial del huevo en los tres estudios (19,63-19,84 g) se encontraron dentro del rango de los valores descritos en la literatura para los huevos de *A. rufa* (entre 15 y 25 g: Beer y Jenkinson, 1981; Pérez y Pérez, 1981; Bugalho *et al.*, 2008; González-Redondo, 2010; Mourão *et al.*, 2010).

2. Pérdida de peso del huevo fértil

2.1. Pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación

En los Estudios 1 y 2 obtuvimos unos porcentajes de pérdida de peso del huevo fértil durante la conservación que oscilaron entre 0,63 y 3,04%, coincidiendo con los resultados obtenidos por González-Redondo (2010) en su estudio sobre conservación a largo plazo de huevos de perdiz roja (0,39-3,13%).

El peso del huevo fértil disminuyó significativamente durante la conservación al aumentar la duración del periodo de almacenamiento (Estudios 1 y 2: $P < 0,001$), la temperatura de la cámara de conservación (Estudio 1: $P < 0,001$), y la duración del tratamiento PRESI (Estudio 2: $P = 0,001$). Además, se observó interacción significativa entre la duración del periodo de conservación y la temperatura de conservación (Estudio 1; $P < 0,001$) y entre el tratamiento PRESI y la duración de la conservación (Estudio 2; $P = 0,005$).

Todos estos resultados concuerdan con los obtenidos en otras investigaciones con huevos de perdiz roja (González-Redondo, 2010), perdiz griega (Tilki y Saatci, 2004) y otras especies avícolas como pollos de engorde (Imai *et al.*, 1986; Walsh *et al.*, 1995; Fassenko *et al.*, 2001b; Reijrink *et al.*, 2010). La razón estriba en que estos tres factores (periodo de conservación, temperatura de conservación y tratamiento PRESI) modifican la permeabilidad de la cáscara del huevo y favorecen la pérdida de vapor de agua desde su interior (Fassenko *et al.*, 2001b; Tilki y Saatci, 2004; Çağlayan *et al.*, 2009; González-Redondo, 2010), cuyos efectos sobre el deterioro del embrión y de la tasa de eclosión se analizan más adelante.

2.2. Pérdidas de peso del huevo fértil durante los primeros 21 d de incubación

El valor medio del porcentaje de pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 d de la incubación resultó de 11,11, 10,57 y 10,22% en los Estudios 1, 2 y 3 respectivamente. Estos valores fueron ligeramente superiores a la media encontrada para la misma variable (9,15%) por González-Redondo (2010) en huevos de *A. rufa* incubados en condiciones similares.

No se encontró ninguna influencia, en los Estudios 1 y 2, de la duración de la conservación, la temperatura de conservación, o el tratamiento PRESI sobre la pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 d de incubación. Tampoco se observó interacción entre los factores duración de la conservación y temperatura de conservación ó duración de la conservación y tratamiento PRESI sobre esta variable ($P > 0,05$). Todo ello coincide con los resultados de otros estudios sobre almacenamiento de huevos de pollos broiler (Fassenko *et al.*, 2001b; Silva *et al.*, 2008; Reijrink *et al.*, 2009) y parece que se debe al hecho de que, independientemente del tratamiento de conservación al que fueron sometidos los lotes de estos dos estudios, los huevos fueron incubados bajo las mismas condiciones de humedad relativa, temperatura y volteo: 21 d en incubadora, a 37,8 °C, 55% HR y volteo de 45° a ambos lados de la vertical cada hora, y transferencia posterior a nacedora, a 37,5 °C y 80% HR, sin volteo de huevos.

En cambio, en el Estudio 3, en el que las condiciones de incubación fueron diferentes para cada lote, sí se encontraron diferencias significativas entre tratamientos respecto a la pérdida de peso del huevo fértil durante los primeros 21 d de incubación ($P < 0,05$), aunque

no de manera lineal respecto al momento del cambio de la temperatura. Por eso, nosotros no pudimos confirmar taxativamente los resultados de estudios previos con huevos de gallina y de codorniz, que han revelado que durante los últimos días de la incubación aumenta el metabolismo embrionario (Romijn y Lokhorst, 1955, 1956) y en consecuencia aumenta la respiración del embrión y la salida de vapor de agua desde el interior del huevo (Tullett y Board, 1976; Lomholt, 1977; Decuypere y Michels, 1992).

2.3. Pérdida total de peso del huevo fértil

En los Estudios 1 y 2, la pérdida de peso total del huevo fértil (pérdida de peso durante la conservación + pérdida de peso durante los primeros 21 d de incubación) aumentó significativamente con la duración del periodo de conservación (Estudio 1: $P < 0,001$; Estudio 2: $P < 0,05$) y con la temperatura de conservación (Estudio 1: $P < 0,001$).

En cambio, no encontramos ninguna influencia del tratamiento PRESI sobre la pérdida total de peso del huevo (Estudio 2: $P > 0,05$), probablemente porque la alta influencia de la duración de la conservación sobre la permeabilidad de la cáscara y la pérdida de vapor de agua pudo enmascarar el eventual efecto del tratamiento PRESI. Tampoco se observó ninguna interacción entre la duración de la conservación y la temperatura de almacenamiento o entre la duración de la conservación y el tratamiento PRESI sobre la pérdida total de peso del huevo (Estudios 1 y 2: $P > 0,05$), coincidiendo esto último con los resultados de estudios previos con huevos de pollos broiler (Fasenko *et al.*, 2001b; Reijrink *et al.*, 2009, 2010).

3. Tasa de eclosión del huevo fértil y fase de mortalidad embrionaria.

Los valores medios de tasa de eclosión descritos en la literatura para los huevos fértiles de *A. rufa* varían entre un 72,6 y un 91,6% (Bagliacca *et al.*, 1988; Paci *et al.*, 1992; González-Redondo, 2006, 2010). En nuestros Estudios 1, 2 y 3 los valores medios para este parámetro fueron de 81,6, 57,5 y 87,7%, respectivamente, viéndose altamente mermada por la duración del periodo de conservación (Estudio 1: $P = 0,001$; Estudio 2: $P < 0,001$) y por la duración del tratamiento PRESI (Estudio 2: $P < 0,01$), observándose interacción entre el tratamiento PRESI y la duración de la conservación (Estudio 2: $P < 0,001$).

En cambio, ni la temperatura de almacenamiento, ni el momento en el que se cambió la temperatura de incubación a la de nacimiento influyeron sobre la tasa de eclosión de los huevos fértiles ($P > 0,05$). Tampoco se observó interacción entre la duración de la conservación y la temperatura de conservación para la variable tasa de eclosión de los huevos fértiles. A continuación se analizan estos resultados.

3.1. Influencia de la duración de la conservación

La influencia negativa observada, en nuestros estudios 1 y 2, de la duración del almacenamiento de los huevos fértiles de *A. rufa* sobre su tasa de eclosión coincide con los resultados de estudios previos realizados con huevos de otras especies avícolas (Proudfoot, 1969; Meijerhof, 1992; Christensen, 2001; Fasenko *et al.*, 2009). La razón estriba en que la pérdida de vapor de agua que tiene lugar desde el interior del huevo durante su conservación contribuye a la disminución de la tasa de supervivencia de las células originales y del nivel de su sustitución por células nuevas, provocando lo que se conoce como envejecimiento del huevo fértil (Nahm, 2001; Tilki y Saatci, 2004; Fasenko, 2007; Çağlayan *et al.*, 2009). Como consecuencia, largos periodos de conservación perjudican el desarrollo del embrión y aumentan la probabilidad de mortalidad embrionaria durante la incubación (Fasenko *et al.*, 1992; Nahm, 2001).

Analizando las fases en las que se produjeron las muertes embrionarias, en el Estudio 1 se observaron más abortos tardíos en los lotes de huevos conservados durante 42 d que en los lotes almacenados durante 7 d (13,94 vs 3,17%; $P = 0,001$). En el mismo estudio, la mortalidad en las demás fases de desarrollo embrionario no se vio afectada por la duración de la conservación ($P > 0,05$). En cambio, en el Estudio 2, en los lotes conservados durante 42 d se observó un aumento de la mortalidad embrionaria, respecto a los lotes conservados durante 7 d, en las fases de desarrollo positivo ($P < 0,001$), abortos tempranos ($P = 0,001$) y abortos tardíos ($P = 0,001$), coincidiendo con los resultados obtenidos por otros investigadores como Woodard y Morzenti (1975), Nahm (2001) y Fasenko (2007).

No obstante, los valores medios que obtuvimos para la tasa de eclosión de los huevos fértiles conservados durante 42 d a 9, 12 y 15 °C (Estudio 1: 74,5%) se encontraron dentro del

rango de los valores medios ya descritos para la especie (72,6 a 91,6%). Ello confirma que los huevos de *A. rufa* se pueden conservar, manteniendo su viabilidad, durante más tiempo que los de otras especies avícolas (Woodard y Morzenti, 1975; Wilson *et al.*, 1997; Fasenko, 2007; Romao *et al.*, 2008; González-Redondo, 2010). Esto puede explicarse por el hábitat natural y el comportamiento de esta especie en estado salvaje. En su medio natural, la viabilidad de los huevos de *A. rufa* se mantiene elevada durante unos 25 días y disminuye rápidamente después (Green, 1984; Casas, 2008). Dos mecanismos explican este fenómeno: En primer lugar, esta especie, que prefiere climas más cálidos y secos que otras especies avícolas (Coles, 1971; Pérez y Pérez, 1981) tiene un largo periodo de puesta. A menudo incuba huevos que han sido puestos a lo largo de tres semanas y algunos de ellos incluso han podido ponerse 5 o 6 semanas antes de que comience la incubación. Durante el tiempo previo a la incubación, los huevos quedan expuestos a pleno sol durante el día y, a veces, a heladas durante la noche. En segundo lugar, *A. rufa* produce a menudo puestas dobles y los machos suelen retrasar la incubación de la primera puesta hasta que las hembras completan la segunda puesta (Green, 1984; Casas, 2008). Por consiguiente, tanto las condiciones ambientales como la etología de esta especie han actuado como mecanismos de selección que explican por qué los huevos de *A. rufa* se mantienen viables durante periodos de conservación más largos que los de otras especies avícolas.

3.2. Influencia del tratamiento PRESI

En nuestro estudio sobre incubación previa al almacenamiento (Estudio 2), el tratamiento PRESI deterioró significativamente la tasa de eclosión de los huevos fértiles de *A. rufa* ($P = 0,005$). Los lotes sometidos a 12 h de PRESI tuvieron una tasa de mortalidad embrionaria del 52,50%, mayoritariamente en la fase de desarrollo positivo (27,08%), mientras que los lotes sometidos a 0 o a 6 h de PRESI tuvieron una mortalidad del 36,88% de los huevos fértiles, más alta en la fase de aborto tardío (25,58%), y sin diferencia entre ellos.

Es de destacar que en este estudio no hubo variación en la tasa de eclosión entre los huevos fértiles conservados durante 7 d, independientemente del tratamiento PRESI (0, 6 o 12 h). En este caso, el valor medio de la tasa de eclosión (83,61%) coincidió con los valores medios descritos para *A. rufa* con anterioridad (72,6 a 91,6%). Este dato concuerda con los resultados obtenidos en otros estudios previos, con huevos de pavo y broilers (Fasenko *et al.*, 2001a, 2001b; Reijrink *et al.*, 2009), que no encontraron ningún efecto, ni beneficioso ni

perjudicial, del tratamiento PRESI sobre huevos almacenados durante cortos periodos de tiempo (8 d).

En cambio, para los huevos conservados durante 42 d y sometidos a 0 y 6 h de PRESI, la tasa de eclosión de los huevos fértiles cayó hasta un 47,08%, sin diferencia entre ellos, mientras que 12 h de tratamiento PRESI provocaron una tasa de mortalidad embrionaria del 100%, mayoritariamente en la fase de desarrollo positivo (54,17%). En los demás tratamientos de este estudio el porcentaje de muertes embrionarias en esta fase fue del 2,90%, sin diferencia entre ellos. El efecto perjudicial de 12 h de tratamiento PRESI previo a largos periodos de conservación parece estar relacionado con el hecho de que la incubación previa a la conservación contribuye a la deshidratación del huevo en sus primeros estadios (que se refleja en la pérdida de peso del huevo durante la conservación), lo que provoca un deterioro importante del embrión en la fase de desarrollo positivo. Esto concuerda en parte con los resultados obtenidos por Fasenko *et al.* (2001b) que, al comparar 0, 6, 12 y 18 h de tratamiento PRESI previos a 14 d de conservación, encontraron que aunque el tratamiento de 6 h mejoraba la tasa de eclosión de los huevos fértiles, el de 12 h no la mejoraba y el de 18 h la empeoraba, provocando un 90,9% de mortalidad embrionaria, la mayoría en la fase de desarrollo positivo (86,3%).

A la vista de los resultados expuestos, podría ser interesante investigar si, en huevos de perdiz roja, el tratamiento PRESI produce resultados beneficiosos cuando se realiza antes de largos periodos de conservación (14 o 28 d), pero no tanto como el estudiado (42 d).

4. Duración de la incubación y dispersión de las eclosiones

En nuestros Estudios 1, 2 y 3 obtuvimos duraciones medias de incubación de 23,21, 23,73 y 23,39 d, respectivamente, que se aproximan a los 23,50 d indicados para *A. rufa* por Lara y Arenzana (1965) y por Flores (1979), o los 23,40 d apuntados por González-Redondo *et al.* (2012) en base a ensayos realizados en el mismo laboratorio y con la misma metodología que la de la presente tesis doctoral.

La duración de la incubación de los huevos fértiles de perdiz roja resultó influenciada por la duración del periodo de conservación (Estudios 1 y 2: $P < 0,001$) y por el momento del

cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento (Estudio 3: $P < 0,001$), observándose interacción entre la duración de la conservación y la temperatura de conservación (Estudio 1: $P = 0,005$).

En cambio, la duración de la incubación no se vio afectada por la temperatura de conservación ni por el tratamiento PRESI (Estudios 1 y 2: $P > 0,05$). Tampoco hubo interacción entre la duración de la conservación y el tratamiento PRESI (Estudio 2: $P > 0,05$) para la duración de la incubación.

4.1. Influencia de la duración del periodo de conservación

Los huevos almacenados durante menor tiempo (7 d) eclosionaron antes (Estudio 1: 23,04 d; Estudio 2: 23,29 d) que los huevos almacenados durante 42 d (Estudio 1: 23,39 d; Estudio 2: 24,17 d). Este aumento del periodo de incubación con la duración de la conservación concuerda con estudios previos con huevos de broiler y de pato (Tona *et al.*, 2003; Bagliacca *et al.*, 2005; Fasenko, 2007), que ya demostraron que periodos de conservación más largos dan lugar a incubaciones más largas. De nuevo, este fenómeno se debe a que las pérdidas de vapor de agua desde el interior del huevo que se producen durante la conservación contribuyen a la disminución de la tasa de supervivencia de las células originales y el nivel de sustitución por parte de las células nuevas, ralentizando el desarrollo del embrión y provocando incubaciones más largas (Elibol *et al.*, 2002; Ruiz y Lunam, 2002; Tona *et al.*, 2003).

4.2. Influencia del momento de cambio de la temperatura de incubación a la temperatura de nacimiento

En el Estudio 3 observamos que, en los lotes de huevos a los que se redujo la temperatura de incubación (37,8 °C) a la de nacimiento (37,5 °C) entre los días 18 y 21, se obtuvieron duraciones de incubación (23,49 d) conformes a la media descrita para la incubación artificial de huevos fértiles de perdiz roja (23,40–23,50 d; Lara y Arenzana, 1965; Flores, 1979; González-Redondo *et al.*, 2012). Teniendo en cuenta además que los huevos de perdiz roja deben ser volteados al menos hasta el día 20 de incubación (González-Redondo y De la Rosa Sánchez, 2009), podemos confirmar que son adecuadas las recomendaciones de las publicaciones divulgativas en cuanto a transferir los huevos el día 20 o 21 desde la

incubadora, a 37,8 °C y con volteo automático de huevos, a la nacedora, a 37,5 °C y sin volteo (Pérez y Pérez, 1981; Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003).

Los huevos que se mantuvieron 22 días a 37,8 °C eclosionaron antes (23,04 d), aunque coincidiendo con el valor modal encontrado por González-Redondo *et al.* (2012) para la duración de la incubación de *A. rufa*. Este resultado, desde el punto de vista cualitativo es consistente con los obtenidos en otros estudios con huevos de gallina y de pavo (Tazawa *et al.*, 1989; French, 1997), que demuestran que al disminuir la temperatura durante los últimos días de la incubación disminuye el metabolismo y el consumo de oxígeno por parte del embrión y, por tanto, se ralentiza su ritmo de desarrollo, dando lugar a periodos de incubación más largos (Romanoff, 1935, 1936; Michels *et al.*, 1974; Christensen *et al.*, 1996; French, 1997).

Por otro lado, estudios previos sobre la incubación artificial de huevos fértiles de perdiz roja demuestran que la eclosión puede comenzar el día 21,50 desde el comienzo de la incubación y terminar el día 26, y que el intervalo entre las primeras y últimas eclosiones del mismo lote de incubación puede llegar hasta 4 d, dependiendo de las condiciones de incubación (González-Redondo *et al.*, 2012). En cambio, en el Estudio 3, los huevos que se mantuvieron a la temperatura de incubación durante 22 d eclosionaron con una menor dispersión (dentro de un intervalo de 36 h) que los huevos de los otros tratamientos (intervalo de 51 h), y muy por debajo del intervalo medio ya descrito para esta especie en la literatura (4 d = 96 h). Esto podría tener implicaciones interesantes en el manejo de las granjas de perdiz roja, pues mejorar la sincronía de las eclosiones permitiría extraer todos los perdigones de la nacedora de una sola vez, tal y como se recomienda en la literatura para no alterar las condiciones de humedad y temperatura dentro de la nacedora con sucesivas aperturas para extraer perdigones (Saperas, 1992; Peña y Caballero, 1997) y, sobre todo, para lograr unas colas de extracción mínimas. Así, con una mayor sincronía de las eclosiones, los perdigones que nacen antes no tendrían que esperar mucho para su extracción, solo lo imprescindible para que se les seque el plumón (Cancho, 1991; González-Redondo *et al.*, 2012), y su riesgo de deshidratación se minimizaría. Por otro lado, al concentrarse las eclosiones, también se disminuiría el número de pollos que nacen más tarde y que normalmente deben ser manejados específicamente (Llauradó, 1987) ya que, al igual que en otras especies avícolas, son propensos a tener una menor viabilidad postnatal (MacLaury e Insko, 1968). Además, la sincronía de la eclosión puede ser una herramienta de manejo muy importante para asegurar la

viabilidad de la explotación, ya que ayudaría a conseguir lotes de perdigones más homogéneos y facilitar su manejo posterior durante el periodo de cría, recría y acabado.

Por todo lo anterior, y dado que las eclosiones pueden comenzar alrededor del día 22 de incubación, para mejorar la sincronía de las eclosiones se podría recomendar trasladar los huevos de *A. rufa* desde la incubadora (dispuesta a 37,8 °C, 55% HR y con volteo regular de huevos) a la nacedora (preparada a 37,8 °C, 80% HR y sin volteo de huevos) el día 21 de incubación, mantener en la nacedora la temperatura de 37,8 °C un día más, y reducirla a 37,5 °C el día 22 de incubación.

En cambio, la literatura divulgativa (Cancho, 1991; García Martín y Dalmau, 2003) mantiene que una temperatura alta durante los últimos días de incubación puede tener repercusiones negativas por deshidratación, provocando que nazcan perdigones pequeños (no fue nuestro caso) o débiles. Debemos pues ser prudentes y, dado que el objetivo final de las granjas cinegéticas de esta especie es producir perdices saludables y vigorosas para su suelta, no estamos en condiciones de hacer taxativamente ninguna recomendación de cambio de manejo, pues antes se deberían hacer estudios para investigar si el hecho de mantener la temperatura a 37,8°C hasta el día 22 de la incubación tendría algún efecto negativo sobre la posterior tasa de crecimiento y supervivencia de los perdigones. Estas cuestiones no se investigaron en la presente tesis doctoral pues la última variable medida en cada estudio fue el peso de los perdigones al nacimiento, que se discute a continuación.

5. Peso del perdigón al nacimiento

Los valores medios encontrados en nuestros estudios sobre peso del perdigón al nacimiento (13,95-14,27 g) coinciden con los valores medios descritos para *A. rufa* (Pérez y Pérez, 1981) y para *A. graeca* (Kırıkçı *et al.*, 2004) criados en cautividad.

No se encontró ninguna influencia de la duración de la conservación, temperatura de incubación, tratamiento PRESI o momento de cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento sobre el peso del perdigón al nacimiento ($P > 0,05$). Tampoco se encontró interacción entre ninguno de los factores para dicha variable.

En cambio, Ruiz y Lunam (2002) observaron en huevos de broiler que durante periodos de almacenamiento cortos (1-3 d), la temperatura de conservación (20, 16,5 o 10 °C) no afecta al peso del pollo al nacimiento, pero sí cuando los periodos de conservación son largos (9-11 d). En estos casos, el almacenamiento a 16,5 °C producía pollos de menor peso que el almacenamiento a 10 °C. Pero hay que tener en cuenta que, en su hábitat natural, *A. rufa* prefiere climas más secos y cálidos que otras especies avícolas (Flores, 1979; Pérez y Pérez, 1981; Aebischer y Lucio, 1997) y a veces comienza a incubar sus huevos unas tres semanas después de la puesta, e incluso hasta 5 o 6 (Coles, 1971). Nuestros resultados, por tanto, apuntarían de nuevo a una adaptación de la especie a periodos prolongados de conservación de los huevos incluso a temperaturas ambientales relativamente altas (15 °C) que, en consecuencia, se traducirían en que el perdigón recién eclosionado mantiene su peso promedio típico.

En otras especies avícolas, la duración de la conservación influye negativamente sobre la calidad del pollo y su ritmo de crecimiento (Becker, 1960; Tona *et al.*, 2003). Este efecto parece estar también relacionado con la deshidratación del huevo durante la conservación, y con el consecuente deterioro de la calidad interna del mismo, especialmente de la calidad del albumen (Hurnik *et al.*, 1978; Lapão *et al.*, 1999; Tona *et al.*, 2002), que afecta negativamente a la calidad del pollo (Deeming, 1989; Tona *et al.*, 2003). Por tanto, sería conveniente hacer más estudios sobre la influencia de la conservación (a diferentes temperaturas) y del tratamiento PRESI en la calidad de los perdigones y en su ritmo de desarrollo postnatal, ya que el objetivo final de la incubación de huevos fértiles de *A. rufa* es criar pollitos viables y prepararlos para su suelta posterior en fincas cinegéticas.

6. Implicaciones y líneas de investigación futuras

Como se ha puesto de manifiesto a lo largo de esta tesis doctoral, la conservación de los huevos previamente a su incubación y el propio proceso de incubación son dos facetas clave que condicionan la productividad numérica de las granjas cinegéticas de perdiz roja. Son, además, dos fases del proceso de producción de huevos incubables y de perdigones de un día que son influenciables y, por tanto, controlables o modificables, al menos

parcialmente, mediante la elección adecuada de los parámetros ambientales implicados en esos procesos y mediante el manejo de los mismos.

En este sentido, los resultados del Estudio 1 han confirmado algunas evidencias previas acerca de la posibilidad de conservar durante más tiempo los huevos de perdiz roja con una viabilidad elevada en comparación con lo descrito en la literatura para los de otras galliformes de interés zootécnico. Además, se ha demostrado que la durabilidad de los huevos de la especie es incluso mayor que la apuntada en dichas evidencias previas, alcanzando tasas de eclosión de los huevos fértiles del 74,5% después de un mes y medio de almacenamiento en condiciones adecuadas de temperatura (9-15 °C) y humedad (80%) de la cámara de conservación. Aunque para salvaguardar el máximo de viabilidad de los huevos es recomendable que, en la medida de lo posible, las granjas cinegéticas limiten al mínimo imprescindible la duración de los eventuales periodos de conservación de los huevos en espera de cargar un lote en la incubadora y que siempre que sea factible no se excedan los periodos de conservación aconsejados de 10-15 días, que dan tasas de eclosión medias que pueden superar el 85% de los huevos fértiles (González-Redondo, 2010). Los resultados de esta tesis doctoral suponen una contribución cualitativamente relevante a la tecnología de producción de las granjas cinegéticas al prestar soporte científico a la posibilidad de almacenar a medio-largo plazo los huevos de perdiz en caso de ser necesario por cuestiones de organización de la explotación o de logística comercial. En efecto, esta posibilidad beneficia principalmente a las granjas cinegéticas de pequeña dimensión, que mediante la conservación de los huevos a medio plazo pueden espaciar las cargas de la incubadora en los momentos de baja frecuencia de puesta de la estación reproductora, que son usualmente el principio y el final de la misma. Esto les permite, indirectamente, la optimización del régimen de uso de la incubadora, de las salas de cría de los perdigones de primera edad y de la ocupación de los parques de vuelo sin que se vean condicionadas por una escasa vida útil del huevo incubable que obligue a su incubación inmediata. Por otra parte, de dichos resultados se benefician también las explotaciones que comercializan huevos incubables, ya que les permite contar con un margen de maniobra derivado de una vida útil más prolongada durante la cual los huevos vendidos se mantendrán con la viabilidad elevada que demanda el cliente, bien durante el tiempo que deban permanecer almacenados en la explotación en espera de su venta, bien durante su expedición hasta el destino o bien durante la conservación o espera a la carga de la incubadora por parte del consumidor final. A esa larga vida preincubatoria del huevo de perdiz puesta de manifiesto en el presente trabajo ha contribuido, sin duda, la

aplicación de temperaturas bajas en el rango de 9 a 15 °C con humedad relativa elevada en la cámara de conservación, que detienen el desarrollo embrionario a la vez que se minimizan las pérdidas de humedad desde el interior del huevo. Con vistas a seguir explorando los límites de la conservación factible a largo plazo de los huevos de perdiz, muy demandada por los perdicultores dada la estacionalidad reproductiva y por tanto productiva de estas granjas cinegéticas, se apunta como posible línea de investigación indagar si la reducción de la temperatura de conservación por debajo de los 9 °C ya investigados en este trabajo permitiría, por una parte mejorar la tasa de eclosión de los huevos conservados durante mes y medio, hasta equipararla a la de los huevos almacenados durante periodos estándar de 10-15 días, y por otra parte, dirimir si se podría prolongar aún más por encima del mes y medio el periodo de conservación viable de los huevos de perdiz antes de su incubación artificial.

Los resultados del Estudio 2 sobre el efecto de la incubación previa a la conservación (tratamiento PRESI) de los huevos, realizada con la pretensión de explorar la posibilidad de extender a durabilidad de los huevos de perdiz roja más allá de lo que permite el mero manejo de la temperatura de conservación, han evidenciado la inoperancia de dicho tratamiento para los huevos de esta especie, al menos en las condiciones ensayadas. De hecho, el tratamiento PRESI previo a la conservación de los huevos es una operación poco habitual y no generalizada en el manejo del huevo incluso en la avicultura convencional. La ausencia de resultados positivos para mejorar la viabilidad de los huevos de *A. rufa* conservados a largo plazo mediante su tratamiento PRESI en las condiciones ensayadas en la presente tesis doctoral abre interrogantes que podrían sugerir la vía para futuras investigaciones orientadas a dirimir los mecanismos implicados en el tratamiento PRESI en huevos de la especie considerada. Así, una de las vías a indagar pasa por estudiar a nivel microscópico el estado en que queda el blastodisco como consecuencia del tratamiento PRESI, y si ese estado condiciona o no el ulterior desarrollo embrionario, ya que en el presente estudio no se analizó dicho efecto. Otra vía a explorar consistiría en ensayar el efecto de tratamientos PRESI con combinaciones de temperaturas y duraciones distintas de las experimentadas en el presente trabajo.

Por tanto, de la consideración conjunta de los resultados de los Estudios 1 y 2 podría afirmarse que es más previsible que la prolongación, aún más de lo ya revelado aquí, del periodo viable de conservación de los huevos de perdiz roja pueda lograrse explorando

combinaciones óptimas de temperatura y humedad a mantener en la cámara de conservación durante el almacenamiento de los huevos que sometiéndolos a tratamientos PRESI.

Por otra parte, en la introducción de la presente tesis doctoral se puso de manifiesto que la elección del régimen de temperaturas durante todo el proceso de incubación condiciona el desarrollo embrionario y la obtención de perdigones de un día vigorosos y con óptima viabilidad postnatal. El manejo del régimen de temperaturas durante la incubación se resuelve usualmente en las granjas cinegéticas eligiendo una temperatura de incubación determinada que se reduce ligeramente en su etapa final cuando los huevos están próximos a eclosionar, para compensar el calor extra provocado por el propio metabolismo del embrión. En la praxis habitual de las granjas cinegéticas, recogida en las publicaciones técnicas y divulgativas sobre incubación de huevos de perdiz roja, tanto las temperaturas propuestas para la incubación propiamente dicha como las utilizadas para la fase de eclosión de los huevos pueden diferir ligeramente entre las diversas fuentes bibliográficas y entre los diferentes fabricantes de las incubadoras y nacedoras. Así, la diferencia entre las temperaturas de incubación y las de nacimiento citadas en la literatura son incluso mayores que las ensayadas por nosotros en el Estudio 3. En este trabajo se optó por la combinación de 37,8 °C para la incubación propiamente dicha con una temperatura de 37,5 °C para la fase de nacimiento, elegidas en base a la experiencia previa acumulada en numerosas investigaciones realizadas con resultados positivos en el mismo Laboratorio de Incubación en el que se realizó esta tesis doctoral. Por tanto, al haber ensayado en la presente tesis doctoral el efecto del cambio entre un par de temperaturas concretas entre el día 18 y 22 de incubación, se abre la expectativa de investigar en el futuro los efectos del cambio de temperatura en los mismos periodos que los ensayados por nosotros pero eligiendo temperaturas para la fase de eclosión con mayor diferencia con la temperatura de incubación propiamente dicha que la indagada en esta tesis, habida cuenta de que algunas fuentes de la literatura describen diferencias de hasta un grado menos para la temperatura de nacimiento en comparación con la de la primera fase de la incubación y teniendo en cuenta siempre que las mismas fuentes reportan que se puede producir un adelanto o retraso de la duración de la incubación, respecto al valor medio normal en la especie, cuando la temperatura de incubación varía significativamente, y que puede afectar a la viabilidad del perdigón recién nacido. Además, explorar otras combinaciones de temperatura de incubación y temperatura de nacimiento distintas a las ensayadas aquí permitiría confirmar si es válido para otras condiciones de manejo el hallazgo más relevante de este estudio, que fue el de la elevada sincronía en la eclosión que se logró reduciendo

tardíamente, en el día 22 de incubación, la temperatura desde 37,8 a 37,5 °C, ya que es un efecto muy deseable y favorable porque permite a los perdicultores manejar y extraer agrupadamente de la incubadora los perdigones de un mismo lote de incubación.

CONCLUSIONES

Las conclusiones de esta tesis doctoral son:

En cuanto a la duración y la temperatura del periodo de conservación:

1. El almacenamiento de huevos fértiles de perdiz roja durante 42 d provoca un incremento de la mortalidad embrionaria, especialmente en la fase de aborto tardío, e incubaciones más largas que el almacenamiento durante 7 d.
2. Tras la conservación de los huevos de perdiz roja durante 42 d a temperaturas de 9, 12 y 15 °C y 80% HR se obtienen tasas de eclosión medias del 74,5% de los huevos fértiles, que pueden considerarse adecuadas pese a la notable extensión del periodo de almacenamiento.
3. Temperaturas de 9, 12 o 15 °C durante periodos de almacenamiento de 7 o 42 d no influyen sobre la tasa de eclosión de los huevos fértiles de perdiz roja, la duración de la incubación o el peso del perdigón al nacimiento. Tampoco se observa interacción entre la duración y la temperatura de conservación para estas variables.

En cuanto al tratamiento PRESI (incubación previa a la conservación):

4. Los tratamientos PRESI durante 6 o 12 h, a 37,8 °C y 55% HR, no mejoran la viabilidad de los huevos fértiles de perdiz roja conservados durante 7 o 42 días.
5. El tratamiento PRESI durante 12 h previo a un periodo de conservación de 42 d provoca en huevos fértiles de perdiz roja hasta un 100% de mortalidad embrionaria, mayoritariamente en la fase de desarrollo positivo.

En cuanto al momento del cambio de la temperatura de incubación a la de nacimiento:

6. La reducción de la temperatura de incubación (37,8 °C) a la de nacimiento (37,5 °C) entre los 18 y 22 d desde el comienzo de la incubación no influye sobre la pérdida de peso del huevo durante la incubación, la mortalidad embrionaria, o el peso del perdigón al nacimiento.

7. Cuando la temperatura de incubación se mantiene a 37,8 °C durante 22 d, se obtienen incubaciones más cortas y una mayor sincronía de las eclosiones que cuando la temperatura se reduce a 37,5 °C entre los días 18 y 21 de incubación.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Aebischer N.J. y A. Lucio, 1997. Red-legged partridge (*Alectoris rufa*). En: The EBBC Atlas of European Breeding Birds: Their Distribution and Abundance. W. J. M. Hagemeijer y M. J. Blair Ed., Poyser, London, Reino Unido, pp: 208–209.
- Almendro F., 1979. Cría industrial de la perdiz roja. Hojas Divulgadoras del Ministerio de Agricultura 11–12:1–24.
- Alonso, F.J., 1994. Vida y caza de la perdiz. Alianza Editorial, Madrid, España. 456 pp.
- Bagliacca M., B. Mori y L. Gualterio, 1988. Egg laying under artificial photo-regulation in the red partridge. En: Proc. 18^o World's Poultry Congress, Nagoya, Japón. Japan Poultry Science Association, pp: 657–659.
- Bagliacca M., G. Paci y M. Marzoni, 2005. Effect of egg weight categories, storage time and storage temperature on incubation length in duck eggs (*Cairina moschata* L. and *Anas platyrhynchos domestica* L.). J. Poult. Sci. 42:205–214.
- Barott H.G., 1937. Effects of temperature, humidity and other factors on hatch of eggs and on energy metabolism of chick embryos. U. S. Dep. Agric. Tech. Bull. 553.
- Bauer F., S.G. Tullet y H.R. Wilson, 1990. Effects of setting eggs small end up on hatchability and posthatching performance of broilers. Br. Poult. Sci. 31:715–24.
- Becker W.A., 1960. The storage of hatching eggs and the posthatching body weight of chickens. Poult. Sci. 39:588–590.
- Beer J. y G. Jenkinson, 1981. The storage of red-legged partridge eggs. A suggestion for trials. Game Conserv. Ann. Rev. 12:80–82.
- Bernabéu R.L., 2000. Evaluación económica de la caza en Castilla-La Mancha. Tesis doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM), Ciudad Real, España.
- Blanco-Aguilar, J.A., 2007. Variación espacial en la biología de la perdiz roja (*Alectoris rufa*): una aproximación multidisciplinar. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Blanco-Aguilar J.A., E. Virgós y R. Villafuerte, 2003. Perdiz Roja (*Alectoris rufa*). En: Atlas de las aves reproductoras de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza y Sociedad Española de Ornitología, Madrid, España, pp: 212–213.
- Brake J, T.J. Walsh, C.E. Benton, Jr., J.N. Petite, R. Meijerhof y G. Peñalva, 1997. Egg handling and storage. Poult. Sci. 76:144–151.

- Bugalho J., D. Pereira y J. Carvalho, 2008. O ordenamento e gestão de perdiz-vermelha (*Alectoris rufa* L.). Centro de Ecologia Aplicada 'Prof. Beata Neves' do Instituto Superior de Agronomia, v.I, Lisboa, Portugal. 7 pp.
- Çağlayan T., S. Alaşahan, K. Kırıkçı y A. Günlü, 2009. Effect of different egg storage periods on some egg quality characteristics and hatchability of partridges (*Alectoris graeca*). Poultry Sci. 88:1330–1333.
- Cancho M., 1991. Incubación. Equipo y técnicas de manejo. Control. En: La perdiz roja. Fundación La Caixa-AEDOS, Barcelona, España, pp: 21–27.
- Cancho M., 1992. Avances en las técnicas de incubación y de nacimiento. Manejo de huevos y de perdigones. En: La perdiz roja. Fundación La Caixa-AEDOS, Barcelona, España, pp: 15–18.
- Carrasco J., 1990. Gestión de granjas cinegéticas. En: Proc. I Jornadas Agrocinegéticas, Córdoba, España. ETSIAM_ Universidad de Córdoba, pp: 111–126.
- Casas F., 2008. Gestión agraria y cinegética: Efectos sobre la perdiz roja (*Alectoris rufa*) y aves esteparias protegidas. Tesis doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM) e Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC-CSIC), Albacete, España.
- Christensen V.L., 2001. Factors associated with early embryonic mortality. World's Poultry Sci. J. 57:359–372.
- Christensen V.L., W.E. Donaldson y K.E. Nestort, 1996. Interaction of genetics and temperature during the plateau stage of incubation affects the physiology and survival of turkeys. Poultry Sci. 75: 77–77.
- Christensen V.L., M.J. Wineland, G.M. Fasenko y W.E. Donaldson, 2002. Egg storage alters weight of supply and demand organs of broiler chicken embryos. Poultry Sci. 81:1738–1743.
- Coles C., 1971. The complete book of game conservation. Charles Coles Ed., London, Reino Unido. 394 pp.
- Cramp S. y K.E.L. Simmons, 1980. The Birds of the Western Palearctic. Vol. 2. Oxford University Press, New York, EE.UU. 695 pp.
- Decuypere E. y H. Michels, 1992. Incubation temperature as a management tool: a review. World's Poultry Sci. J 48: 28–38.
- Deeming D.C., 1989. Characteristic of unturned eggs: Critical period, retarded embryonic growth and poor albumen utilization. Br. Poultry Sci. 30:239–249.
- Del Hoyo J., A. Elliot y J. Sargatal, 1994. Handbook of the Birds of the World, Vol. 2. New World Vultures to Guinea-fowl. Ediciones Lynx, Barcelona, España. 638 pp.

- Elibol O., S.D. Peak y J. Brake, 2002. Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 81:945–950.
- Esponera P., 1960a. Ensayo para la cría de perdices en cautividad o de una manera industrial. *Caza y Pesca*, 205:14–16.
- Esponera P., 1960b. Ensayo para la cría de perdices en cautividad o de una manera industrial. *Caza y Pesca*, 206:87–89.
- Esponera P., 1960c. Ensayo para la cría de perdices en cautividad o de una manera industrial. *Caza y Pesca*, 207:171–172.
- Esponera P., 1960d. Ensayo para la cría de perdices en cautividad o de una manera industrial. *Caza y Pesca*, 208:245–247.
- Fasenko G.M., 2007. Egg storage and the embryo. *Poult. Sci.* 86:1020–1024.
- Fasenko G.M., F.E. Robinson, R.T Hardin y J.L. Wilson, 1992. Variability in preincubation embryonic development in domestic fowl. 2. Effects of duration of egg storage period. *Poult. Sci.* 71:2129–2132.
- Fasenko G.M., V.L. Christensen, M.J. Wineland y J.N. Petite, 2001a. Examining the effects of pre-storage incubation of turkey breeder eggs on embryonic development and hatchability of eggs stored for four or fourteen days. *Poult. Sci.* 80:132–138.
- Fasenko G.M., F.E. Robinson, A.I. Whelan, K.M. Kremeniuk y J.A. Walker, 2001b. Prestorage incubation of long-term stored broiler breeder eggs: a. Effects in hatchability. *Poult. Sci.* 80:1406–1411.
- Fasenko G.M., F.E. Robinson y V.L. Christensen, 2009. Effects of long term storage on the egg, embryo and chick. *Avian Biol. Res.* 2:73–79.
- Fernandes Barbosa A.C., 2009. Análise de parâmetros produtivos e reprodutivos da perdiz vermelha (*Alectoris rufa L.*) em cativoiro. Tesis de Máster. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.
- Flores A.J., 1979. Contribución al estudio de algunos caracteres étnicos de la perdiz roja española (*Alectoris rufa*) en cautividad. *Nuestra Cabaña* 76:48–53.
- French N.A., 1994. Effect of incubation temperature on the gross pathology of turkey embryos. *Br. Poult. Sci.* 35:363–371.
- French N.A., 1997. Modelling incubation temperature: The effects of incubator design, embryonic development, and egg size. *Poult. Sci.* 76:124–133.
- French N.A., 2000. Effect of short periods of high incubation temperatures on hatchability and incidence of embryo pathology of turkey eggs. *Br. Poult. Sci.* 41:377–382.

- Funk E.M. y J.E. Forward, 1960. Effect of holding temperature on hatchability of chicken eggs. Missouri AES Res. Bull. 732.
- García E., 2006. Instalaciones, equipo y manejo de la crianza de la perdiz roja. Ediciones Proavial, Arenys de Mar, Barcelona, España. 146 pp.
- García Martín E. y A. Dalmau, 2003. Reproducción de la perdiz roja y la codorniz. En: Reproducción e incubación en avicultura. Real Escuela de Avicultura, Arenys de Mar, Barcelona, España, pp: 457–495.
- Gaudioso V.R., M.E. Alonso, R. Robles, J.A. Garrido y J.A. Olmedo, 2002. Effects of housing type and breeding system on the reproductive capacity of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). Poultry Sci. 81:169–172.
- González-Redondo P., 1999. Marketing y comercialización de la producción en las granjas cinegéticas de perdiz roja. Selecciones Avícolas 41:494–508.
- González-Redondo P., 2004. Un caso de cambio en el manejo de los recursos cinegéticos: la historia de la cría en cautividad de la perdiz roja en España. Rev. Esp. Estud. Agrosoc. Pesq. 204:179–203.
- González-Redondo P., 2005. Evolución y situación actual de las granjas de perdiz roja. En: Desarrollo sostenible de los espacios cinegéticos y su entorno. Ceder Campiña Sur, Azuaya, Badajoz, España, pp: 11–23.
- González-Redondo P., 2006. Influence of the laying date on the fertility and hatchability of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. J. Appl. Poultry Res. 15:579–583.
- González-Redondo P., 2010. Effect of long-term storage on the hatchability of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. Poultry Sci. 89:379–383.
- González-Redondo P., M. Delgado y M. Reina, 2003. Caracterización de la puesta y su viabilidad en una granja cinegética de perdiz roja (*Alectoris rufa*). En: Proc. 2ª Jornadas Ibéricas de Razas Autóctonas y sus Productos Tradicionales: Ganadería Ecológica, Sevilla, España. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, pp: 182–183.
- González-Redondo P. y De la Rosa Sánchez S., 2009. Efecto de la duración de la fase de volteo de los huevos de perdiz roja (*Alectoris rufa*) durante la incubación sobre la tasa de eclosión. ITEA-Inf. Tec. Econ. Ag. 105:291–295.
- González-Redondo P., M. Delgado-Pertíñez, S. Toribio, F.A. Ruiz Y. Mena, F.P. Caravaca, y J.M. Castel, 2010. Characterisation and typification of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) game farms in Spain. Span. J. Agric. Res. 8:624–633.

- González-Redondo P., R. Gutiérrez-Escobar, R. Díaz-Merino, P. Panea-Tejera, y A.R. Martínez-Domínguez, 2012. Duración de la incubación artificial en perdiz roja (*Alectoris rufa*). ITEA-Inf. Tec. Econ. Ag. 108:289–297.
- Green R.E., 1984. Double nesting of the red-legged partridge *Alectoris rufa*. Ibis 126:332–346.
- Hurnik G.I., B.S. Reinhart y J.F. Hurnik, 1978. Relationship between albumen quality and hatchability in fresh and stored hatching eggs. Poult. Sci. 57:854–857.
- Imai C., A. Mowlah y J. Saito, 1986. Storage stability of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs of room temperature. Poult. Sci. 65:474–480.
- King'ori A.M., 2011. Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. Int. J. Poult. Sci. 10:483–492.
- Kırıkçı K., D.C. Deeming y A. Günlü, 2004. Effects of egg mass and percentage mass loss during incubation on hatchability of eggs of the rock partridge (*Alectoris graeca*). Br. Poult. Sci. 45:380–384.
- Kirk S., G.C. Emmans, R. McDonald y D. Arnot, 1980. Factors affecting the hatchability of eggs from broiler breeders. Br. Poult. Sci. 21:37–53.
- Kosin I.L., 1956. Studies on pre-incubation warming of chicken and turkey eggs. Poult. Sci. 35:1384–1392.
- Lara J. y O. Arenzana, 1965. La cría y cultivo de la perdiz roja. Experiencias realizadas en los Montes de Mora. Servicio Nacional de Pesca Fluvial y Caza, Ministerio de Agricultura, Madrid, España. 65 pp.
- Lapão C., L.T. Gama, y M. Chaveiro Soares, 1999. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. Poult. Sci. 78:640–645.
- Llauradó Ll., 1987. Incubación artificial de huevos de perdiz. Selecciones Avícolas 29:144–147.
- Lomholt J.P., 1977. The development of the oxygen permeability of the avian egg shell and its membranes during incubation. J. Exp. Zool. 198:177–184.
- Lotfi A., K. Hatefinejad, A.S. Abedi y H. Rasoolian, 2011. Impact of egg pre-storage incubation on embryo mortality and hatching efficiencies in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Int. J. Agr. Biol. 13:625–627.
- Lucio, A.J., 1991. Selección de hábitat de la perdiz roja (*Alectoris rufa*) en matorrales supramediterráneos del NW de la cuenca del Duero. Aplicaciones para la gestión del hábitat cinegético. Ecología 5:337–353.

- Lucio A.J., 1998. Recuperación y gestión de la perdiz roja en España. En: La perdiz roja. Fedenca, Madrid, España, pp: 63–92.
- Lucio, A. y F.J. Purroy, 1992. Red-legged Partridge (*Alectoris rufa*) habitat selection in northern Spain. *Gibier Faune Sauvage* 9:417–429.
- MacLaury D.W. y W.M. Insko, 1968. Relation of pre-incubation factors and post-hatching performance to length of incubation period: 2. Relation of length of incubation period to post-hatching performance. *Poult. Sci.* 47:330–336.
- Madroño, A., C. González y J.C. Atienza (Eds), 2004. Libro Rojo de las Aves de España. Dirección General para la Biodiversidad-SEO/BirdLife, Madrid, España, 451 pp.
- Martí, R. y J.C. Del Moral (Eds), 2003. Atlas de las Aves Reproductoras de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-Sociedad Española de Ornitología, Madrid, España, 733 pp.
- Martínez-Alesón R., 2003. Manejo de la sala de incubación. En: Reproducción e incubación en Avicultura. Real Escuela de Avicultura, Arenys de Mar, Barcelona, España, pp: 291–294.
- Meijerhof R., 1992. Pre-incubation holding of hatching eggs. *World's Poult. Sci. J.* 48:57–68.
- Michels H., R. Geers y S. Muambi, 1974. The effect of incubation temperature on pre- and post-hatching development in chickens. *Br. Poult. Sci.* 15:517–523.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014a. Anuarios de estadística forestal.
http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/estadisticas/forestal_anuarios_todos.aspx.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014b. El sector de la carne de aves en cifras. Principales indicadores económicos en 2012.
http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/INDICADORES_ECON%3%93MICOS_CARNE_DE_AVES_2012_tcm7-310603.pdf.
- Molleda V., 1998. Cría y manejo de la perdiz en cautividad. En: La perdiz roja. I curso. Fedenca, Madrid, España, pp: 107–115.
- Mori B., M. Bagliacca, M. Chiarcossi y I. Romboli, 1985. Performances riproduttive della pernice rossa allevata in Liguria. *Riv. Avic.* 54:27–32.
- Mourão J.L., Á.C. Barbosa, D. Outor-Monteiro y V.M. Pinheiro, 2010. Age affects the laying performance and egg hatchability of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) in captivity. *Poult. Sci.* 89:2494–2498.

- M.S.U., 2010. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station. Mississippi State University Extension Service.
<http://msucare.com/poultry/reproductions/hatchmgt.htm>.
- Mullarney K., L. Svensson, D. Zetterstrom y P.J. Grant, 2001. Guía de aves. La guía de campo de aves de España y de Europa más completa. Ediciones Omega S.A., Barcelona, España. 400 pp.
- Nahm K.H., 2001. Effects of storage length and weight loss during incubation on the hatchability of ostrich eggs (*Struthio camelus*). *Poult. Sci.* 80:1667–1670.
- New D.A.T., 1957. A critical period for the turning of hens' eggs. *J. Embryol. Exp. Morph.* 5:293–299.
- Olsen M.W. y S.K. Haynes, 1948. The effect of different holding temperatures on the hatchability of hen's eggs. *Poult. Sci.* 27:420–426.
- Paci G., M. Marzoni, N. Benvenuti y M. Bagliacca, 1992. Breeding technology of red-partridges: Colonies or couples. En: Proc. 19° World's Poultry Congress, Amsterdam, Países Bajos. World's Poult. Sci. Assoc., Netherlands Branch, pp. 351–352.
- Pagés A. y E. García, 1991. Enseñanzas y coloquios sobre la perdiz roja. *Selecciones Avícolas* 33:312–317.
- Peña J.C. y J.R. Caballero, 1997. La explotación cinegética de la perdiz. En: *Zootecnia. Bases de Producción Animal. Tomo XII: Producciones Cinegéticas, Avícolas y Otras*. Mundi-Prensa, Madrid, España, pp: 87–108.
- Pérez y Pérez F., 1981. La perdiz roja española. Científico-Médica, Barcelona, España. 500 p
- Petek M. y S. Dikmen, 2004. The effects of prestorage incubation of quail breeder eggs on hatchability and subsequent growth performance of progeny. *Anim. Res.* 53:527–534.
- Proudfoot F.G., 1969. Handling and storage of hatching eggs. En: *The Fertility and Hatchability of Hen's Egg*, Academic Press, London, Reino Unido, pp: 125–142.
- Reijrink I.A.M., R. Meijerhof, B. Kemp, E.A.M. Graat y H. Van den Brand, 2008. The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. *World's Poult. Sci. J.* 64:581–598.
- Reijrink I.A.M., R. Meijerhof, B. Kemp, E.A.M. Graat y H. Van den Brand, 2009. Influence of pre-storage incubation on embryonic development, hatchability and chick quality. *Poult. Sci.* 88:2649–2660.
- Reijrink I.A.M.; R. Meijerhof, B. Kemp. y H. Van den Brand, 2010. Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryonic development, hatchability, and chick quality. *Poult. Sci.* 89:2470–2483.

- Romanoff A.L., 1935. Influence of incubation temperature on the hatchability of eggs, post-natal growth and survival of turkeys. *J. Agric. Sci.* 25:318–325.
- Romanoff A.L., 1936. Effects of different temperatures in the incubator on the prenatal and postnatal development of the chick. *Poult. Sci.* 15:311–315.
- Romao J.M., T.G.V. Moraes, R.S.C. Teixeira, W.M. Cardoso y C.C. Buxade, 2008. Effect of egg storage length on hatchability and weight loss in incubation of egg and meat type Japanese quails. *Braz. J. Poult. Sci.* 10:143–147.
- Romijn C. y W. Lokhorst, 1955. Chemical heat regulation in the chick embryo. *Poult. Sci.* 34:649–654.
- Romijn C. y W. Lokhorst, 1956. The caloric equilibrium of the chicken embryo. *Poult. Sci.* 35:829–834.
- Ruiz J. y C.A. Lunam, 2002. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders. *Br. Poult. Sci.* 43:374–383.
- Sánchez García-Abad C., M.E. Alonso, R. Prieto, V. González y V.R. Gaudioso, 2009. Una visión sobre la avicultura para la producción de caza en España. *ITEA-Inf. Tec. Econ. Ag.* 105:169–183.
- Saperas J.M., 1992. Manejo del huevo de perdiz roja en instalaciones cinegéticas. *Mundo Ganadero* 11:76–78.
- Setién M., 1991. Producción cinegética: granjas de perdices. En: Manual de ordenación y gestión cinegética. IFEBA, Badajoz, España, pp: 133–152.
- Silos F., 1953. Repoblaciones cinegéticas en España. *Montes*, 50:143–153.
- Silva F.H.A., D.E. Faria, K.A.A. Torres, D.E. Faria Filho, A.A.D. Coelho y V.J.M. Savino, 2008. Influence of egg pre-storage heating period and storage length on incubation results. *Braz. J. Poult. Sci.*, 10:17–22.
- Tazawa H., A. Okuda, S. Nakazawa y G.C. Whittow, 1989, Metabolic responses of chicken embryos to graded, prolonged alterations in ambient temperature. *Comp. Biochem. Physiol.* 92A:613–617.
- Tilki M. y M. Saatci, 2004. Effects of storage time on external and internal characteristics in partridge (*Alectoris graeca*) eggs. *Rev. Med. Vet.* 155:561–564.
- Tona K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman y E. Decuyper, 2002. Effect of induced molting on albumen quality, hatchability, and chick body weight from broiler breeders. *Poult. Sci.* 81:327–332.

- Tona K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman, V.M.B. Moraes, J. Buyse, O. Onagbesan y E. Decuypere, 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.* 82:736–741.
- Torres A. y C. Garcés, 1995. La explotación de la perdiz. En: *Zootecnia. Bases de Producción Animal. Vol. 5: Avicultura clásica y complementaria.* Mundi-Prensa, Madrid, España, pp. 345–363
- Tullett S.G. y R.G. Board, 1976. Oxygen flux across the integument of the avian egg during incubation. *Br. Poult. Sci.* 17:441–450.
- Walsh T.J., R.E. Rizk y J. Brake, 1995. Effects of temperature and carbon dioxide on albumen characteristics, weight loss, and early embryonic mortality of long stored hatching eggs. *Poult. Sci.* 74:1403–1410.
- Wilson H.R., A.R. Eldred y C.J. Wilcox, 1997. Storage time and ostrich egg hatchability. *J. Appl. Poult. Res.* 6:216–220.
- Woodard A.E. y A. Morzenti, 1975. Effect of turning and age of egg on hatchability in the pheasant, chukar, and Japanese quail. *Poult. Sci.* 54:1708–1711.

COPIA COMPLETA DE LAS PUBLICACIONES

AUTORES, REVISTAS DE PUBLICACIÓN E ÍNDICES DE IMPACTO**Artículo 1. Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**Autores:

Paloma Gómez-de-Travededo Calvo, Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo

Adscripción de los autores:

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, España

Revista de publicación:

Poultry Science.

Índice de Impacto de 1,516

Posición 11/54 (primer cuartil y primer tercil) en la categoría “Agriculture, Dairy & Animal Science” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Estado:

Artículo publicado en febrero de 2014:

2014 Poultry Science 93: 747–754. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03329>.

Artículo 2. Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs on hatchability and incubation lengthAutores:

Paloma Gómez-de-Travededo Calvo, Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo

Adscripción de los autores:

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, España

Revista de publicación:

International Journal of Agriculture and Biology.

Índice de Impacto de 0,808

Posición 21/57 (segundo cuartil y segundo tercil) en la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Estado:

Artículo aceptado por la revista en octubre de 2013 para su publicación, actualmente en fase de galeradas corregidas.

Artículo 3. Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs

Autores:

Paloma Gómez-de-Travecedo Calvo, Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo

Adscripción de los autores:

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, España

Revista de publicación:

Spanish Journal of Agricultural Research.

Índice de Impacto de 0,659

Posición 28/57 (segundo cuartil y segundo tercil) en la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Estado:

Artículo en revisión en la revista, con la respuesta a la segunda ronda de revisiones enviada en marzo de 2014.

Artículo 1. Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs

Autores: Paloma Gómez-de-Travedo Calvo, Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, España

2014 Poultry Science 93: 747–754. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03329>.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue investigar, en huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*), el efecto de 7 y 42 d de almacenamiento a diferentes temperaturas (15, 12 y 9 °C) sobre la pérdida de peso del huevo, la tasa de eclosión, el peso del perdigón al nacimiento, la duración de la incubación y la fase de desarrollo en caso de mortalidad embrionaria. Un total de 420 huevos de perdiz roja se dispusieron en un diseño factorial 2×3 , con 2 niveles de duración de la conservación y 3 niveles de temperatura de conservación, lo que resultó en 6 tratamientos con 10 réplicas de 7 huevos cada uno. Encontramos que la duración de almacenamiento redujo significativamente la tasa de eclosión de los huevos fértiles ($P = 0,001$), y aumentó la mortalidad embrionaria tardía ($P = 0,001$). La temperatura de conservación no influyó en la mortalidad embrionaria en ninguna de las fases de desarrollo embrionario ($P > 0,05$). La pérdida de peso del huevo durante el almacenamiento aumentó con la duración de la conservación ($P < 0,001$), con la temperatura de conservación ($P < 0,001$) y con la interacción entre ambos factores ($P < 0,001$). El periodo de incubación se alargó con la duración del almacenamiento ($P < 0,001$) y no se vio influenciado por la temperatura del almacenamiento ($P > 0,05$). Sin embargo, en caso de 7 d de almacenamiento, la duración de la incubación tendió a disminuir con la temperatura de almacenamiento, y, para almacenamiento de 42 d, el periodo de incubación tendió a aumentar con la temperatura de almacenamiento ($P = 0,005$). Se puede concluir que, en este estudio, los huevos de perdiz roja se conservaron bien, con poco deterioro, hasta 42 d a 9, 12 y 15 °C y 80 % de humedad relativa, en contraste con la menor durabilidad de los huevos descritos en la literatura para otras especies de avícolas. En caso de 7 d de almacenamiento, la tasa de eclosión de los huevos fértiles de *A. rufa*, que superó a la de los conservados durante 42 d, tendió a ser mayor

cuando se almacenan a 15 °C, aunque sin diferencias significativas. Estos hallazgos son útiles para hacer frente a las demandas específicas de las granjas cinegéticas que requieren huevos fértiles para incubar con una vida útil lo suficientemente larga como para mantener una tasa de eclosión óptima hasta incubaciones posteriores. Además, debido a la marcada estacionalidad reproductiva de la perdiz roja, el almacenamiento a largo plazo de huevos para incubar podría permitir la distribución de los lotes de cría durante el año.

PRODUCTION, MODELING, AND EDUCATION

Effects of storage temperature and length of the storage period on hatchability and performance of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs

P. Gómez-de-Travecedo, F. P. Caravaca, and P. González-Redondo¹

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, Spain

ABSTRACT The aim of the present study was to investigate, in red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs, the effects of 7- and 42-d storage periods with different storage temperatures (15, 12, and 9°C) on egg weight loss, hatchability, chick weight at hatch, incubation length, and development stage at embryonic mortality. A total of 420 red-legged partridge eggs were arranged in a 2 × 3 factorial design with 2 levels of storage length and 3 levels of storage temperature, resulting in 6 treatments consisting of 10 replications of 7 eggs each. We found that the storage length significantly reduced hatchability of the fertile eggs ($P = 0.001$), increasing late embryonic mortality ($P = 0.001$). Storage temperature did not influence on the embryonic mortality at any stage ($P > 0.05$). Egg weight loss during storage increased with the storage length ($P < 0.001$), storage temperature ($P < 0.001$), and their interaction ($P < 0.001$). Incubation length increased with the storage length (P

< 0.001); however, it was not influenced by the storage temperature ($P > 0.05$). Nevertheless, incubation period decreased with the storage temperature for 7-d storage, and increased with the storage temperature for 42-d storage ($P = 0.005$). It can be concluded that in this study red-legged partridge eggs stored well with little deterioration up to 42 d at 9 and 12°C and 80% RH, in contrast to the lesser durability of eggs described in the literature for other poultry species. In case of 7-d storage periods, hatchability of *A. rufa* fertile eggs is higher when they are stored at 15°C. These findings are useful to address specific demands of game farms that require fertile eggs for hatching whose shelf-life should be long enough to maintain hatchability until further incubation. And, due to the marked reproductive seasonality of red-legged partridge, long-term storage of hatching eggs could permit the distribution of batches of chicks throughout the year.

Key words: red-legged partridge, *Alectoris rufa*, egg storage length, storage temperature, hatchability

2014 Poultry Science 93:747–754
<http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03329>

INTRODUCTION

To ensure availability of birds for hunting and provide birds for reestablishment purposes, the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) is raised in southwestern European countries, where it is endemic, and in other countries and areas where it has been successfully introduced such as the United Kingdom, Azores, Canary Islands, and Madeira (Coles, 1971; Aebischer and Lucio, 1997; González-Redondo, 2004). Complete-cycle farms coexist with others specialized only in rearing and preparing partridges for their release (González-Redondo et al., 2010). The latter specialized farms, as well as small complete-cycle farms that do not produce sufficient eggs to address specific demands of partridges, require fertile eggs for hatching whose shelf-life should be long enough to maintain hatchability until further incubation, being necessary to store these eggs

for a period of time. Another reason to store eggs for long periods derives from the fact that the red-legged partridge has a marked reproductive seasonality (Beer and Jenkinson, 1981). Thus, depending on the area's climate and latitude, egg-laying starts in late February and ends in July or early August (Torres and Garcés, 1995; Molleda, 1998; García Martín and Dalmau, 2003), lasting more than 14 wk (Gaudioso et al., 2002). At the beginning and at the end of the reproductive season, laying frequency is low (Pérez y Pérez, 1981; Bagliacca et al., 1988; González-Redondo et al., 2003; González-Redondo, 2006), whereas laying rate and hatchability peaks between 5 and 9 wk (Gaudioso et al., 2002). Under these conditions, long storage periods might be useful to permit subsequent incubation of the surplus eggs and to distribute the batches of chicks throughout the year. The long-term storage of the eggs may also be useful at the beginning and at the end of the laying season, when the time required to gather the eggs to fill the incubator and to rear a large enough batch of chicks is longer, especially in small farms, due to the low egg-laying rate.

©2014 Poultry Science Association Inc.

Received May 19, 2013.

Accepted November 10, 2013.

¹Corresponding author: pedro@us.es

Woodard and Morzenti (1975) state that long-term storage of chukar partridge (*Alectoris chukar*) eggs at 16°C and 70% RH up to 28 d before incubation has little effect on subsequent hatchability. Similarly, González-Redondo (2010) found no significant effect of storage time on hatchability of red-legged partridge (*A. rufa*) eggs stored at 15°C and 80% HR up to 28 d, although eggs stored in the same conditions for 35 d showed a significant decrease in hatchability. Furthermore, other studies with avian eggs show that the storage temperature affects the success of incubation, lower temperatures being more suitable for longer storage periods and vice versa (Brake et al., 1997). Specifically, optimum hatchability of hen (*Gallus gallus*) eggs after a storage period longer than 14 d was achieved when storage temperature was about 12°C (Olsen and Haynes, 1948; Funk and Forward, 1960), whereas 15°C was better for eggs stored for 8 d, and 18°C better for those stored for 2 d (Kirk et al., 1980). Nevertheless, there are no scientific studies in this regard with red-legged partridge eggs, although informative publications recommend maintaining *A. rufa* eggs at 20°C for eggs to be stored up to 3 d, at 13 to 16°C for eggs to be stored for 7 d, and at 11 to 12°C for eggs to be stored for periods longer than 7 d (Cancho, 1991). However, this information is not supported by experimental data. Therefore, the aim of the present study is to investigate the effect of 7- and 42-d storage periods with different storage temperatures (15, 12, and 9°C) on weight losses during the storage and incubation periods, length of the incubation period, hatchability, and embryonic mortality of red-legged partridge (*A. rufa*) eggs.

MATERIALS AND METHODS

Birds and Husbandry

This experiment was carried out using 420 hatching eggs from a red-legged partridge farm located in the province of Seville, Southern Spain. The breeding partridges were housed in pairs in outdoor cages measuring 50 × 65 cm. They were fed with commercial feed (20% CP and 3.3% Ca) and subjected to artificial lighting from December onward. Starting from December, the photoperiod was increased by a quarter of an hour every day until a complete photoperiod of 16 h of light (natural light + artificial light) was reached by January. Egg laying started in mid-January. All eggs were collected from partridges aged between 2 and 3 yr.

Experimental Design

The 420 eggs were arranged in a 2 × 3 factorial design with 2 levels of storage length (7 and 42 d) before incubation and 3 levels of storage temperature (9, 12, and 15°C), resulting in 6 treatments consisting of 10 replications of 7 eggs each. The 3 batches of eggs to be stored for 42 d (210 eggs) were collected on April 15, and the other 3 batches of eggs to be stored for 7

d (210 eggs) were collected on May 20. All eggs were laid within 3 d before the collection day and kept in the farm at standard conditions (15°C and 80% RH) until then, as this was the time required to gather 210 eggs in the cited farm, and 3-d gathering interval for each treatment does not influence the viability of *Alectoris* eggs (Cağlayan et al., 2009; González-Redondo, 2010). In all cases eggs were kept with the small end down at 80% RH in a storage chamber (Vinotek, Liebherr, Biberach an der Riss, Germany), being turned 45° once a day at regular intervals.

Egg Incubation

Following storage, the eggs were prewarmed before incubation by maintaining them in the room where the incubator was located during 12 h at 24°C and 43% RH. All the eggs were loaded into the incubator on the same date (May 28th). The incubator (Masalles HS25, Masalles, Ripollet, Spain) was set at 37.8°C and 55% RH, and the eggs were turned 45° every hour. On d 21 from the beginning of incubation, the eggs were transferred to a hatcher (Maino Incubators 2-630 XHM, Maino Enrico-Adriano S.n.c., Oltrona di San Mamette, Italy), which was set at 37.5°C and 80% RH, without turning of eggs.

Data Recorded

To determine egg weight losses, all eggs were weighed before storage, after storage, and after 21 d of incubation. For each individual egg, weight loss during storage was calculated as a percentage of egg weight at the beginning of storage period. Egg weight loss during the first 21 d of incubation was calculated as a percentage of egg weight at the beginning of incubation, and total egg weight loss was calculated as a percentage of egg weight loss between the beginning of the storage period and 21 d of incubation. To determine hatchability, the number of hatched chicks and unhatched eggs were recorded after the incubation period. Incubation length was measured, through hatching controls carried out every 12 h, as the difference between the hatching date (when the chick becomes out of the shell) and the date when the incubator was loaded. All chicks were weighed at hatch. Unhatched eggs were broken and examined macroscopically to determine fertility and, if fertile, they were assigned to the following categories: fertile without development, positive development, early embryonic mortality, late embryonic mortality, or pipped but not out of shell (Juárez-Caratachea and Ortiz, 2001; Ernst et al., 2004).

Statistical Analysis

Fertility, hatchability of incubated eggs, hatchability of fertile eggs, weight losses of fertile eggs, chick weight at hatch, incubation length, and embryonic mortality of fertile eggs, as dependent variables, were analyzed

LONG-TERM STORAGE TEMPERATURE OF PARTRIDGE EGGS

749

Table 1. Fertility and hatchability of red-legged partridge eggs according to the length of the egg storage period and storage temperature¹

Item	n ²	Fertility ³ (%)	Hatchability ⁴ (%)	Hatchability of the fertile eggs ⁵ (%)
Storage time (d)				
7	30	57.14	50.48	89.39 ^a
42	30	59.52	44.29	74.50 ^b
Storage temperature (°C)				
9	20	60.00	49.29	83.58
12	20	57.14	47.86	83.00
15	20	57.86	45.00	79.25
Storage time (d) × storage temperature (°C)				
7 × 9	10	61.43	52.86	86.83
7 × 12	10	55.71	50.00	90.00
7 × 15	10	54.29	48.57	91.33
42 × 9	10	58.57	45.71	80.33
42 × 12	10	58.57	45.71	76.00
42 × 15	10	61.43	41.43	67.17
SEM		1.90	1.97	2.34
<i>P</i> -value				
Storage time		0.545	0.126	0.001
Storage temperature		0.825	0.673	0.673
Interaction		0.580	0.945	0.252

^{a,b}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

¹Mean.

²Number of replications of 7 eggs each.

³Percentage of incubated eggs that were fertile.

⁴Percentage of incubated eggs that hatched.

⁵Percentage of fertile eggs that hatched.

using the univariate GLM procedure, with storage length and storage temperature before incubation as fixed effects. Interactions between the factors were also analyzed. When significant differences were found by the GLM, means were separated using Tukey's multiple range tests. All data are expressed as mean and SEM. For all comparisons, statistical significance was accepted when $P < 0.05$. The analyses were performed using SPSS v. 15.0 software (SPSS Inc., 2006).

RESULTS AND DISCUSSION

Fertility and Hatchability

The average fertility of the eggs recorded in this study (58.33%; Table 1) was lower than in previous reports on *A. rufa* under farming conditions (73.5 to 85.6%; Bagliacca et al., 1988; Paci et al., 1992; González-Redondo, 2006, 2010; Mourão et al., 2010). Differences in eggs fertility between this study and normal values recorded in the literature might be because, in this experiment, eggs were collected after the peak of the breeding season, when fertility of red-legged partridge decreases (Gaudioso et al., 2002; González-Redondo, 2006). Other conditions such as differences in the fertility selection in the breeding flocks, housing type, or kind of feed used (Hernando, 1990) could also influence of the low average fertility observed. However, no differences were found in fertility according to the storage length, storage temperature, or their interaction ($P > 0.05$), which indicates that eggs were randomly distributed among batches.

The average hatchability of the incubated eggs (47.39%; Table 1) was also below the range of values found in the literature (53.4 to 84.1%; Mori et al., 1985; Paci et al., 1992; González-Redondo et al., 2003; González-Redondo, 2006, 2010; Mourão et al., 2010). No differences were found in the hatchability of all incubated eggs according to the storage length, storage temperature, or their interaction ($P > 0.05$).

Hatchability of the fertile eggs (81.95%) was within the mean values found in literature for this species (72.6 to 91.6%; Bagliacca et al., 1988; Paci et al., 1992; González-Redondo, 2006, 2010). This means that storage and incubation conditions were adequate to the requirements of this species. No significant differences were found in hatchability of fertile eggs according to the storage temperature ($P > 0.05$). However, hatchability of fertile eggs was significantly higher for eggs stored for 7 d than for eggs stored for 42 d (89.39 and 74.50%, respectively). There was no interaction storage length × storage temperature on hatchability of fertile eggs ($P > 0.05$). These results agree with previous studies showing that, when storage period is lengthened, the internal quality of the fertile egg (yolk ratio, yolk index, albumen ratio, albumen index, and Haugh unit) progressively deteriorates (Tilki and Saatci, 2004; Çağlayan et al., 2009). With storage time, albumen pH increases, albumen height decreases (Lapão et al., 1999), and yolk sac membrane elasticity decreases (Jones and Musgrove, 2005), impairing embryo development and hatchability. Thus, prolonged storage of hatching partridge eggs interferes with their normal progress and hatchability decreases rapidly after 28 d of

storage (Woodard and Morzenti, 1975; Woodard, 1982; González-Redondo, 2010). Nevertheless, mean hatchability value found in our study for the eggs stored for 42 d was within values reported for this species (72.6 to 91.6%; Bagliacca et al., 1988; Paci et al., 1992; González-Redondo, 2006, 2010). This confirms previous studies demonstrating that *Alectoris* eggs can be held without decline in hatchability for longer periods than other poultry species eggs (Woodard and Morzenti, 1975; Wilson et al., 1997; Fassenko, 2007; Romao et al., 2008; González-Redondo, 2010). In particular, Woodard and Morzenti (1975) demonstrated that chukar partridge eggs can be stored for 28 d at 16°C and 70% RH without decline in hatchability, and González-Redondo (2010) observed the same results in red-legged partridge eggs stored for 28 d at 15°C and 80% RH. Nevertheless, González-Redondo (2010) proved a significant decline in hatchability of *A. rufa* eggs stored for 35 d at 15°C and 80% RH. In fact, we observed in our study that, in case of 42-d storage at 15°C the hatching rate of the fertile eggs (67.17%) was below the average reported for this species under farming conditions. However, hatchability of fertile eggs stored for 42 d at 12°C (76.00%) and at 9°C (80.33%) was within the mean values found in the literature for this species. This matches previous studies in poultry species showing that lower temperatures slow down the internal deterioration of the embryo, which makes them more suitable for longer storage periods (Olsen and Haynes, 1948; Funk and Forward, 1960; Brake et al., 1997). This also agrees with informative publications which recommend to maintain *A. rufa* eggs at 20°C for eggs to be stored up to 3 d, at 13 to 16°C for eggs to be stored for a week, and at 11 to 12°C for eggs to be stored for periods longer than 7 d (Cancho, 1991; García Martín and Dalmau, 2003).

Egg Weight and Egg Weight Losses

In this study, mean values of recently laid egg weight (19.63 g; Table 2) matched well with those described for *A. rufa* (Beer and Jenkinson, 1981; Pérez y Pérez, 1981; Mourão et al., 2010) and other species of the *Alectoris* genus (Kırıkçı et al., 2004; Tilki and Saatci, 2004; Çağlayan et al., 2009) under farming conditions. The effect of storage treatments on the percentage of fertile egg weight loss during storage was highly significant ($P < 0.001$). In fact, eggs stored for 42 d lost 3.04% of their initial weight, whereas those stored for 7 d lost only 0.63%. These variations of egg weight loss during storage, depending on the storage length, followed the pattern found by Tilki and Saatci (2004) for rock partridge (*Alectoris graeca*) eggs stored at 15 to 18°C and 70% RH during 7, 14, 21, 28, and 35 d; and by González-Redondo (2010) for red-legged partridge (*A. rufa*) eggs stored at 15°C and 80% RH during 7, 14, 21, 28, and 35 d. When storage period is lengthened, moisture losses from the egg increase, which contributes to the deterioration of the internal quality of

the fertile egg (Tilki and Saatci, 2004; Çağlayan et al., 2009). The fertile egg weight loss during storage was also influenced by previous storage temperature ($P < 0.001$). Eggs stored at 9 and 12°C lost 1.18 and 1.49%, respectively, of their initial weight, whereas losses in eggs stored at 15°C were significantly higher (2.82%). A highly significant interaction was also found between storage length and storage temperature on the fertile egg weight loss during storage. Eggs stored for 42 d at 15°C lost 4.60% of their initial weight, whereas eggs stored for 7 d at 9°C lost only 0.43% of their initial weight. Thus, as occurs in other poultry species, during storage the fertile eggs weight loss increased progressively both with temperature and length of storage (Walsh et al., 1995).

Average weight loss of the fertile eggs during the first 21 d of incubation amounted to 11.11% of the egg weight before incubation (Table 2). This value was slightly higher than the values found by González-Redondo (2010) for *A. rufa* eggs stored for periods varying between 0 and 35 d at 15°C, although it represented a lower weight loss than that found for *A. graeca* eggs by Kırıkçı et al. (2004). During the first 21 d of incubation, no significant differences among treatments were found in the fertile eggs weight loss ($P > 0.05$). However, total egg weight loss of the fertile eggs increased progressively for batches of eggs stored during longer periods ($P < 0.001$; 13.70% in 42-d and 11.75% in 7-d storage treatments). Total egg weight loss of the fertile eggs increased also progressively with storage temperature ($P < 0.001$; 12.06% at 9°C, 12.48% at 12°C, and 13.65% at 15°C). No interaction was found between storage length and storage temperature for total egg weight loss ($P = 0.205$). Total weight loss, highly potentiated in batches of eggs stored for long periods, was already observed for rock partridge by Kırıkçı et al. (2004) and for red-legged partridge by González-Redondo (2010). In these cases the egg weight loss, related to progressive deterioration of the internal quality of the egg, is responsible for the decreased in hatchability observed (González-Redondo, 2010).

Incubation Length

Mean value of incubation length in this study (23.22 d) was within those found in the literature for *A. rufa* under farming conditions (Flores, 1979; Torres and Garcés, 1995; García Martín and Dalmau, 2003; González-Redondo et al., 2012). Incubation length was highly influenced ($P < 0.001$) by the length of the storage period before incubation (Table 3). Eggs stored for 7 d had significantly shorter incubation periods (23.04 d) than eggs stored for 42 d (23.39 d). These results follow the pattern of previous studies in broiler and duck species (Tona et al., 2003; Bagliacca et al., 2005; Fassenko, 2007), in which longer storage periods prolonged incubation. Long-term egg storage influences embryo development and metabolism so that embryos grow at a slower rate than short-term stored eggs, and subse-

LONG-TERM STORAGE TEMPERATURE OF PARTRIDGE EGGS

751

Table 2. Egg weight losses during storage and incubation periods in red-legged partridge fertile eggs according to the egg storage temperature and the length of the storage period¹

Item	n ²	Egg weight before storage (g)	Egg weight loss during storage ³ (%)	Egg weight loss during incubation ⁴ (%)	Total egg weight loss ⁵ (%)
Storage time (d)					
7	30	19.43 ^b	0.63 ^b	11.20	11.75 ^b
42	30	19.82 ^a	3.04 ^a	11.01	13.70 ^a
Storage temperature (°C)					
9	20	19.49	1.18 ^b	11.01	12.06 ^b
12	20	19.79	1.49 ^b	11.15	12.48 ^b
15	20	19.60	2.82 ^a	11.16	13.05 ^a
Storage time (d) × storage temperature (°C)					
7 × 9	10	19.34	0.43 ^e	10.88	11.26
7 × 12	10	19.54	0.41 ^e	11.34	11.69
7 × 15	10	19.42	1.05 ^d	11.39	12.30
42 × 9	10	19.65	1.93 ^c	11.14	12.85
42 × 12	10	20.03	2.58 ^b	10.97	13.26
42 × 15	10	19.79	4.60 ^a	10.92	14.99
SEM		0.06	0.19	0.13	0.21
<i>P</i> -value					
Storage time		0.001	<0.001	0.473	<0.001
Storage temperature		0.112	<0.001	0.871	<0.001
Interaction		0.824	<0.001	0.486	0.205

^a Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

¹Mean.

²Number of replications of 7 eggs each.

³Values are expressed as a percentage of egg weight at the beginning of storage period.

⁴Values are expressed as a percentage of egg weight at the beginning of incubation.

⁵Values are expressed as a percentage of egg weight loss between the beginning of the storage period and 21 d of incubation.

quently produces longer incubation periods (Fasenko, 2007).

In our study, storage temperature did not influence on the incubation length ($P > 0.05$). However, a significant interaction was observed between storage length and storage temperature on incubation length ($P = 0.005$). Thus, eggs stored during 42 d at 15°C had lon-

ger incubation periods (23.49 d) than eggs stored for 42 d at 9°C (23.26 d), and eggs stored during 7 d at 15°C hatched earlier (22.93 d) than eggs stored for 7 d at 9°C (23.23 d). This interactive effect matches with the results of previous researches on embryo development in poultry and duck species in which, for shorter incubations, lower temperatures were always better for longer

Table 3. Chick weight at hatch and length of the incubation period in red-legged partridge according to the egg storage temperature and the length of the storage period¹

Item	n ²	Chick weight at hatch (g)	Incubation length (d)
Storage time (d)			
7	30	13.99	23.04 ^b
42	30	14.03	23.39 ^a
Storage temperature (°C)			
9	20	13.92	23.25
12	20	14.08	23.19
15	20	13.03	23.21
Storage time (d) × storage temperature (°C)			
7 × 9	10	13.79	23.23 ^{ab}
7 × 12	10	14.13	22.96 ^b
7 × 15	10	14.04	22.93 ^b
42 × 9	10	14.05	23.26 ^{ab}
42 × 12	10	14.02	23.41 ^a
42 × 15	10	14.02	23.49 ^a
SEM		0.07	0.04
<i>P</i> -value			
Storage time		0.773	<0.001
Storage temperature		0.692	0.784
Interaction		0.580	0.005

^{a,b}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

¹Mean.

²Number of replications of 7 eggs each.

Table 4. Effect of storage length and storage temperature on embryonic mortality of red-legged partridge eggs

Item	n ¹	Development stage at embryonic mortality ² (% of fertile eggs)					
		FND	PD	EEM	LEM	Pip	Total
Storage time (d)							
7	30	2.22 ^a	1.78	3.44	3.17 ^b	0.00	10.61 ^b
42	30	0.00 ^b	4.94	5.78	13.94 ^a	0.83	25.50 ^a
Storage temperature (°C)							
9	20	2.08	4.25	2.25	7.83	0.00	16.41
12	20	0.00	2.08	7.08	7.83	0.00	17.00
15	20	1.25	3.75	4.50	10.00	1.25	20.75
Storage time (d) × storage temperature (°C)							
7 × 9	10	4.17	2.00	0.00	7.00	0.00	13.17
7 × 12	10	0.00	1.67	8.33	0.00	0.00	10.00
7 × 15	10	2.50	1.67	2.00	2.50	0.00	8.67
42 × 9	10	0.00	6.50	4.50	8.67	0.00	19.67
42 × 12	10	0.00	2.50	5.83	15.67	0.00	24.00
42 × 15	10	0.00	5.83	7.00	17.50	2.50	32.83
SEM		0.64	1.07	1.29	1.68	0.41	2.34
<i>P</i> -value							
Storage time		0.084	0.151	0.370	0.001	0.322	0.001
Storage temperature		0.405	0.697	0.318	0.801	0.375	0.673
Interaction		0.405	0.749	0.421	0.118	0.375	0.252

^{a,b}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

¹Number of replications of 7 eggs each.

²FND: fertile, no development; PD: positive development; EEM: early embryonic mortality; LEM: late embryonic mortality; Pip: pipped but not out of shell.

storage periods, and higher temperatures were better for shorter storage (Mayes and Takballi, 1984; De Carville and De Croutte, 1985; Bagliacca et al., 2005).

Chick Weight at Hatch

In this study, the average chick weight at hatch was 14.01 g (Table 3). This value matched well with that described for *A. rufa* (Pérez y Pérez, 1981) and *A. graeca* (Kirikci et al., 2004) in captivity. Neither the storage length nor the storage temperature influenced chick weight at hatch ($P > 0.05$). No interaction between the 2 factors was observed on chick weight at hatch ($P > 0.05$). However, in previous researches on broiler eggs, chick weight at hatch tends to decline with long storage periods (Christensen et al., 2002; Elibol et al., 2002; Tona et al., 2003). Furthermore, Ruiz and Lunam (2002) found that for short storage (1 to 3 d) the storage temperature (20, 16.5, or 10°C) does not affect chick weight at hatch; however, for long storage period (9 to 11 d), storage at 16.5°C compared with 10°C reduced chick weight at hatch.

Embryonic Mortality

Storage length influenced significantly the rate of late embryonic mortality and, in consequence, on the total embryonic mortality ($P = 0.001$; Table 4). In the 7-d storage treatment, the percentage of late embryonic mortality was 3.17%, whereas it increased to 13.94% in the 42-d storage treatment. Mortality at other embryonic developmental stages was not affected by the stor-

age length ($P > 0.05$). Our results concur with previous studies (Ozbey and Esen, 2007) that found, in rock partridge fertile eggs stored for 14 d, more embryonic deaths in late periods than in early or medium periods versus eggs stored for 1 d, even though those differences were not significant.

However, neither the storage temperature nor the interaction of storage length and storage temperature influenced the total embryonic mortality or the embryonic mortality at each embryonic development stage studied ($P > 0.05$).

In conclusion, red-legged partridge (*A. rufa*) eggs store well with little deterioration up to 42 d at 9 and 12°C and 80% RH, in contrast to the lesser durability of eggs from other poultry species. However, hatchability is liable to decline rapidly and incubation period tends to increase if stored at 15°C during the same period and RH. On the other hand, for 7-d storage periods, increasing storage temperature increases hatchability and shortens incubation length of *A. rufa* eggs. Informative publications do not recommend maintaining *A. rufa* eggs more than 7 to 10 d (Pérez y Pérez, 1981; Cancho, 1991; Torres and Garcés, 1995; Mollada, 1998) to prevent unnecessary loss of hatchability. However, if longer storage periods were necessary for market or management reasons, it is feasible to store *A. rufa* eggs for longer periods obtaining an acceptable hatchability performance: up to 28 d at 15°C (González-Redondo, 2010) or up to 42-d storage periods at 9 or 12°C, according to the results of this study. These findings are highly relevant for the handling of *A. rufa* fertile eggs in game farms and for the marketing of long shelf life hatching eggs because they show that it is possible to

store *A. rufa* eggs for a long period while maintaining optimum hatchability rates.

Nevertheless, further research could be done to investigate whether, in addition to storage temperature, other factors like breeding flock degree of selection or pair age affect storage performance of red-legged partridge eggs.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was conducted as part of the PhD research project of Paloma Gómez-De-Travecedo at the University of Seville (Spain). It was partly funded by the Tecnología de la Producción Animal Research Group (code AGR-233) of the Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación (Junta de Andalucía, Spain).

REFERENCES

- Aebischer, N. J., and A. Lucio. 1997. Red-legged partridge (*Alectoris rufa*). Pages 208–209 in The EBBC Atlas of European Breeding Birds: Their Distribution and Abundance. E. J. M. Hagemeyer and M. J. Blair, ed. Poyser, London, UK.
- Bagliacca, M., B. Mori, and L. Gualterio. 1988. Egg laying under artificial photo-regulation in the red partridge. Pages 657–659 in Proc. 18th World's Poultry Congress, Nagoya, Japan. Japan Poultry Science Association, Nagoya, Japan.
- Bagliacca, M., G. Paci, and M. Marzoni. 2005. Effect of egg weight categories, storage time and storage temperature on incubation length in duck eggs (*Cairina moschata* L. and *Anas platyrhynchos domestica* L.). *J. Poultry Sci.* 42:205–214.
- Beer, J., and G. Jenkinson. 1981. The storage of red-legged partridge eggs. A suggestion for trials. *Game Conserv. Annu. Rev.* 12:80–82.
- Brake, J., T. J. Walsh, C. E. Benton Jr., J. N. Pettitte, R. Meijerhof, and G. Peñalva. 1997. Egg handling and storage. *Poult. Sci.* 76:144–151.
- Cağlayan, T., S. Alaşahan, K. Kırkeci, and A. Günlü. 2009. Effect of different egg storage periods on some egg quality characteristics and hatchability of partridges (*Alectoris graeca*). *Poult. Sci.* 88:1330–1333.
- Cancho, M. 1991. Incubación. Equipo y técnicas de manejo. Control. Pages 21–27 in La Perdiz Roja. Fundación La Caixa-AEDOS, Barcelona, Spain.
- Christensen, V. L., M. J. Wineland, G. M. Fasnko, and W. E. Donaldson. 2002. Egg storage alters weight of supply and demand organs of broiler chicken embryos. *Poult. Sci.* 81:1738–1743.
- Coles, C. 1971. The Complete Book of Game Conservation. Barrie & Jenkins Ltd., London, UK.
- De Carville, H., and A. De Crouette. 1985. Allevamento dell'anatra. Edagricole, Bologna, Italia.
- Elibol, O., S. D. Peak, and J. Brake. 2002. Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.* 81:945–950.
- Ernst, R. A., F. A. Bradley, U. K. Abbott, and R. M. Craig. 2004. Egg candling and breakout analysis. ANR Publication 8134. Accessed Mar. 2007. <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8134.pdf>.
- Fasnko, G. M. 2007. Egg storage and the embryo. *Poult. Sci.* 86:1020–1024.
- Flores, A. J. 1979. Contribución al estudio de algunos caracteres étnicos de la perdiz roja española (*Alectoris rufa*) en cautividad. *Nuestra Cabaña* 76:48–53.
- Funk, E. M., and J. E. Forward. 1960. Effect of holding temperature on hatchability of chicken eggs. University of Missouri. Agricultural Experiment Station. Research Bulletin 732, Columbia, MO.
- García Martín, E., and A. Dalmau. 2003. Reproducción de la perdiz roja y la codorniz. Pages 457–495 in Reproducción e incubación en avicultura. Real Escuela de Avicultura, Arenys de Mar, Spain.
- Gaudioso, V. R., M. E. Alonso, R. Robles, J. A. Garrido, and J. A. Olmedo. 2002. Effects of housing type and breeding system on the reproductive capacity of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). *Poult. Sci.* 81:169–172.
- González-Redondo, P. 2004. Un caso de cambio en el manejo de los recursos cinegéticos: La historia de la cría en cautividad de la perdiz roja en España. *Rev. Esp. Estud. Agrosoc. Pesq.* 204:179–203.
- González-Redondo, P. 2006. Influence of the laying date on the fertility and hatchability of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. *J. Appl. Poult. Res.* 15:579–583.
- González-Redondo, P. 2010. Effect of long-term storage on the hatchability of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. *Poult. Sci.* 89:379–383.
- González-Redondo, P., M. Delgado, and M. Reina. 2003. Caracterización de la puesta y su viabilidad en una granja cinegética de perdiz roja (*Alectoris rufa*). Pages 182–183 in Proc. 2nd Jornadas Ibéricas de Razas Autóctonas y sus Productos Tradicionales: Ganadería Ecológica. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, Sevilla, Spain.
- González-Redondo, P., M. Delgado-Pertiñez, S. Toribio, F. A. Ruiz, Y. Mena, F. P. Caravaca, and J. M. Castel. 2010. Characterisation and typification of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) game farms in Spain. *Span. J. Agric. Res.* 8:624–633.
- González-Redondo, P., R. Gutiérrez-Escobar, R. Díaz-Merino, P. Panca-Tejera, and A. R. Martínez-Domínguez. 2012. Duración de la incubación artificial en perdiz roja (*Alectoris rufa*). *ITEA-Inf. Tec. Econ. Ag.* 108:289–297.
- Hernando, A. A. 1990. Factores que influyen sobre el huevo incubable. *Selecciones Avícolas* 32:295–301.
- Jones, D. R., and M. T. Musgrove. 2005. Effects of extended storage on egg quality factors. *Poult. Sci.* 84:1774–1777.
- Juárez-Caratachca, A., and M. A. Ortiz. 2001. Estudio de la incubabilidad y crianza de aves criollas de traspatio. *Vet. Méx.* 32:27–32.
- Kirkeci, K., D. C. Deeming, and A. Günlü. 2004. Effects of egg mass and percentage mass loss during incubation on hatchability of eggs of the rock partridge. *Br. Poult. Sci.* 45:380–384.
- Kirk, S., G. C. Emmans, R. McDonald, and D. Arnot. 1980. Factors affecting the hatchability of eggs from broiler breeders. *Br. Poult. Sci.* 21:37–53.
- Lapão, C., L. T. Gama, and M. Chaveiro Soares. 1999. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. *Poult. Sci.* 78:640–645.
- Mayer, F. J., and M. A. Takeballi. 1984. Storage of the eggs of the fowl (*Gallus domesticus*) before incubation: A review. *World's Poult. Sci. J.* 40:131–140.
- Molleda, V. 1998. Cría y manejo de la perdiz en cautividad. Pages 107–115 in La perdiz roja. I curso. Fedenca, Madrid, Spain.
- Mori, B., M. Bagliacca, M. Chiarocci, and L. Romboli. 1985. Performances riproduttive della pernice rossa allevata in Liguria. *Riv. Avic.* 54:27–32.
- Mourão, J. L., Á. C. Barbosa, D. Outor-Monteiro, and V. M. Pinheiro. 2010. Age affects the laying performance and egg hatchability of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) in captivity. *Poult. Sci.* 89:2494–2498.
- Olsen, M. W., and S. K. Haynes. 1948. The effect of different holding temperatures on the hatchability of hen's eggs. *Poult. Sci.* 27:420–426.
- Ozbeç, O., and F. Esen. 2007. The effect of storage period on hatchability characteristics of rock partridges (*Alectoris graeca*). *J. Anim. Vet. Adv.* 6:466–469.
- Paci, G., M. Marzoni, N. Benvenuti, and M. Bagliacca. 1992. Breeding technology of red-partridges: Colonies or couples. Pages 351–352 in Proc. 19th World's Poult. Congr., Amsterdam, the Netherlands. World's Poult. Sci. Assoc., Netherlands Branch, Wageningen, the Netherlands.
- Pérez y Pérez, F. 1981. La perdiz roja española. Científico-Médica, Barcelona, Spain.
- Romao, J. M., T. G. V. Moraes, R. S. C. Teixeira, W. M. Cardoso, and C. C. Buxade. 2008. Effect of egg storage length on hatchability and weight loss in incubation of egg and meat type Japanese quails. *Braz. J. Poult. Sci.* 10:143–147.

- Ruiz, J., and C. A. Lunam. 2002. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders. *Br. Poult. Sci.* 43:374–383.
- SPSS Inc. 2006. Manual del Usuario de SPSS Base 15.0. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Tilki, M., and M. Saatci. 2004. Effects of storage time on external and internal characteristics in partridge (*Alectoris graeca*) eggs. *Rev. Med. Vet.* 155:561–564.
- Tona, K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman, V. M. B. Moraes, J. Buyse, O. Onagbesan, and E. Decuyper. 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.* 82:736–741.
- Torres, A., and C. Garcés. 1995. La explotación de la perdiz. Pages 345–363 in *Zootecnia. Bases de Producción Animal*. Vol. 5: Avicultura clásica y complementaria. Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Walsh, T. J., R. E. Rizk, and J. Brake. 1995. Effects of temperature and carbon dioxide on albumen characteristics, weight loss, and early embryonic mortality of long stored hatching eggs. *Poult. Sci.* 74:1403–1410.
- Wilson, H. R., A. R. Eldred, and C. J. Wilcox. 1997. Storage time and ostrich egg hatchability. *J. Appl. Poult. Res.* 6:216–220.
- Woodard, A. E. 1982. Raising chukar partridges. University of California. Publication 21321e. Accessed Feb. 2013. <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/21321e.pdf>.
- Woodard, A. E., and A. Morzenti. 1975. Effect of turning and age of egg on hatchability in the pheasant, chukar, and Japanese quail. *Poult. Sci.* 54:1708–1711.

Artículo 2. Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs on hatchability and incubation length

Autores: Paloma Gómez-de-Travedo Calvo, Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, España

Artículo aceptado por la revista en octubre de 2013 para su publicación, actualmente en fase de galeradas corregidas.

Resumen

Este es el primer estudio que investiga si la incubación previa al almacenamiento (tratamiento PRESI) mejora la tasa de eclosión de los huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*). Para ello se utilizaron 420 huevos de perdiz roja organizados en un diseño factorial 2 × 3, con 2 niveles de duración de la conservación (7 y 42 d) y 3 niveles de tratamiento PRESI (0, 6 y 12 h de incubación a 37,8 °C y 55% HR), lo que resultó en 6 tratamientos con 10 réplicas de 7 huevos cada uno. Para cada tratamiento se midieron las pérdidas de peso del huevo durante la conservación y durante la incubación, la tasa de eclosión, el peso del perdigón al nacimiento, la duración de la incubación y, en caso de muerte embrionaria, la fase de desarrollo en que tuvo lugar. Seis o 12 h de tratamiento PRESI no influyeron sobre la tasa de eclosión de los huevos fértiles almacenados durante 7 d, y 6 h de tratamiento PRESI no mejoraron la tasa de eclosión de los que se almacenaron durante 42 d. Sin embargo, 12 h de tratamiento PRESI deterioraron altamente la tasa de eclosión de los huevos conservados durante 42 d aumentando la mortalidad embrionaria en la fase de desarrollo positivo. Tanto la incubación previa a la conservación como la interacción PRESI × duración de la conservación aumentaron la pérdida del peso del huevo durante la conservación, aunque no influyeron sobre la duración de la incubación ni sobre el peso del perdigón al nacimiento. Por tanto, al contrario de lo que ocurre con otras especies avícolas, el tratamiento PRESI no disminuyó el efecto negativo de la duración de la conservación sobre la viabilidad de los huevos fértiles de *A. rufa*, e incluso lo agravó en el caso de 42 d de almacenamiento.

11/4/2014

Correo web Universidad de Sevilla :: Fw: Acceptance of your paper for IJAB (MS# IJAB-13-956)

Asunto **Fw: Acceptance of your paper for IJAB (MS# IJAB-13-956)**
Remitente Editorial Office Ijab <editorijab@yahoo.com>
Destinatario Pedro González Redondo <pedro@us.es>
Fecha 19/08/2013 07:24



MS NO: IJAB-13-956

MS Title: **Effects of Pre-storage Incubation of Red-Legged Partridge (*Alectoris rufa*) Eggs on Hatchability and Incubation Length.**

Accepted for: **International Journal of Agriculture and Biology**

I am pleased to inform you that your above referred paper has been finally accepted for publication by the Editorial Office. You are, therefore, advised to deposit US\$ 300.00 or an equivalent amount in Euro as the publication charges of your accepted paper through any of the following means:

A) To Prof. Dr. Zafar Iqbal through *Western Union*. Send copy of the transaction document indicating *Money Transfer Control Number* (10 digits), complete name and address of sender and reference number of the accepted paper for which publication charges have been paid at zafaruafi@gmail.com and editorijab@yahoo.com

B) To Friends Science Publishers through **International Bank Account Number (IBAN) PK 45 NBPA0549 002200 109324** National Bank of Pakistan, Agriculture University Branch, Faisalabad, Pakistan. Send copy of the transaction document indicating complete name and address of sender and reference number of the accepted paper for which publication charges have been paid at zafaruafi@gmail.com and editorijab@yahoo.com

Galley of your manuscript will be sent to you within 14 days after receiving the publication charges. After correction of the galley proof, final version of the paper can be downloaded (free of cost) from www.fspublishers.org as soon as an issue of the journal is uploaded on the website (normally, it takes 1-2 months). **Hard copies of reprints or journal issue will NOT be supplied.**

Congratulations again on acceptance of your manuscript.

IJAB Impact Factor (2012): 0.808

Regards,

Office Assistant
Editorial Office
International Journal of Agriculture and Biology
Journal of Agriculture and Social Sciences
Department of Parasitology,
University of Agriculture, Faisalabad-38040
PAKISTAN

https://buzonweb.us.es/correoweb/?_task=mail&_action=print&_uid=20903&_mbox=INBOX

1/2

INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY
 ISSN Print: 1560-8530; ISSN Online: 1814-9596
 13-956/201x/00-0-000-000
 http://www.fsublishers.org



Full Length Article

Effects of Pre-storage Incubation of Red-Legged Partridge (*Alectoris rufa*) Eggs on Hatchability and Incubation Length

Paloma Gómez-de-Travededo, Francisco P. Caravaca and Pedro González-redondo*

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, Spain

*For Correspondence: pedro@us.es; Tel.: +34 954486454. Fax: +34 954486436

Abstract

This is the first study to investigate whether pre-storage incubation (PRESI) of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs improves hatchability. To this aim, 420 red-legged partridge eggs were organized in a 2×3 factorial design consisting of two levels of storage length (storage for 7 and 42 d) and three levels of PRESI (incubation for 0, 6 and 12 h at 37.8°C and 55% RH), resulting in six treatments consisting of 10 replications of 7 eggs each. For each treatment, egg weight losses during conservation and incubation, hatchability, chick weight at hatch, incubation length, and developmental stage at embryonic mortality were measured. It was found that 6 or 12 h of PRESI did not influence on hatchability of the fertile eggs stored during 7 d, and 6 h of PRESI did not improve the hatching rate of 42-d stored fertile eggs. However, 12 h of PRESI highly deteriorated hatchability of 42-d stored fertile eggs, increasing embryo mortality at positive development stage. Pre-storage incubation and the interaction PRESI \times storage length increased egg weight loss during the storage period, though they did not influence either incubation length or chick weight at hatch. Thus, in contrast with other poultry species, PRESI does not offset the detrimental effect of the storage length on the hatchability and performance of *A. rufa* eggs, but even aggravates it in case of 42 d of storage. © 2013 Friends Science Publishers

Keywords: *Alectoris rufa*; Red-legged partridge; Pre-storage incubation; Long-term storage; Hatchability

Introduction

A common practice in small red-legged partridge (*Alectoris rufa*) game farms is to store eggs to gather the amount of eggs required to fill an incubator to obtain a large enough number of day-old chicks to be raised together (Beer and Jenkinson, 1981; González-Redondo, 2010). Given the reproductive seasonality of *A. rufa*, the frequency of egg laying is low at the beginning and at the end of its breeding season (Pérez y Pérez, 1981; Bagliacca *et al.*, 1988; González-Redondo, 2006). This feature could force to store eggs for long periods, exceeding the recommended time to keep eggs viability, which in *A. rufa* varies between 7 and 15 d (Beer and Jenkinson, 1981; Cancho, 1991). On the other hand, nowadays complete-cycle farms coexist with other specialized only in rearing and preparing partridges for their release (González-Redondo *et al.*, 2010). These specialized farms demand fertile eggs for hatching, as well as small farms which do not obtain the expected breeding results. In this regard, eggs' long-term storage might also be useful, since eggs must be stored on the farms on which they are produced until delivery of batches of hatching eggs. Eggs may also be stored for long periods while laying rate and hatchability of the eggs peaks in May and June (Flores, 1979; García-Martín and Dalmau, 2003). At this moment,

incubator space may be limited and surplus eggs are stored until incubator space is available. Thus, long storage periods might be useful to incubate the surplus eggs later on, and so distribute the batches of chicks and benefits along the year.

Previous studies show that storage periods up to 28 d, at 15-16°C and 70-80% RH, do not impair hatchability of *A. rufa* (González-Redondo, 2010) and *A. chukar* (Woodard and Morzenti, 1975) eggs. However, at least in *A. rufa* eggs, hatchability tends to decrease sharply when storage period is lengthened under the same storage conditions (35 d, at 15-16°C, 70-80% RH, and regular turning of eggs; González-Redondo, 2010). On the other hand, in the last decade several studies reported that 6 or 8 h of pre-storage incubation (PRESI) of broiler, turkey and quail eggs at the standard incubation temperature (37 – 37.8°C depending on the species) before prolonged storage periods (11-15 d) improves hatchability over than that of the eggs stored without the PRESI treatment (Fasenko *et al.*, 2001a, b; Petek and Dikmen, 2004; Reijrink *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2011). However, PRESI does not affect the hatching rate of broiler and turkey eggs in case of shorter storage periods (Fasenko *et al.*, 2001a, b; Reijrink *et al.*, 2009). Reijrink *et al.* (2008) suggested that PRESI treatment before long storage periods improves the developmental stage of the embryo, increasing the number of viable cells and this could

To cite this paper: Gómez-de-Travededo, P., F.P. Caravaca and P. González-redondo, 201x. Effects of pre-storage incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs on hatchability and incubation length. *Int. J. Agric. Biol.*, 00: 000-000

be the reason why these batches obtained higher hatching rates. However, the effect of PRESI of red-legged partridge (*A. rufa*) eggs has not yet been evaluated. On that basis, the objective of this research work was to investigate whether 6 or 12 h of incubation before very long-term storage (42 d) improves the hatchability of red-legged partridge eggs compared to the hatchability of eggs stored for a standard period of 7 d.

Materials and Methods

Breeders and Husbandry

This trial used 420 hatching eggs gathered from 2 and 3 years old red-legged partridges, bred on a game farm in Southern Spain (El Ronquillo, province of Seville). All eggs were laid within the three days before the collection day. Breeding pairs were housed outdoors, in 50×65 cm cages, and fed with a balanced commercial feed (20% CP, 3.3% Ca; Avipacsa A-78[®], Sanders, Dos Hermanas). Birds received natural light until December. The period of light was subsequently increased by a quarter of an hour per day until a maximum of 16 h per day (natural light + artificial light) was reached by January. Egg laying commenced in mid January.

Experimental Design

Data were organized in an experimental design consisting in 2 × 3 factorial model with two levels of storage length (7 and 42 d) before incubation and three levels of PRESI (0, 6 and 12 h). It resulted in six treatments consisting on 10 replications of 7 eggs each. As this species have a remarked reproductive seasonality (Pérez y Pérez, 1981; González-Redondo, 2006), sampling was carried out in the middle of the laying season, when fertility is higher than at its beginning and end. Batches of eggs to be stored for 42 d were collected on March 18th and those to be stored for 7 d were collected on April 22nd. Eggs to be pre-incubated were introduced (for 6, or 12 h) in the incubator (Masalles HS25[®], Masalles, Ripollet), set at 37.8°C and 55% RH. Thereafter, pre-incubated eggs were cooled down by maintaining them for 2 h at room temperature. Then, the pre-incubated eggs and the control eggs (0 h pre-incubation) were introduced at the same time in a storage chamber (Vinotek[®], Liebherr, Biberach an der Riss, Germany) where all eggs were located with the smallest end down. Storage conditions were 15°C, 80% RH, and 45° turning of eggs every 12 h. After storage, eggs were kept during 12 h at room temperature (24°C, 43% RH). Thereafter, all batches were introduced at the same time in the incubator (on April 30th). The incubator was set at 37.8°C, 55% RH, and eggs were turned 45° every hour. On day 21 from the beginning of the incubation the eggs were transferred to the hatcher (Maino Incubators 2-630 XHM[®], Maino Enrico-Adriano S.n.c., Oltrona di San Mamette, Italy), which was set at 37.5°C and 80% RH, without turning of eggs.

Data Recorded

In order to calculate eggs weight losses during storage and during incubation, eggs were individually weighed before storage (initial weight), at the end of the storage period, and on day 21 of incubation. For each egg, weight loss during the storage period was calculated as a percentage of its initial weight, and weight loss at day 21 of incubation was obtained as a percentage of its weight at the end of the storage period. Total egg weight loss (storage+incubation periods) was obtained for each single egg as a percentage of its initial weight. Starting from day 21 of incubation, hatching controls were carried out every 12 hours to determine incubation length, as the difference between the incubator loading and hatching date. At hatching, every chick was weighed. After the incubation period, to determine hatchability, hatched and unhatched eggs were counted, and unhatched eggs were opened to discern macroscopically infertility or embryonic mortality in the following categories: fertile without development (FND), positive development (PD), early abortion (EA), late abortion (LA), or pipped but not out of shell (P) (Juárez-Caratachea and Ortiz, 2001; Ernst *et al.*, 2004).

Statistical Methods

Fertility, weight losses of the fertile eggs during storage and during the first 21 d of the incubation period, chick weight at hatch, incubation length, as well as hatchability of the incubated eggs, hatchability of the fertile eggs, and embryonic mortality of the fertile eggs as dependent variables, were analyzed using the univariate general linear model (GLM) procedure with storage length and PRESI as fixed effects. Interactions between the factors were also analyzed. When significant differences were found by the GLM analysis, Tukey's multiple range tests were used to separate means. All data have been expressed as mean and SEM. For all comparisons, $P < 0.05$ was considered as a level indicating statistical significance. Analyses were carried out using SPSS v. 15.0 software (SPSS Inc., 2006).

Results

Fertility

In the present study, the average fertility of the total eggs set was 50.24%. No significant differences ($P > 0.05$) were observed in the fertility of the total eggs set according to the storage length or to the different PRESI treatments (Table 1).

Egg Weights and Egg Weight Losses

Table 2 shows mean values found for recently-laid eggs weight, percentage of fertile eggs weight loss during the storage period and during incubation, and overall percentage of egg weight loss as a function of PRESI treatment and storage length. Mean weight found for recently-laid eggs

Pre-storage Incubation of *Alectoris rufa* Eggs / *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 00, No. 0, 201x**Table 1:** Fertility and hatchability of red-legged partridge eggs, according to the length of the storage period and pre-storage incubation¹

Item	n ²	Fertility ³ (%)	Hatchability ⁴ (%)	Hatchability of the fertile eggs ⁵ (%)
Storage time (d)				
7	30	54.29	45.71 ^a	83.61 ^a
42	30	46.19	16.19 ^b	31.39 ^b
Pre-storage incubation (h)				
0	20	54.29	33.57	62.75 ^a
6	20	52.86	34.29	63.50 ^a
12	20	43.57	25.00	46.25 ^b
Storage time (d) × pre-storage incubation (h)				
7-0	10	50.00 ^{ab}	38.57 ^{abc}	75.00 ^a
7-6	10	58.57 ^a	48.57 ^{ab}	83.33 ^a
7-12	10	54.29 ^{ab}	50.00 ^a	92.50 ^a
42-0	10	58.57 ^a	28.57 ^{bc}	50.50 ^b
42-6	10	47.14 ^{ab}	20.00 ^{cd}	43.66 ^b
42-12	10	32.86 ^b	0.00 ^d	0.00 ^c
SEM		2.46	3.00	4.53
<i>P-value</i>				
Storage time		0.081	< 0.001	< 0.001
Pre-storage incubation		0.123	0.133	0.002
Interaction		0.030	0.001	< 0.001

¹Mean²Number of replications of 7 eggs each³Percentage of incubated eggs that were fertile⁴Percentage of incubated eggs that hatched⁵Percentage of fertile eggs that hatched^{a-b}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)**Table 2:** Eggs' weight losses during storage and incubation periods in red-legged partridge fertile eggs according to the length of the storage period and pre-storage incubation¹

Item	n ²	Egg weight before storage (g)	Egg weight loss during storage ³ (%)	Egg weight loss after 21 d of incubation ⁴ (%)	Total egg weight loss ⁵ (%)
Storage time (d)					
7	30	19.68	1.39 ^b	10.72	12.11 ^b
42	30	19.91	2.70 ^a	10.41	13.11 ^a
Pre-storage incubation (h)					
0	20	19.92	2.01 ^b	10.56	12.57
6	20	19.69	1.87 ^b	10.30	12.17
12	20	19.78	2.25 ^a	10.84	13.09
Storage time (d) × pre-storage incubation (h)					
7-0	10	20.18	1.16 ^c	10.51	11.69
7-6	10	19.54	1.30 ^c	10.27	11.52
7-12	10	20.01	1.81 ^b	11.39	13.12
42-0	10	19.65	2.84 ^a	10.61	13.45
42-6	10	19.84	2.48 ^a	10.33	12.82
42-12	10	19.55	2.77 ^a	10.29	13.06
SEM		0.11	0.10	0.14	0.19
<i>P-value</i>					
Storage time		0.296	< 0.001	0.271	0.004
Pre-storage incubation		0.705	0.001	0.294	0.084
Interaction		0.235	0.005	0.145	0.074

¹Mean²Number of replications of 7 eggs each³Values are expressed as a percentage of egg weight at the beginning of storage period⁴Values are expressed as a percentage of egg weight at the beginning of incubation⁵Values are expressed as a percentage of egg weight loss between the beginning of the storage period and 21 d of incubation^{a-c}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

was 19.80 g. No differences ($P > 0.05$) were observed, between batches, in the initial weight of the fertile eggs.

Mean value found for the percentage of fertile eggs weight loss during storage was 2.05%. This variable was highly influenced by the storage length ($P < 0.001$) and by the PRESI treatment ($P = 0.001$). Thus, 7-d stored eggs lost

1.39% of their initial weight during storage, while those stored for 42 d lost 2.70% of their initial weight, and 0 and 6-h PRESI batches lost 1.94% of their initial weight during storage, while 12-h PRESI batches lost 2.70% of their initial weight. We found very significant PRESI × storage length interaction for percentage of fertile eggs weight loss during

storage ($P = 0.005$). So, in case of 7-d storage period, eggs pre-incubated for 12 h showed a higher percentage of weight loss during storage (1.81% of its initial weight) than eggs with 0 or 6 h of PRESI (1.23%). In contrast, within the 42-d storage batches, no significant difference was observed among 0, 6, and 12 h of PRESI.

During the first 21 d of incubation, we found no significant differences in the percentage of fertile eggs weight loss ($P > 0.05$) according to the storage time or PRESI. No interaction ($P > 0.05$) was observed between the two factors for the percentage of fertile eggs weight loss during the first 21 d of incubation.

Influenced by the egg weight loss during storage, we found very significant differences in the percentage of fertile eggs total weight loss according to the length of the storage period ($P = 0.004$). Thus, total egg weight losses were 13.11% for eggs stored during 42 d and 12.11% for eggs stored during 7 d. However, we have not found any differences in the total egg weight loss according to the PRESI, and no interaction PRESI \times storage length was observed for it.

Chick Weight at Hatch

Mean value found in this study for chick weight at hatch was 13.95 g. We found no influence of the storage length and the PRESI treatment on the chick weight at hatch ($P > 0.05$, Table 3). In addition no interaction between the two factors was observed for this variable.

Incubation Length

Incubation length was highly influenced ($P < 0.001$) by storage length, but not by PRESI (Table 3). Eggs stored for 7 d took 23.29 d to hatch. By contrast, 42-d stored eggs achieved a highly significant increase in incubation length (24.17 d). No difference was found on the incubation length according to the PRESI, and no interaction PRESI \times storage length was observed for this variable.

Hatchability

The average hatchability of the total eggs set found in this study was 30.95% (Table 1), highly influenced by the storage treatment ($P < 0.001$). So, hatchability of 42-d stored eggs was significantly lower (16.19%) than for 7-d stored eggs (45.71%). The PRESI treatment did not influence on the hatching rate ($P > 0.05$). However, we observed interaction ($P = 0.001$) between storage length and the PRESI treatment for hatchability of the total eggs set. Thus, in case of 42-d storage period, total hatchability decreased with increasing length of PRESI treatment (Table 1), though total hatchability was not affected by the PRESI treatment in case of 7-d storage period.

The average hatchability of the fertile eggs recorded in this research was 57.5%. Highly significant differences were found on this variable according to the storage length

($P < 0.001$). So, hatchability of the 7-d stored batches was 83.61%, while hatchability of 42 d-stored batches was much lower (31.39%). The PRESI treatment influenced significantly on hatchability of fertile eggs ($P < 0.010$). Thus, hatchability of 12-h PRESI treatments (46.25%) was lower than that from 0 and 6-h PRESI treatments (62.75 and 63.50%, respectively). Interaction PRESI \times storage length ($P < 0.001$) was also found for hatchability of fertile eggs. All batches of 7-d stored fertile eggs (0, 6 and 12 h of PRESI) showed higher hatchability than those stored for 42 d and submitted to treatments consisting of 0 and 6 h of PRESI, and these showed higher hatchability than the batch stored for 42 d with 12 h of PRESI.

Embryonic Mortality

Table 4 shows the embryonic mortality rates of the fertile eggs, divided into five groups depending on the embryonic development at death, according to the treatments. Storage length significantly increased the total embryonic mortality ($P < 0.001$), the rate of embryo mortality at positive development stage ($P < 0.001$), the rate of early abortions ($P = 0.001$) and the rate of late abortions ($P = 0.001$). Thus, the total embryonic mortality amounted to 15.56% for the 7-d storage treatment and 68.61% for the 42-d storage treatment.

Pre-storage incubation during 12 h increased significantly the total embryonic mortality ($P = 0.005$), particularly at the positive development stage ($P < 0.001$). Interaction between storage length and PRESI was found for the total embryonic mortality ($P < 0.001$) and for the mortality at positive development stage ($P < 0.001$). Thus, the total embryonic mortality increased up to 100% in the 12-h PRESI \times 42-d storage treatment, while no difference was found among the embryonic mortality of the 7-d storage batches with different PRESI treatments. Embryonic mortality at the positive development stage increased significantly to 54.17% in the 12-h PRESI \times 42-d storage treatment, and no significant differences were found among the other treatments, whose mortality at the positive development stage was 2.9%.

Discussion

Fertility

Mean fertility achieved in this research (50.24%) was lower than the mean values reported by previous researches on *A. rufa* eggs (values ranging from 73.5% to 85.6%; Bagliacca *et al.*, 1988; Paci *et al.*, 1992; González-Redondo, 2006, 2010). The low fertility observed was not due to seasonal factors because the eggs used in this study were gathered in the middle of the reproductive season: half of the batches were collected in mid March and the other half in late April, when laying rate and fertility of red-legged partridge peaks (Flores, 1979; García-Martín and Dalmau, 2003).

Pre-storage Incubation of *Alectoris rufa* Eggs / *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 00, No. 0, 201x**Table 3:** Chick weight at hatch and length of the incubation period in red-legged partridge according to the length of the storage period and pre-storage incubation¹

Item	n ²	Chick weight at hatch (g)	Incubation length (days)
Storage time (d)			
7	30	14.05	23.29 ^b
42	30	13.84	24.17 ^a
Pre-storage incubation (h)			
0	20	14.15	23.85
6	20	13.85	23.63
12	20	13.82	23.26
Storage time (d) × pre-storage incubation (h)			
7-0	10	14.23	23.44
7-6	10	14.09	23.18
7-12	10	13.82	23.26
42-0	10	14.08	24.27
42-6	10	13.61	24.08
42-12	10	-	-
SEM		0.11	0.09
<i>P</i> -value			
Storage time		0.225	< 0.001
Pre-storage incubation		0.289	0.382
Interaction		0.528	0.814

¹Mean²Number of replications of 7 eggs each^{a-c}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)**Table 4:** Effect of storage length and pre-storage incubation on embryonic mortality of red-legged partridge eggs

Item	n ²	Embryonic mortality ¹ (% of the fertile eggs)					Total
		FND	PD	EA	LA	P	
Storage time (d)							
7	30	0.83	1.67 ^b	0.83 ^b	11.67 ^b	0.56	15.56 ^b
42	30	1.11	21.22 ^a	12.44 ^a	33.83 ^a	0.00	68.61 ^a
Pre-storage incubation (h)							
0	20	0.00	3.50 ^b	6.17	27.58	0.00	37.25 ^b
6	20	1.25	3.35 ^b	7.08	23.58	0.83	36.50 ^b
12	20	1.67	27.08 ^a	6.67	17.08	0.00	52.50 ^a
Storage time (d) × pre-storage incubation (h)							
7-0	10	0.00	2.50 ^b	0.00	22.50	0.00	25.00 ^c
7-6	10	2.50	2.50 ^b	2.50	7.50	1.67	16.67 ^c
7-12	10	0.00	0.00 ^b	0.00	5.00	0.00	5.00 ^c
42-0	10	0.00	4.50 ^a	12.33	32.67	0.00	49.50 ^b
42-6	10	0.00	5.00 ^b	11.67	39.67	0.00	56.33 ^b
42-12	10	3.33	54.17 ^a	13.33	29.17	0.00	100.00 ^a
SEM		0.69	3.20	1.80	3.50	0.28	4.58
<i>P</i> -value							
Storage time		0.842	< 0.001	0.001	0.001	0.322	< 0.001
Pre-storage incubation		0.597	< 0.001	0.976	0.413	0.375	0.005
Interaction		0.237	< 0.001	0.874	0.377	0.375	< 0.001

¹FND: fertile, no development; PD: positive development; EA: early abortion; LA: late abortion; P: Pipped but not out of shell²Number of replications of 7 eggs each^{a-c}Values in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

Moreover, the breeding partridges had a similar age (2-3 years), characterized by the maximum fertility (Mourão *et al.*, 2010). So, the difference between eggs' fertility mean value obtained in this research and the mean values found in the literature could be due to other farming conditions such as differences in the breeding flocks, housing type or kind of feed used.

Egg Weights and Egg Weight Losses

Mean weight found for recently-laid eggs (19.80 g) in this

study was similar to that reported for partridges of the *A. rufa* species (Beer and Jenkinson, 1981; Pérez y Pérez, 1981; González-Redondo, 2010; Mourão *et al.*, 2010) as well as for other *Alectoris* species (Kırıkçı *et al.*, 2004; Tilki and Saatci, 2004; Çağlayan *et al.*, 2009) under farming conditions.

We found that both storage length and PRESI increased significantly ($P < 0.001$ and $P = 0.001$, respectively) percentage of weight loss in eggs during the storage period. This is consistent with previous research on quail (Imai *et al.*, 1986), broiler breeder (Fasenko *et al.*,

2001b; Reijrink *et al.*, 2010) and partridge (Tilki and Saatci, 2004; González-Redondo, 2010) eggs which state that that both storage and PRESI favor the conditions for loss of water vapor from the eggs. So, as storage or PRESI is lengthened, water loss and, therefore, eggs weight loss during storage increases. As a result, the increase in the egg weight loss that occurs during storage progressively deteriorates the internal quality of the eggs (Tilki and Saatci, 2004; Çağlayan *et al.*, 2009) impairing the hatching rate. In concordance with previous studies on broiler breeder eggs (Fasenko *et al.*, 2001b), we found PRESI \times storage length interaction for percentage of eggs weight loss during the storage period ($P = 0.005$). As can be expected, this variable increased linearly with storage and PRESI length. Fasenko *et al.* (2001b) already showed that the reason behind this is that longer PRESI and storage treatments lead to conditions favoring loss of water vapor from the eggs.

The lack of differences among treatments in the percentage of fertile eggs weight loss at 21 d of incubation, agrees with the fact that, after storage, all batches were incubated together in the same incubator under the same conditions. This pattern matches the results of other studies for broiler eggs (Fasenko *et al.*, 2001b; Silva *et al.*, 2008; Reijrink *et al.*, 2009).

The total percentage of fertile eggs weight loss was highly influenced by the storage length, but not by the PRESI treatment, probably because the great influence of storage on shells permeability and total water loss masks that of the PRESI treatment. The absence of interaction PRESI \times storage length found in this study for the total eggs weight loss concurs with previous results in broiler breeder eggs (Fasenko *et al.*, 2001b; Reijrink *et al.*, 2009, 2010).

Chick Weight at Hatch

Mean chick weight at hatch (13.95 g) found in this study matched with mean values recorded for *A. rufa* (Pérez y Pérez, 1981) and *A. graeca* (Kurikçi *et al.*, 2004) in captivity. The lack of influence of storage length and PRESI treatments on chick weight at hatch we have found concurs with previous studies in broiler breeder eggs which found that day-old chick weights are positively correlated with the egg weights at setting, irrespective of the storage time (Tona *et al.*, 2003). However it is well known that egg storage length shows strong influence on chick quality, hence on its relative growth (Becker, 1960; Tona *et al.*, 2003). These effects of storage may be explained by the deterioration of the egg internal quality, especially albumen height during storage (Humik *et al.*, 1978; Lapão *et al.*, 1999; Tona *et al.*, 2002), which influences on the potential performance of day-old chick that is dependent on the quality of the albumen in the incubating egg at this stage (Deeming, 1989; Tona *et al.*, 2003). So, further studies are needed to establish the effect of storage and PRESI treatments on the embryo development and growth performance of *A. rufa* chicks.

Incubation Length

Mean incubation length found in our study for eggs stored for 7 d (23.29 d) was within the mean values found in literature for the species studied under farming conditions (Flores, 1979; Torres and Garcés, 1995; González-Redondo *et al.*, 2012). The increase we found in incubation length with the storage length (24.17 d of incubation for 42-d storage period) is in agreement with previous studies in broiler showing that longer storage periods lead to longer incubations as a result from the deterioration of internal egg quality which impairs embryo performance and development (Elibol *et al.*, 2002; Ruiz and Lunam, 2002; Tona *et al.*, 2003).

Hatchability and Embryonic Mortality

Due to the low fertility registered, the average hatchability of the total eggs set (30.95%) was below the values found for *A. rufa* eggs (ranging from 53.4% to 84.1%; Mori *et al.*, 1985; Paci *et al.*, 1992; González-Redondo, 2006, 2010).

Mean value found for hatchability of the fertile eggs (57.5%) was also below the values described for this species in the literature (ranging from 72.6% to 91.6%; Bagliacca *et al.*, 1988; Paci *et al.*, 1992; González-Redondo, 2006, 2010), due, basically, to the high difference found between hatchability of 7-d and 42-d stored eggs (83.61 and 31.39%, respectively). Thus, in agreement with results reported by other researchers in several poultry species, we found that embryo mortality during incubation increased significantly with the storage length (Proudfoot, 1969; Meijerhof, 1992; Christensen, 2001; Fasenko *et al.*, 2002; González-Redondo *et al.*, *in press*), particularly the rates of mortality at positive development stage, early abortions and late abortions (Woodard and Morzenti, 1975; Nahm, 2001; Fasenko, 2007).

The reason is that during storage, when eggs are held at temperatures below their physiological zero, there is no discernible embryonic development; however, the storage period influences on the survival rate of the original cells and the rate of replacement by the new cells (Fasenko *et al.*, 1991). In turn, this influences the number of cells contained by the blastoderm before incubation, which determines embryonic viability (Mayes and Takeballi, 1984; Meijerhof, 1992; Narushin and Romanov, 2002). As occurs in other poultry species, this could be produced, on the one hand, by a deterioration of embryo performance caused by aging (Woodard and Morzenti, 1975; Nahm, 2001; Fasenko, 2007) and, on the other hand, it could be also linked to the egg weight loss (Hassan *et al.*, 2005; Romao *et al.*, 2008). In fact, egg weight loss observed in this study for 42-d stored eggs was higher than for 7-d stored eggs.

In another vein, matching with previous studies on broiler and turkey eggs stored up to 8 d (Fasenko *et al.*, 2001a,b; Reijrink *et al.*, 2009), we found in this study nor a detrimental or beneficial influence of PRESI on hatchability

Pre-storage Incubation of *Alectoris rufa* Eggs / *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 00, No. 0, 201x

of eggs stored during 7 d at 15°C and 80% RH. Other researches on broiler, quail and turkey eggs have shown that warming eggs prior to a 12 to 15-d storage period improves hatchability, as it helps the embryo to develop to the so-called hypoblast stage: a stage of embryonic development that is able to survive storage better (Kosin, 1956; Fasenko *et al.*, 2001a, b; Petek and Dikmen, 2004; Silva *et al.*, 2008; Lotfi *et al.*, 2011). However, we did not find any influence of 6 h of PRESI on hatchability of 42-d stored eggs, and 12 h of PRESI deteriorated even more viability of 42-d stored eggs. This was probably because even though PRESI helps the embryo to develop to a stage that is able to survive long storage better (Kosin, 1956; Fasenko *et al.*, 2001a, b; Petek and Dikmen, 2004; Silva *et al.*, 2008; Lotfi *et al.*, 2011), in case of too long storage (42 d) PRESI leads to greater water losses during storage and therefore contributes to a greater deterioration of the embryo and hence, a higher embryo mortality during incubation.

Conclusion

It can be concluded that, under the experimental conditions tested, PRESI does not produce any beneficial effect on hatchability of *A. rufa* eggs. Even though, 12 h of PRESI previous to 42 d of storage severely deteriorates the hatching rate of *A. rufa* eggs. However, literature on broiler and turkey eggs shows that 6 or 8 h of PRESI of eggs before long storage periods (11-15 d) result in higher proportions of live chicks, with lower rate of embryonic mortality, in comparison to unheated eggs. In view of this evidence, further research is needed to determine whether PRESI improves hatchability of red-legged partridge eggs in case of long storage periods, although shorter than 42 d (i.e., 14 to 28 d).

Acknowledgements

This study was conducted as part of the Ph.D. research project of Paloma Gómez-de-Travecedo at the University of Seville (Spain). It was partly funded by the "Tecnología de la Producción Animal" Research Group (code AGR-233) of the Plan Andaluz de Investigación, Desarrollo e Innovación (Junta de Andalucía, Spain).

References

- Bagliacca, M., B. Mori and L. Gualterio, 1988. Egg laying under artificial photo-regulation in the red partridge. In: *Proc. 18th World's Poultry Congress*, pp. 657-659. Nagoya, Japan
- Becker, W.A., 1960. The storage of hatching eggs and the post-hatching body weight of chickens. *Poult. Sci.*, 39: 588-590
- Beer, J. and G. Jenkinson, 1981. The storage of red-legged partridge eggs. A suggestion for trials. *Game Conserv. Am. Rev.*, 12: 80-82
- Çağlayan, T., S. Alaşahan, K. Kırıkçı and A. Gunlu, 2009. Effect of different egg storage periods on some egg quality characteristics and hatchability of partridges (*Alectoris graeca*). *Poult. Sci.*, 88: 1330-1333
- Cancho, M., 1991. Incubación. Equipo y técnicas de manejo. Control. In: *La perdiz Roja*. pp: 21-27. Fundación La Caixa-AEDOS, Barcelona, Spain
- Christensen, V.L., 2001. Factors associated with early embryonic mortality. *World's Poult. Sci. J.*, 57: 359-372
- Deeming, D.C., 1989. Characteristic of untuned eggs: Critical period, retarded embryonic growth and poor albumen utilization. *Brit. Poult. Sci.*, 30: 239-249
- Elibol O., S.D. Peak and J. Brake, 2002. Effect of flock age, length of egg storage, and frequency of turning during storage on hatchability of broiler hatching eggs. *Poult. Sci.*, 81: 945-950
- Ernst, R.A., F.A. Bradley, U.K. Abbott and R.M. Craig, 2004. *Egg Candling and Breakout Analysis*. ANR Publication 8134. <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8134.pdf> (Accessed 20 March 2007)
- Fasenko, G.M., 2007. Egg storage and the embryo. *Poult. Sci.*, 86: 1020-1024
- Fasenko, G.M., F.E. Robinson, J.G. Armstrong, J.S. Church, R.T. Hardin and J.N. Petite, 1991. Variability in preincubation embryo development in domestic fowl. 1. Effects of nest holding time and method of egg storage. *Poult. Sci.*, 70: 1876-1881
- Fasenko, G.M., V.L. Christensen, M.J. Wmeland and J.N. Petite, 2001a. Examining the effects of prestorage incubation of turkey breeder eggs on embryonic development and hatchability of eggs stored for four or fourteen days. *Poult. Sci.*, 80: 132-138
- Fasenko, G.M., F.E. Robinson, F.E., A.J. Whelan, K.M. Kremeniuk and J.A. Walker, 2001b. Prestorage incubation of long-term stored broiler breeder eggs: 1. Effects on hatchability. *Poult. Sci.*, 80: 1406-1411
- Fasenko G.M., F.E. Robinson and V.L. Christensen, 2002. Effects of long term storage on the egg, embryo and chick. In: *Practical Aspects of Commercial Incubation in Poultry*. pp: 33-39. Deeming, D.C. eds.). Lincoln University Press, United Kingdom
- Flores, A.J., 1979. Contribución al estudio de algunos caracteres étnicos de la perdiz roja española (*Alectoris rufa*) en cautividad. *Nuestra Cabaña* 76: 48-53
- García-Martín, E. and A. Dalmau, 2003. Reproducción de la perdiz roja y la codorniz. In: *Reproducción e Incubación en Avicultura*. pp: 457-495. Real Escuela de Avicultura. Arenys de Mar, Spain
- González-Redondo, P., 2006. Influence of the laying date on the fertility and hatchability of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. *J. Appl. Poult. Res.*, 15: 579-583
- González-Redondo, P., 2010. Effect of long-term storage on hatchability of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. *Poult. Sci.*, 89: 379-383
- González-Redondo P., M. Delgado-Pertíñez, S. Toribio, F.A. Ruiz, Y. Mena, F.P. Caravaca and J.M. Castel, 2010. Characterisation and typification of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) game farms in Spain. *Span. J. Agric. Res.*, 8: 624-633
- González-Redondo, P., R. Gutiérrez-Escobar, R. Díaz-Merino, P. Panea-Tejera and A.R. Martínez-Domínguez, 2012. Duración de la incubación artificial en perdiz roja (*Alectoris rufa*). *ITEA-Inf. Tec. Econ. Ag.*, 108: 289-297
- González-Redondo, P., M. Estévez, A. Molina and M. Valera. Effect of laying month and storage length on the hatchability of ostrich (*Struthio camelus*) eggs. *Int. J. Agric. Biol.*, in press
- Hassan, S.M., A.A. Siam, M.E. Mady and A.L. Cartwright, 2005. Egg storage period and weight effects on hatchability of ostrich (*Struthio camelus*) eggs. *Poult. Sci.*, 84: 1908-1912
- Humik, G.I., B.S. Reinhart and J.F. Humik, 1978. Relationship between albumen quality and hatchability in fresh and stored hatching eggs. *Poult. Sci.*, 57: 854-857
- Imai, C., A. Mowlah and J. Saito, 1986. Storage stability of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs of room temperature. *Poult. Sci.*, 65: 474-480
- Juárez-Caratachea, A. and M.A. Ortiz, 2001. Estudio de la incubabilidad y crianza de aves criollas de traspatio. *Vet. Mex.*, 32: 27-32
- Kırıkçı, K., D.C. Deeming and A. Günlü, 2004. Effects of egg mass and percentage mass loss during incubation on hatchability of eggs of the rock partridge (*Alectoris graeca*). *Brit. Poult. Sci.*, 45: 380-384
- Kosin, I.L., 1956. Studies on pre-incubation warming of chicken and turkey eggs. *Poult. Sci.*, 35: 1384-1392

- Lapão, C., L.T. Gama and M.C. Soares, 1999. Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. *Poult. Sci.*, 78: 640–645
- Lotfi, A., K. Hatfinejad and A.S. Abedi, 2011. Impact of egg pre-storage incubation on embryo mortality and hatching efficiencies in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Int. J. Agric. Biol.*, 13: 625–627
- Mayes, F.J. and M.A. Takeballi, 1984. Storage of the eggs of the fowl (*Gallus domesticus*) before incubation: a review. *World's Poult. Sci. J.*, 40: 131–140
- Meijerhof, R., 1992. Pre-incubation holding of hatching eggs. *World's Poult. Sci. J.*, 48: 57–68
- Mori, B., M. Bagliacca, M. Chiarocossi and I. Romboli, 1985. Performances riproduttive della pernice rossa allevata in Liguria. *Riv. Avic.*, 54: 27–32
- Mourão, L., Á.C. Barbosa, D. Outor-Monteiro and V.M. Pinheiro, 2010. Age affects the laying performance and egg hatchability of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) in captivity. *Poult. Sci.*, 89: 2494–2498
- Nahm, K.H., 2001. Effects of storage length and weight loss during incubation on the hatchability of ostrich eggs (*Struthio camelus*). *Poult. Sci.*, 80: 1667–1670
- Narushin, V.G. and M.N. Romanov, 2002. Egg physical characteristics and hatchability. *World's Poult. Sci. J.*, 58: 297–303
- Paci, G., M. Marzoni, N. Benvenuti and M. Bagliacca, 1992. Breeding technology of red-partridges: colonies or couples. In: *Proc. 19th World's Poultry Congress*, Vol. 3, pp: 351–352. Amsterdam, Netherlands
- Pérez y Pérez, F., 1981. La perdiz roja española. Editorial Científico-Médica, Barcelona, Spain
- Petek, M. and S. Dikmen, 2004. The effects of prestorage incubation of quail breeder eggs on hatchability and subsequent growth performance of progeny. *Anim. Res.*, 53: 527–534
- Proudfoot, F.G., 1969. Handling and storage of hatching eggs. In: *The Fertility and Hatchability of Hen's Egg*, pp: 125–142. Carter T.C. and Freeman B.M. (eds.). Oliver and Boyd, United Kingdom
- Reijrink, I.A.M., R. Meijerhof, B. Kemp and H. Van den Brand, 2008. The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. *World's Poult. Sci. J.*, 64: 581–598
- Reijrink, I.A.M., R. Meijerhof, B. Kemp, E.A.M. Graat and H. Van den Brand, 2009. Influence of pre-storage incubation on embryonic development, hatchability and chick quality. *Poult. Sci.*, 88: 2649–2660
- Reijrink, I.A.M., R. Meijerhof, B. Kemp and H. Van den Brand, 2010. Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryonic development, hatchability, and chick quality. *Poult. Sci.*, 89: 2470–2483
- Romao, J.M., T.G.V. Moraes, R.S.C. Teixeira, W.M. Cardoso and C.C. Buxade, 2008. Effect of egg storage length on hatchability and weight loss in incubation of egg and meat type Japanese quails. *Braz. J. Poult. Sci.*, 10: 143–147
- Ruiz, J. and C.A. Lunam, 2002. Effect of pre-incubation storage conditions on hatchability, chick weight at hatch and hatching time in broiler breeders. *Brit. Poult. Sci.*, 43: 374–383
- Silva, F.H.A., D.E. Faria, K.A.A. Torres, D.E. Faria-Filho, A.A.D. Coelho and V.J.M. Savino, 2008. Influence of egg pre-storage heating period and storage length on incubation results. *Braz. J. Poult. Sci.*, 10: 17–22
- SPSS Inc. 2006. *Manual del Usuario de SPSS Base 15.0*. SPSS Inc., Chicago, IL
- Tilki, M. and M. Saatci, 2004. Effects of storage time on external and internal characteristics in partridge (*Alectoris graeca*) eggs. *Rev. Méd. Vét.*, 155: 561–564
- Tona, K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman and E. Decuyper, 2002. Effect of induced molting on albumen quality, hatchability, and chick body weight from broiler breeders. *Poult. Sci.*, 81: 327–332
- Tona, K., F. Bamelis, B. De Ketelaere, V. Bruggeman, V.M.B. Moraes, J. Buyse, O. Onagbesan and E. Decuyper, 2003. Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.*, 82: 736–741
- Torres, A. and C. Garcés, 1995. La explotación de la perdiz. In: *Zootecnia. Bases de producción animal. Vol. V: Avicultura Clásica y Complementaria*, pp: 345–363. Mundi-Prensa, Spain
- Woodard, A.E. and A. Morzenti, 1975. Effect of turning and age of egg on hatchability in the pheasant, chukar and Japanese quail. *Poult. Sci.*, 54: 1708–1711

(Received 13 July 2013; Accepted 19 August 2013)

Artículo 3. Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs

Autores: Paloma Gómez-de-Travedo Calvo, Francisco P. Caravaca Rodríguez y Pedro González Redondo

Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, España

Artículo en revisión en la revista, con la respuesta a la segunda ronda de revisiones enviada en marzo de 2014

Resumen

Con este estudio se investigó, en huevos fértiles de perdiz roja (*Alectoris rufa*), el efecto del momento en el que se cambia la temperatura de incubación a la de nacimiento sobre la pérdida de peso del huevo, la tasa de eclosión, el peso del perdigón al nacimiento, la duración de la incubación y el estado de desarrollo en caso de mortalidad embrionaria. Cinco lotes, cada uno con 80 huevos distribuidos aleatoriamente, se incubaron a una temperatura de 37,8 °C durante los primeros 18, 19, 20, 21 y 22 d respectivamente y a continuación, y hasta la eclosión, a una temperatura de 37,5 °C. La tasa de eclosión, el estado de desarrollo en caso de mortalidad embrionaria y el peso del perdigón al nacimiento no se vieron afectados por el momento del cambio de temperaturas ($P > 0,05$). Sin embargo, la pérdida de peso del huevo después de 21 d de incubación como representativa de la de los huevos ya desarrollados, y la duración de la incubación se vieron influenciadas por el tratamiento ($P < 0,05$ y $P < 0,001$, respectivamente). Los huevos a los que se les mantuvo la temperatura de 37,8 °C durante 22 d no sólo eclosionaron antes (23,04 d) sino también con una menor dispersión que los demás lotes. Dado que las eclosiones pueden comenzar alrededor del día 22 de incubación, para mejorar la sincronía de las eclosiones se podría recomendar trasladar los huevos de *A. rufa* desde la incubadora (a 37,8 °C) a la nacedora el día 21 de incubación manteniendo la misma temperatura, y reducirla a 37,5 °C el día 22 desde el comienzo de la incubación. No obstante, habría que realizar otros estudios para comprobar el efecto que podría tener este manejo de temperaturas sobre el crecimiento y viabilidad de los perdigones.

1

1 **Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial**
2 **incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**

3

4 P. Gómez-de-Travecedo, F.P. Caravaca and P. González-Redondo*

5

6 Departamento de Ciencias Agroforestales. Escuela Técnica Superior de Ingeniería
7 Agronómica. Universidad de Sevilla. 41013 Sevilla, Spain

8

9 *Corresponding author: pedro@us.es. Tel.: +34 954 48 64 54. Fax: +34 954 48 64 36.

10

11 Tables: 2.

12 **Running title:** Hatching temperature scheduling in partridge

13 **Topic:** Animal production

1 **Effects of time to change from incubation to hatching temperature in the artificial**
2 **incubation of red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs**

3 **Abstract**

4 This study investigates, in red-legged partridge (*Alectoris rufa*), the effects of time to
5 change from incubation to hatching temperature on egg weight loss, hatchability, chick
6 weight at hatch, incubation length, and development stage at embryonic mortality. Five
7 batches of 80 eggs each, randomly distributed, were incubated at 37.8°C during the first 18,
8 19, 20, 21 or 22 d, respectively, and subsequently at 37.5°C until hatching. Hatchability, egg
9 weight loss after 21 d of incubation as representative of that of developed embryos,
10 development stage at embryonic mortality and chick weight at hatch were not affected by the
11 time of temperature change ($P > 0.05$). However, incubation length was influenced by the
12 incubation treatment ($P < 0.001$). Thus, eggs whose temperature was reduced on days 19 to
13 21 of incubation showed a 23.40-d incubation period, and changing the temperature from 37.8
14 to 37.5°C on day 18 of incubation prolonged incubation length to 23.63 d, while eggs
15 maintained at the incubation temperature of 37.8°C for 22 d not only hatched earlier (23.04 d)
16 but also with lower dispersion than eggs from the other treatments. As hatching may start
17 around day 22 of incubation, to improve hatching synchrony it could be recommended to
18 move *A. rufa* eggs from the incubator, set at 37.8°C, to the hatcher on the 21st d of incubation
19 keeping the temperature unchanged, and reduce it to 37.5°C on the 22nd d. Nevertheless,
20 further research should be carried out on the effect with this temperature scheduling on chick
21 growth and performance.

22 **Additional key words:** egg weight loss; game farming; hatchability; incubation length.

23 **Abbreviations used:** EA (early abortion); FWD (fertile without development); LA (late
24 abortion); P (pipped but not out of shell); PD (positive development); RH (relative humidity).

25 **Introduction**

26 The red-legged partridge (*Alectoris rufa*) is a game species endemic to south-western
27 Europe (Spain, Portugal, France, north-western Italy and some Mediterranean islands). It has
28 also been successfully introduced in the United Kingdom, the Azores, the Canary Islands, and
29 Madeira (Aebischer & Lucio, 1997). Nevertheless, wild populations of *A. rufa* have been
30 decreasing due to a variety of factors like predation, problems associated with the release of
31 farm-reared partridges (sanitary and hybridisation risks), deterioration of their natural habitat
32 due to changes in land use, and increase of hunting pressure (Buenestado *et al.*, 2009; Casas
33 *et al.*, 2012; Delibes-Mateos *et al.*, 2012). Although it is known that releases of red-legged

1 partridges raised under farming conditions do not contribute to an effective conservation of
2 their wild populations and it may even be a threat to it (Negro *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2004;
3 Barbanera *et al.*, 2010), *A. rufa* has been raised in these countries for hunting purpose in order
4 to ensure hunting bags and provide birds for re-establishment purposes (Sokos *et al.*, 2008;
5 Díaz-Fernández *et al.*, 2012). In fact, its captive breeding has been successfully developed
6 from the mid-1960's onwards, leading to a well-developed sub-sector (Sánchez García-Abad
7 *et al.*, 2009; González-Redondo *et al.*, 2010). However, various aspects of the artificial
8 incubation, which is one of the keys to the productivity of these game farms, have not yet
9 been rigorously investigated. Specifically, incubation temperature is one of the main factors to
10 achieve good rates of hatchability and viable chicks. Several authors recommend incubating
11 *A. rufa* eggs at 37.8°C at least during the first 20-21 days of incubation and then, transferring
12 them to the hatcher, where temperature is lowered to 37.5°C, until hatching on day 23-24
13 (García Martín & Dalmau, 2003; González-Redondo *et al.*, 2012). The reason for reducing
14 the temperature at the end of the incubation is that some studies on hen eggs report that the
15 temperature of the embryo at the end of its development is almost 2°C higher than at its
16 beginning, due to the extra heat caused by the movement and metabolic activity of the chick
17 embryos. As a consequence, heating needs are different at this late stage (Romijn & Lokhorst,
18 1955, 1956; Decuyper & Michels, 1992). However, hatching temperature scheduling has not
19 yet been contrasted in red-legged partridge by scientific studies. Therefore, the present study
20 aimed to investigate the effects of the time when the temperature is lowered from the
21 incubation to the hatcher temperature, on hatchability, weight loss, incubation length and
22 embryonic mortality of red-legged partridge eggs.

23 **Material and methods**

24 **Birds and husbandry**

25 A total of 400 hatching eggs were collected from a red-legged partridge farm located in
26 El Ronquillo (province of Seville; southern Spain). The breeding partridges, aged between 2
27 and 3 years, were fed with commercial feed (2,775 kcal kg⁻¹ metabolizable energy, 200 g kg⁻¹
28 crude protein, 42.5 g kg⁻¹ crude fat, 40 g kg⁻¹ crude fibre and 30 g kg⁻¹ Ca; Avipacsa A-78[®],
29 Sanders, Dos Hermanas, Spain) and were housed in pairs in outdoor cages measuring 50 × 65
30 cm. The partridges were initially subjected to natural lighting but, from December, artificial
31 lighting was added, increasing the photoperiod by a quarter of an hour every day until a
32 complete photoperiod (natural + artificial light) of 16 h of light was reached by January. Egg
33 laying started in mid January.

1 Eggs used in this trial were laid and collected between 23rd and 25th March. On March
2 25th, the eggs were randomly distributed in five batches of 80 eggs each. Twelve hours before
3 being loaded in the incubator, all batches were pre-warmed at 23°C and 43% relative
4 humidity (RH) by maintaining them in the room where the incubator itself was located. Then,
5 all batches were loaded into the incubator (Masalles HS25[®], Masalles, Ripollet, Spain) on the
6 same date (March 26th). The incubator was at 37.8°C and 55% RH, and eggs were turned 45°
7 every hour. Egg batches were transferred to the hatcher (Maino Incubators 2-630 XHM[®],
8 Maino Enrico-Adriano S.n.c., Oltrona di San Mamette, Italy) on days 18, 19, 20, 21 or 22
9 from the beginning of the incubation, respectively. The hatcher temperature was 37.5°C. To
10 maintain identical the other incubation parameters across batches, until day 21 from the
11 beginning of the incubation the hatcher was at 55% RH, and eggs went on being turned 45°
12 every hour. On day 21 of incubation, relative humidity was increased to 80% and the turning
13 of eggs was stopped in all the experimental batches.

14 **Data recorded**

15 All eggs were weighed before incubation and on day 21 of incubation as the time at
16 which the embryos can be considered developed, since in this species and under farming
17 conditions hatching can start on day 21.5 (González-Redondo *et al.*, 2012). Weight losses
18 after 21 d of incubation were calculated, for each egg, as a percentage of the initial weight.
19 After the incubation period, the number of hatched chicks and unhatched eggs were recorded.
20 Unhatched eggs were opened to determine macroscopically infertility or the following stages
21 of embryonic mortality: fertile without development (FWD) when the blastodisc still had the
22 characteristic shape and size of a fertile one but its outline was deteriorated, positive
23 development (PD) when the blastoderm had further developed but there was still absence of
24 blood formation, early abortion (EA) when blood rings or dead embryos at early stages were
25 observed, late abortion (LA) in case of chicks fully formed but dead without pipping, or
26 pipped but not out of shell (P) (Juárez-Caratachea & Ortiz, 2001; Ernst *et al.*, 2004).

27 The length of the incubation period was measured as the difference between the
28 incubator loading and hatching dates. Hatching dates were determined through hatching
29 controls carried out every 12 hours. All the chicks were weighed at hatching.

30 **Statistical analysis**

31 Statistical differences in the fertility, hatchability of the incubated eggs, as well as
32 hatchability and embryonic mortality of the fertile eggs, as a function of the time of change
33 (days 18, 19, 20, 21 or 22 of incubation) of the incubation temperature (37.8°C) to the
34 hatching temperature (37.5°C), were analysed using contingency tables on which Pearson's χ^2

1 tests were performed. Statistical differences in the initial and final weights, weight losses of
2 the fertile eggs during the first 21 d of the incubation period, chick weight at hatch and
3 incubation length, as a function of the time of change in temperature during incubation, were
4 analyzed by one-way analysis of variance. When differences among time of change of
5 temperature treatments were significant, means were separated using Duncan's multiple range
6 tests at the 0.05 level of significance. All results of the quantitative variables are expressed as
7 mean \pm standard error of the mean. The descriptive statistics maximum, minimum, coefficient
8 of variation, and skewness and kurtosis coefficients were calculated for the variable
9 incubation length. Differences in the variance of the incubation length among treatments were
10 also analysed. Spearman's correlation coefficient (ρ) was also calculated to assess the relation
11 between time of change of the incubation to the hatching temperature and egg weight loss.
12 Differences were interpreted as significant at $P < 0.05$. The analyses were conducted using
13 SPSS 15.0 software (SPSS Inc., 2006).

14 **Results**

15 **Fertility and hatchability**

16 Average fertility was 50.8%, hatchability of the total of the incubated eggs was 44.5%
17 and hatchability of the fertile eggs amounted to 87.7% (Table 1). No differences were found
18 among the experimental batches in the fertility of the incubated eggs ($\chi^2 = 5.661$, $df = 4$, n.s.),
19 in the hatchability of the total of the incubated eggs ($\chi^2 = 7.450$, $df = 4$, n.s.), and in the
20 hatchability of the fertile eggs ($\chi^2 = 4.896$, $df = 4$, n.s.).

21 RECOMMENDED PLACE FOR TABLE 1

22 **Embryonic mortality**

23 According to the time of change of the incubation temperature to the hatching
24 temperature, no differences were found among the experimental batches neither in the total
25 embryonic mortality (12.3%, $\chi^2 = 13.656$, $df = 16$, n.s.) nor in the embryonic mortality at each
26 embryonic development phase, whose mean values were 0% in FWD, 2.5% in PD, 5.4% in
27 EA, 3.9% in LA, and 0.5% in P phase (Table 1).

28 **Chick weight at hatch**

29 The average chick weight at hatch was 14.27 ± 0.08 g. The time of change from the
30 incubation to the hatching temperature did not influence chick weight at hatch (Table 1, $F =$
31 0.393 , n.s.).

1 **Egg weights and egg weight losses**

2 The average weight of the fertile eggs before incubation was 19.84 ± 0.09 g, regardless
3 of treatment (Table 2; $F = 1.015$, n.s.). After 21 of incubation, the average weight loss of the
4 fertile eggs was $10.22 \pm 0.12\%$ of their initial weight. Differences were found among
5 treatments in the egg weight loss during incubation ($F = 1.239$, $P < 0.05$). The trend was that
6 eggs kept at 37.8°C for a longer period lost more weight than eggs from the other treatments
7 ($\rho = 0.151$, $P < 0.05$). Thus, eggs whose incubation temperature was reduced from 37.8 to
8 37.5°C on the 22nd d of incubation showed higher weight losses than eggs whose incubation
9 temperature was reduced on the 19th d of incubation (Table 2; 22 d: 10.68% ; 19 d: 9.72%).

10 RECOMMENDED PLACE FOR TABLE 2

11 **Incubation length**

12 The average incubation period lasted 23.39 ± 0.03 d. Incubation length was highly
13 influenced by the incubation treatment ($F = 10.175$, $P < 0.001$), increasing as the change of the
14 incubation to hatcher temperature delayed (Table 2). Thus, eggs kept at the incubation
15 temperature for 22 d hatched significantly earlier (23.04 ± 0.05 d) than eggs from the other
16 treatments, and showed the lowest coefficient of variation (1.26) and the highest kurtosis
17 (5.71) for the incubation length. On the other hand, eggs that were changed to the hatcher
18 temperature on day 18 took longer to hatch (23.63 ± 0.07 d), with a higher coefficient of
19 variation (1.72) and lower kurtosis (3.07). No difference was found in the variance of the
20 incubation length among the treatments submitted to change of the incubation temperature on
21 days 18, 19, 20 and 21, which showed a mean variance of 0.21. However we found a
22 difference ($P < 0.05$) in the variance of the incubation length between those treatments and the
23 22-d treatment, which showed a variance of 0.08.

24 **Discussion**

25 In this study, the average fertility and the average hatchability of the incubated eggs
26 were lower than in previous reports on *A. rufa* under farming conditions (73.5 to 89.3% and
27 53.4 to 86.4%, respectively; Bagliacca *et al.*, 1988; Paci *et al.*, 1992; González-Redondo,
28 2006, 2010; Mourão *et al.*, 2010) or in the wild (93% in hatchability; Tavares *et al.*, 2001),
29 influenced by the low fertility rate of the total egg set. The breeding partridges had a similar
30 age (2-3 years), characterized by the maximum fertility (Mourão *et al.*, 2010), and eggs were
31 collected in the middle of the reproductive season, when laying rate and fertility of red-legged
32 partridge peaks (Fernandes Barbosa, 2009). Thus, differences between the mean value of
33 eggs' fertility and hatchability of the eggs set obtained in this research and the mean values

1 found in the literature could be due to other farming conditions such as differences of the
2 fertility selection in the breeding flocks, housing type or kind of feed used (King'ori, 2011).

3 Mean values found for hatchability of the fertile eggs, recently-laid eggs weight,
4 weight loss of the fertile eggs during the first 21 d of incubation, incubation length or chick
5 weight at hatch matched with the values described for *A. rufa* in previous studies under
6 similar conditions (Beer & Jenkinson, 1981; González-Redondo, 2010; Mourão *et al.*, 2010;
7 González-Redondo *et al.*, 2012).

8 In our study, eggs which stayed longer at the incubation temperature lost more weight
9 than the others. This effect could be explained by the results of other studies in hen and quail
10 eggs, which showed that during the last few days of incubation embryo metabolism increases
11 and hence, embryonic respiration and gas exchange (Tullett & Board, 1976; Lomholt, 1977;
12 Decuyper & Michels, 1992). As a consequence, egg weight loss is higher (Türkyilmaz *et al.*,
13 2005).

14 Eggs whose temperature was reduced from 37.8°C to 37.5°C between days 19th and 21st
15 of incubation had incubation lengths according to the average described in literature for *A.*
16 *rufa*. This agrees with the usual handling of *A. rufa* fertile eggs in game farms, which is
17 transferring eggs from the incubator to the hatcher on day 20 or 21 of incubation (Setién,
18 1991; García Martín & Dalmau, 2003). However, eggs kept at the incubation temperature of
19 37.8°C for 22 d hatched significantly earlier (23.04 d) than the eggs from the other treatments
20 and in agreement with the modal value of 23 d for the incubation length found by González-
21 Redondo *et al.* (2012). Nevertheless, eggs whose incubation temperature was reduced to
22 37.5°C on day 18 had longer incubation periods (23.63 d). This hatching delay could be due to
23 an early temperature reduction (Michels *et al.*, 1974; Christensen *et al.*, 1996; French, 1997).

24 Previous studies on artificial incubation of *A. rufa* eggs state that hatching can start on
25 day 21.5 and finish on day 26 from the beginning of the incubation, within an interval that
26 might vary up to 4 d according to the incubation conditions (González-Redondo *et al.*, 2012).
27 Thus, a relevant finding in this experiment was that eggs kept at the incubation temperature of
28 37.8°C for 22 d hatched with lower dispersion than eggs from the other treatments, within a
29 brief interval of 36 h, below the average described in literature for this species. This finding
30 could enable us to improve hatching synchrony by extracting all the chicks from the hatcher
31 at the same time, minimizing extraction queues. That is, chicks that hatch earlier would not
32 have to wait long for extractions and their dehydration risk would be minimized.

33 In conclusion, changing the temperature from 37.8 to 37.5°C between day 18 and 22 of
34 incubation did not affect hatchability, egg weight loss after incubation, embryonic mortality

1 and chick weight at hatch in red-legged partridge. Changing the temperature on day 18 of
2 incubation increased incubation length while changing it on day 22 shortened it and reduced
3 hatching dispersion, with respect to the standard length of incubation. Taking into account
4 that *A. rufa* eggs must be turned at least up to day 20 of incubation (González-Redondo & De
5 la Rosa Sánchez, 2009) and that hatching may start around day 22 of incubation (Table 2 and
6 González-Redondo *et al.*, 2012), to improve hatching synchrony it could be recommended to
7 move eggs from the incubator (set at 37.8°C, 55% RH, with regular turning of eggs) to the
8 hatcher (set at 37.8°C, 80% RH, without turning of eggs) on the 21st d of incubation, and
9 reduce hatcher's temperature to 37.5°C on the 22nd d of incubation. Nevertheless, since the
10 final purpose of red-legged partridge farms is to rear healthy and vigorous partridges for
11 releasing in natural environments, further research should investigate whether maintaining
12 high the temperature until day 22 of incubation has any negative effect on chick growth and
13 survival rate after hatch.

14 **Acknowledgements**

15 This work was conducted as part of the PhD research project of Paloma Gómez-De-
16 Travededo at the University of Seville (Spain). It was partly funded by the “Tecnología de la
17 Producción Animal” Research Group (code AGR-233) of the Plan Andaluz de Investigación,
18 Desarrollo e Innovación (Junta de Andalucía, Spain).

19 **References**

- 20 Aebischer NJ, Lucio A, 1997. Red-legged Partridge *Alectoris rufa*. In: The EBCC atlas of
21 European breeding birds: Their distribution and abundance. Poyser, London, UK, pp:
22 208–209.
- 23 Bagliacca M, Mori B, Gualterio L, 1988. Egg laying under artificial photo-regulation in the
24 red partridge. Proc 18th World's Poultry Congress, Nagoya (Japan), pp: 657–659.
- 25 Barbanera F, Pergams ORW, Guerrini M, Forcina G, Panayides P, Dini F, 2010. Genetic
26 consequences of intense management in game birds. Biol Conserv 143: 1259–1268.
- 27 Beer J, Jenkinson G, 1981. The storage of red-legged partridge eggs. A suggestion for trials.
28 Game Conserv Ann Rev 12: 80–82.
- 29 Buenestado FJ, Ferreras P, Blanco-Aguiar JA, Tortosa FS, Villafuerte R, 2009. Survival and
30 causes of mortality among wild red-legged partridges *Alectoris rufa* in southern Spain:
31 implications for conservation. Ibis 151: 720–730.

- 1 Casas F, Mougeot F, Sánchez-Barbudo I, Dávila JA, Viñuela J, 2012. Fitness consequences of
2 anthropogenic hybridization in wild red-legged partridge (*Alectoris rufa*, Phasianidae)
3 populations. *Biol Invasions* 14: 295–305.
- 4 Christensen VL, Donaldson WE, Nestort KE, 1996. Interaction of genetics and temperature
5 during the plateau stage of incubation affects the physiology and survival of turkeys.
6 *Poult Sci* 75 (Suppl. 1): 77–77.
- 7 Decuyper E, Michels H, 1992. Incubation temperature as a management tool: a review.
8 *World's Poult Sci J* 48: 28–38.
- 9 Delibes-Mateos M., Farfán MA, Olivero J, Vargas JM, 2012. Impact of land-use changes on
10 red-legged partridge conservation in the Iberian Peninsula. *Environ Conserv* 39: 337–
11 346.
- 12 Díaz-Fernández S, Viñuela J, Arroyo B, 2012. Harvest of red-legged partridge in central
13 Spain. *J Wildl Manag* 76: 1354–1363.
- 14 Ernst RA, Bradley FA, Abbott UK, Craig RM, 2004. Egg candling and breakout analysis.
15 ANR Publication 8134. Available in <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8134.pdf>.
16 [March 2007].
- 17 Fernandes Barbosa AC, 2009. Análise de parâmetros produtivos e reprodutivos da perdiz
18 vermelha (*Alectoris rufa* L.) em cativeiro. Master thesis. Univ. Trás-os-Montes e Alto
19 Douro, Vila Real, Portugal. 67 pp.
- 20 French NA, 1997. Modelling incubation temperature: The effects of incubator design,
21 embryonic development, and egg size. *Poult Sci* 76: 124–133.
- 22 García Martín E, Dalmau A, 2003. Reproducción de la perdiz roja y la codorniz. In:
23 Reproducción e incubación en Avicultura. Real Escuela de Avicultura, Arenys de Mar,
24 Barcelona, Spain, pp: 457–495.
- 25 González-Redondo P, 2006. Influence of the laying date on the fertility and hatchability of
26 red-legged partridge (*Alectoris rufa*) eggs. *J Appl Poult Res* 15: 579–583.
- 27 González-Redondo P, 2010. Effect of long-term storage on hatchability of red-legged
28 partridge (*Alectoris rufa*) eggs. *Poult Sci* 89: 379–383.
- 29 González-Redondo P, De la Rosa Sánchez S, 2009. Efecto de la duración de la fase de volteo
30 de los huevos de perdiz roja (*Alectoris rufa*) durante la incubación sobre la tasa de
31 eclosión. *ITEA-Inf Tec Econ Ag* 105: 291–295.
- 32 González-Redondo P, Delgado-Pertíñez M, Toribio S, Ruiz FA, Mena Y, Caravaca FP, Castel
33 JM, 2010. Characterisation and typification of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*)
34 game farms in Spain. *Span J Agric Res* 8: 624–633.

- 1 González-Redondo P, Gutiérrez-Escobar R, Díaz-Merino R, Panea-Tejera P, Martínez-
2 Domínguez AR, 2012. Duración de la incubación artificial en perdiz roja (*Alectoris*
3 *rufa*). ITEA-Inf Tec Econ Ag 108: 289–297.
- 4 Juárez-Caratachea A, Ortiz MA, 2001. Estudio de la incubabilidad y crianza de aves criollas
5 de traspatio. Vet Méx 32: 27–32.
- 6 King'ori AM, 2011. Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in
7 poultry. Int J Poult Sci 10: 483–492.
- 8 Lomholt JP, 1977. The development of the oxygen permeability of the avian egg shell and its
9 membranes during incubation. J Exp Zool 198: 177–184.
- 10 Michels H, Geers R, Muambi S, 1974. The effect of incubation temperature on pre- and post-
11 hatching development in chickens. Br Poult Sci 15: 517–523.
- 12 Mourão JL, Barbosa AC, Outor-Monteiro D, Pinheiro VM, 2010. Age affects the laying
13 performance and egg hatchability of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) in captivity.
14 Poult Sci 89: 2494–2498.
- 15 Negro JJ, Torres MJ, Godoy JA, 2001. RAPD analysis for detection and eradication of hybrid
16 partridges (*Alectoris rufa* × *A. graeca*) in Spain. Biol Conserv 98: 19–24.
- 17 Paci G, Marzoni M, Benvenuti N, Bagliacca M, 1992. Breeding technology of red-partridges:
18 colonies or couples. Proc 19th World's Poultry Congress, Amsterdam, Netherlands,
19 vol. 3, pp: 351–352.
- 20 Pérez JA, Alonso ME, Gaudio VR, Olmedo JA, Díez C, Bartolomé D, 2004. Use of
21 radiotracking techniques to study a summer repopulation with red-legged partridge
22 (*Alectoris rufa*) chicks. Poult Sci 83: 882–888.
- 23 Romijn C, Lokhorst W, 1955. Chemical heat regulation in the chick embryo. Poult Sci 34:
24 649–654.
- 25 Romijn C, Lokhorst W, 1956. The caloric equilibrium of the chicken embryo. Poult Sci 35:
26 829–834.
- 27 Sánchez García-Abad C, Alonso ME, Prieto R, González V, Gaudio VR, 2009. Una visión
28 sobre la avicultura para la producción de caza en España. ITEA-Inf Tec Econ Ag 105:
29 169–183.
- 30 Setién M, 1991. Producción cinegética: granjas de perdices. In: Manual de ordenación y
31 gestión cinegética (Fuentes, A., Sánchez, I. & Pajuelo, L. eds). IFEBA, Badajoz,
32 Spain, pp: 133–152.
- 33 Sokos CK, Birtsas PK, Tsachalidis EP, 2008. The aims of galliforms release and choice of
34 techniques. Wildl Biol 14: 412–422.

- 1 SPSS Inc, 2006. Manual del Usuario de SPSS Base 15.0. SPSS Inc, Chicago, USA. 618 pp.
- 2 Tavares P, Magalhães MC, Fontoura A, 2001. Ecology and social organization of the red-
- 3 legged partridge (*Alectoris rufa*) in central Portugal. Game Wildl Sci 18: 469–481.
- 4 Tullett SG, Board RG, 1976. Oxygen flux across the integument of the avian egg during
- 5 incubation. Br Poult Sci 17: 441–450.
- 6 Türkyilmaz MK, Dereli E, Şahin T, 2005. Effects of shell thickness, shell porosity, shape
- 7 index and egg weight loss on hatchability in Japanese quail (*Coturnix coturnix*
- 8 *japonica*). Kafkas Univ Vet Fak Derg 11: 147–150.
- 9

12

1 **Table 1.** Fertility, hatchability, embryonic mortality and chick weight at hatch of red-legged partridge eggs according to the time of change from
2 incubation temperature (37.8°C) to hatching temperature (37.5°C)

Time of temperature change ¹ (d)	Number of eggs incubated	Fertility ² (%)	Hatchability ³ (%)	Hatchability of the fertile eggs ⁴ (%)	Embryonic mortality ⁵ (% of the fertile eggs)					Chick weight at hatch (g, Mean ± SEM)
					FWD	PD	EA	LA	P	
18	80	48.8	38.8	79.5	0.0	5.1	10.3	5.1	0.0	14.36 ± 0.17
19	80	47.5	43.8	92.1	0.0	0.0	5.3	2.6	0.0	14.36 ± 0.16
20	80	58.8	55.0	93.6	0.0	0.0	2.1	4.3	0.0	14.21 ± 0.16
21	80	42.5	36.3	85.3	0.0	2.9	2.9	5.9	2.9	14.36 ± 0.21
22	80	56.3	48.8	86.7	0.0	4.4	6.7	2.2	0.0	14.13 ± 0.20
<i>P</i> -value		0.226	0.114	0.301	1.000	0.400	0.508	0.910	0.290	0.813

3 ¹Time elapsed from the start of incubation.

4 ²Percentage of incubated eggs that were fertile.

5 ³Percentage of incubated eggs that hatched.

6 ⁴Percentage of fertile eggs that hatched.

7 ⁵FWD: fertile without development; PD: positive development; EA: early abortion; LA: late abortion; P: Pipped but not out of shell.

13

1 **Table 2.** Egg weight, egg weight loss after 21 d of incubation and length of the incubation period in red-legged partridge eggs according to the
2 time of change from incubation temperature (37.8°C) to hatching temperature (37.5°C)

Time of temperature change ¹ (d)	Number of fertile eggs	Egg weight of the fertile eggs before incubation (g)	Egg weight loss of the fertile eggs after 21 d of incubation ² (%)	Incubation length (d)						
				Mean ± SEM	Variance	CV ³ (%)	Skewness	Kurtosis	Min	Max
18	39	19.78 ± 0.22	10.03 ± 0.31 ^{ab}	23.63 ± 0.07 ^a	0.17 ^x	1.72	1.06	3.07	23.00	25.00
19	38	19.88 ± 0.17	9.72 ± 0.24 ^b	23.40 ± 0.08 ^b	0.25 ^x	2.12	1.76	4.88	22.50	25.00
20	47	19.89 ± 0.19	10.56 ± 0.20 ^a	23.51 ± 0.07 ^{ab}	0.19 ^x	1.86	1.48	3.02	23.00	25.00
21	34	19.96 ± 0.22	9.91 ± 0.22 ^{ab}	23.41 ± 0.09 ^b	0.22 ^x	1.98	1.80	4.43	23.00	25.00
22	45	19.70 ± 0.23	10.68 ± 0.30 ^a	23.04 ± 0.05 ^c	0.08 ^y	1.26	1.71	5.71	22.50	24.00
<i>P</i> -value		0.911	0.036	< 0.001						

3 ¹Time elapsed from the start of incubation.

4 ²Values are expressed as a percentage of egg weight at the beginning of incubation.

5 ³CV: Coefficient of variation.

6 ^{a-b}Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

7 ^{x-y}Variances in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

