

# Productividad y calidad del huevo de gallinas con niveles crecientes de harina de semilla de calabaza (*Cucurbita maxima*)

## Productivity and egg quality in laying hens fed increasing levels of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed meal

Yordan Martínez Aguilar<sup>a</sup>, Jesús Córdova López<sup>b</sup>, Ángel Arturo Santana Pérez<sup>a</sup>, Orlando Martínez Yero<sup>a</sup>, Manuel Isidoro Valdivié Navarro<sup>c</sup>, César Augusto Betancur Hurtado<sup>d</sup>

### RESUMEN

Un total de 160 gallinas ponedoras White Leghorn (Híbrido L-33) en pleno pico de potura, se ubicaron durante 91 días según diseño completamente aleatorizado, para evaluar el comportamiento productivo y la calidad del huevo. Se utilizaron cuatro tratamientos 0, 33, 66 y 100 g/kg de harina de semilla de calabaza, sustituyendo totalmente el aceite vegetal y parcial la torta de soya. Se tuvieron 20 repeticiones por tratamiento. No se evidenció morbilidad y mortalidad en las gallinas ponedoras con la inclusión de la semilla en las dietas. Además no se detectaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos para la producción de huevos, viabilidad, consumo de energía metabolizable y nutrientes (excepto para fibra cruda y extracto etéreo), peso del huevo, altura de la clara densa, altura de la yema, grosor de la cáscara, huevos no aptos y calidad sensorial del huevo (sabor, olor y textura). Para los tratamientos con 66 y 100 g/kg de harina de semilla de calabaza se observó un aumento en el peso final de las gallinas en 61 y 66 g, respectivamente en comparación con el tratamiento testigo. Los resultados obtenidos permiten recomendar la inclusión de hasta 100 g/kg de harina de semilla de calabaza en las dietas de gallinas ponedoras, sin alterar el comportamiento productivo y la calidad del huevo.

**PALABRAS CLAVE:** Semilla de calabaza, Gallina, Huevo, Calidad.

### ABSTRACT

A total of 160 White Leghorn (L-33 Hybrid) egg-laying hens in the middle of their laying pick, were placed according to a complete randomized design to evaluate the productive performance and the egg quality. There were four treatments: 0, 33, 66 and 100 g/kg of pumpkin seed meal on the diet, totally substituting the imported vegetable oil and partially substituting the soybean meal. There were 20 replicates/treatment. There was no evidence of morbidity and mortality in the egg-laying hens due to the inclusion of this seed in their diet. There were not significant differences either ( $P > 0.05$ ) among treatments for the production of eggs, viability, consumption of metabolizable energy and nutrients (except for crude fiber and ether extract), weight of the egg, height of the dense white, yolk height, shell thickness, unsuitable eggs and egg sensorial quality (flavor, scent, texture). For the treatments with 66 and 100 g/kg of flour of pumpkin seed there was an increase in the final body weight of the hens of 61 and 66 g, respectively, compared with the control treatment. The results allow recommending the inclusion of up to 100 g/kg of flour of pumpkin seed in the diets of egg-laying hens, without altering the productive parameters and the egg quality.

**KEY WORDS:** Flour, Pumpkin seed, Hen, Egg.

### INTRODUCCIÓN

La calabaza es una planta originaria de México, siendo cosechada por los precolombinos en el Cono

### INTRODUCTION

Originally from Mexico, pumpkin species have been grown throughout Mesoamerica and South America

Recibido el 4 de octubre de 2010. Aceptado el 7 de diciembre de 2010.

<sup>a</sup> Universidad de Granma, Aptado Postal 21. Bayamo, Granma. C.P 85300. La Habana, Cuba. [ymartinez@udg.co.cu](mailto:ymartinez@udg.co.cu). Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Universidad de Guadalajara, Departamento de Ing. Química.

<sup>c</sup> Instituto de Ciencia Animal, San José de Las Lajas, La Habana.

<sup>d</sup> Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Montería, Colombia.

Sur y en Mesoamérica<sup>(1)</sup>. Pertenece a la familia de las cucurbitáceas, siendo *Cucurbita maxima* una de las especies más explotadas en las Américas. El cultivo de la calabaza necesita pocos insumos y en muchos países se cosecha todo el año, obteniendo un número considerable de semillas<sup>(2,3)</sup>.

Cuba es el séptimo productor de calabaza en el mundo, con más de 450,000 t por año<sup>(4)</sup>, aunque sólo se consume su masa, y sus semillas no se utilizan en la alimentación de los humanos y animales, desechando cada año alrededor de 24,000 t de semilla con 943 g/kg MS<sup>(2)</sup>.

Paradójicamente, la masa de la calabaza posee pocos elementos nutritivos; sin embargo, sus semillas y el aceite extraído de ellas se consideran como alimentos nutraceuticos. Algunos autores<sup>(5,6,7)</sup> han descrito la efectividad de las semillas en el tratamiento del cáncer benigno prostático, cistitis, teniasis, hipercolesterolemia e hiperglucemia.

La semilla de calabaza clasifica como oleaginosa abundante en proteína, grasas poli-insaturadas, fitoesteroles, minerales y vitaminas<sup>(2)</sup>, cuyos valores son similares y en algunos casos superiores a las oleaginosas convencionales utilizadas hoy en la alimentación avícola.

La torta o pasta de la semilla es rica en proteína (54 % de PC), ha sido utilizada en la alimentación de las aves, cerdos y ratas<sup>(8-11)</sup>. No obstante, en las búsquedas bibliográficas realizadas no se encontró información disponible sobre el empleo de esta semilla en la alimentación de las gallinas ponedoras. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento productivo y la calidad del huevo de gallinas ponedoras alimentadas con niveles crecientes de 0, 33, 66 y 100 g/kg de harina de semilla de calabaza, sustituyendo una parte del alimento tradicional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en la Unidad Experimental Avícola del Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. La humedad relativa media fue de 78 %, la temperatura mínima

for thousands of years<sup>(1)</sup>. All pumpkin belongs to the Cucurbitaceae family, and *Cucurbita maxima* is one of the most commonly used species in the Americas. Pumpkin can be grown with minimal inputs, is harvested year round in many countries and produces a large number of seeds<sup>(2,3)</sup>. However, in countries such as Cuba, only the flesh of the fruit is used, and the seeds are discarded. Cuba is the seventh largest pumpkin producer worldwide, with an annual production of over 450,000 t<sup>(4)</sup>, meaning approximately 24,000 t of seed (equal to 943 g/kg DM) are discarded annually<sup>(2)</sup>. This is unfortunate since pumpkin flesh is relatively poor in nutrients compared to the seeds and the oil extracted from them. Indeed, pumpkin seeds are considered to be nutraceuticals, with research describing benefits in benign prostate cancer, cystitis, taeniasis, hypercholesterolemia and hyperglycemia<sup>(5,6,7)</sup>.

Pumpkin seed is classified as an oilseed, with abundant protein, polyunsaturated fats, phytosterols, minerals and vitamins<sup>(2)</sup>. For many of these constituents, pumpkin seeds have contents similar to, and in some cases higher than, conventional oilseeds currently used in poultry feed. Oilseed paste is protein rich (54 % CP) and has been used in poultry, swine and rat feed<sup>(8-11)</sup>. However, we were unable to find studies in the literature on the use of pumpkin seed in diets for laying hens. The present study objective was to evaluate productive performance and egg quality in laying hens fed diets with increasing levels of pumpkin seed in substitution of traditional feed.

## MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out at the Poultry Experimental Unit, Institute of Animal Science, La Habana, Cuba. Climate during the three-month study period was 78 % mean relative humidity, 16.6 °C average minimum temperature and 27.6 °C average maximum temperature.

Five samples of whole dry pumpkin seeds (*Cucurbita maxima*, var. INIVIT C-88) from five lots acquired from the supplier Empresa de Semillas Varias (San Antonio de los Baños, Cuba), were mixed. They were analyzed to determine dry matter, add,

promedio de 16.6 °C y la temperatura máxima promedio de 27.6 °C.

Se colectaron y mezclaron cinco muestras de semillas de calabazas enteras y secas de cinco lotes de la variedad INIVIT C-88, especie *Cucurbita maxima*, adquiridas en la "Empresa de Semillas Varias", San Antonio de los Baños, Cuba. Se les determinó: materia seca, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda<sup>(12)</sup> y proteína verdadera<sup>(13)</sup>, así como la fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, hemicelulosa, celulosa, lignina detergente ácido<sup>(14)</sup> y la fibra dietética<sup>(15)</sup>.

El contenido de aminoácidos se analizó por hidrólisis ácida con HCl 6 N, utilizando un analizador de aminoácidos (modelo Alpha plus)<sup>(16)</sup>; el contenido de minerales se determinó por espectrofotometría de absorción atómica<sup>(17)</sup>. Todos los análisis químicos se desarrollaron por quintuplicado en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), México (Cuadro 1).

crude protein, ether extract, crude fiber<sup>(12)</sup>; true protein<sup>(13)</sup>; neutral detergent fiber, acid detergent fiber, hemicellulose, cellulose, acid detergent lignin<sup>(14)</sup>; and dietary fiber<sup>(15)</sup>. Amino acids content was determined using acid hydrolysis with HCl 6 N in an amino acids analyzer (Alpha plus)<sup>(16)</sup>, and mineral content quantified by atomic absorption spectrophotometry<sup>(17)</sup>. All chemical analyses were run in quintuplicate at the Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Mexico (Table 1). Ground dried pumpkin seed meal (DSM) was included in diets formulated to meet nationally recommended requirements (Unión de Empresas del Centro Avícola Nacional)<sup>(18)</sup>. Four diets were formulated, with progressively higher pumpkin seed inclusion levels (0, 33, 66 and 100 g/kg DSM)(Table 2).

A total of 160 laying hens (White Leghorn, Hybrid L-33) were distributed in a completely random design into four treatments and twenty replicates. The experimental unit was two hens housed in a 40 cm x 40 cm metal cage. Feed was administered at

Cuadro 1. Proteínas, aminoácidos, carbohidratos y minerales de la semilla de calabaza (HSC) INIVIT C-88 (base húmeda)

Table 1. Protein, amino acids, carbohydrates and mineral contents in seeds from pumpkin (*Cucurbita maxima*, var. INIVIT C-88) (fresh base)

Protein and amino acids (g/kg)		Fiber fractions (g/kg)	
Crude protein	317.1 ± 1.44	Crude fiber	162.5 ± 3.44
True protein	302.2 ± 1.07	Dietary fiber	414.7 ± 2.04
Lysine	18.3 ± 0.10	NDF	354.8 ± 1.38
Methionine	6.70 ± 0.09	ADF	269.1 ± 1.03
Cysteine	4.60 ± 0.51	ADL	137.3 ± 0.64
Threonine	17.5 ± 0.22	Hemicellulose	85.7 ± 0.52
Phenylalanine	14.9 ± 0.13		
Histidine	12.5 ± 0.16	Minerals, g/kg	
Arginine	13.6 ± 0.26	Calcium	6.27 ± 0.010
Valine	15.7 ± 0.41	Total phosphorus	1.98 ± 0.011
Serine	16.2 ± 0.51	Magnesium	3.30 ± 0.001
Tyrosine	18.6 ± 0.21	Manganese, mg/kg	57.76 ± 0.01
Glutamic acid	3.2 ± 0.22	Copper, mg/kg	14.68 ± 0.20
Proline	10.8 ± 0.18		
Aspartic acid	70.0 ± 0.79		
Leucine	24.7 ± 0.14		

Means ± standard deviation. (Dry matter= 943±2.26 g/kg, Ash= 47.8±1.30 g/kg, Ether extract= 326.5±1.38 g/kg).

Las dietas se formularon según los requerimientos recomendados por la Unión de Empresas del Centro Avícola Nacional<sup>(18)</sup>. Los tratamientos consistieron en cuatro dietas con 0, 33, 66 y 100 g/kg de HSC. Los ingredientes empleados para la elaboración de cada dieta se muestran en el Cuadro 2.

Un total de 160 gallinas ponedoras de la línea White Leghorn (Híbrido L-33) de 33 semanas de edad (en pleno pico de postura), se ubicaron durante 91 días según un diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos y 20 repeticiones.

La unidad experimental consistió en una jaula metálica de 40 x 40 cm, donde se alojaron dos gallinas/hueco. Las aves recibieron 108 g de alimento/gallina/día. El agua se suministró *ad libitum*, a través de dos nipples/jaula y se ofertó iluminación 16 h/día. El período de adaptación fue de dos semanas<sup>(19)</sup>. Las gallinas no recibieron medicamentos, ni tratamientos veterinarios preventivos o clínicos durante la investigación.

A partir de las 33 semanas de edad y durante 91 días, se determinó el peso inicial y final de las gallinas (g/ave), porcentaje de postura, conversión masal (kg/kg), viabilidad (%), peso del huevo (g), grosor de la cáscara del huevo (mm), altura de la clara densa del huevo (mm), altura de la yema de huevo (mm), unidades Haugh y porcentaje de huevos cascados, en fáfara y rotos (%).

El peso vivo se determinó con una balanza digital (Sartorio modelo BL 1500, con precisión de  $\pm 1.5$  g). Para calcular el peso del huevo, se recolectaron 30 huevos semanales por tratamiento y se pesaron con una balanza digital con precisión de  $\pm 0.1$  g.

En las semanas 33, 39 y 44 se colectaron 30 huevos, el grosor de la cáscara del huevo (polo medio, superior e inferior) se midió con un tornillo micrométrico de precisión de  $\pm 0.01$  mm; la superficie de la cáscara se determinó empleando la fórmula<sup>(20)</sup>  $\text{Área} = 3.9782W^{0.7056}$ , donde W = peso del huevo (g).

La altura de la clara densa y la altura de la yema del huevo se determinaron con un calibrador de altura, FHK, con una precisión de  $\pm 0.01$  mm. Las

108 g feed/hen/d, water offered *ad libitum* through two nipples per cage, and a 16:8 (light:dark) photoperiod provided. After a 2-wk adaptation period<sup>(19)</sup>, the 91-d experimental period was begun, when the hens were 33 wk of age (peak laying period). No medication, preventative or clinical veterinary treatment was administered to the birds in this period. During the experimental period, measurements were taken of initial and final weight (g/bird), laying rate (%), mass conversion (kg/kg), viability (%), egg weight (g), shell thickness (mm),

Cuadro 2. Composición y aporte de las dietas (g/kg) (base húmeda)

Table 2. Composition (g/kg) and constituent contribution of diets containing increasing levels of dry pumpkin seed meal (DSM) (fresh base)

	DSM inclusion levels (g/kg)			
	0	33	66	100
Corn meal	577.7	580.3	574.9	562.7
Soybean meal	280.0	252.0	228.9	207.2
Vegetable oil	11.90	4.50	0	0
DSM	0	33	66	100
Dicalcium phosphate	19.0	19.0	19.0	19.0
Calcium carbonate	86.5	86.2	86.0	85.8
BHT (Antioxidant)	0.1	0.1	0.1	0.1
DL-Methionine	1.9	1.9	2.0	2.1
L-Lysine	0.4	0.5	0.6	0.6
Common salt	2.5	2.5	2.5	2.5
Vitamin Premix <sup>1</sup>	10	10	10	10
Zeolite	10	10	10	10
Contributions (g/kg)				
ME (MJ/kg DM)	11.63	11.63	11.63	11.65
Crude protein	170	170	170	170
Lysine	8	8	8	8
Methionine	4.7	4.7	5	5.1
Methionine + cysteine	7.3	7.3	7.3	7.3
Calcium	38	38	38	38
Available P	4	4	4	4
Ether extract	22	33	44	54
Crude fiber	32	36	40	43

<sup>1</sup>Each kg contains: vit. A,  $10 \times 10^6$  I.U.; vit.D<sub>3</sub>,  $1.5 \times 10^6$  I.U.; vit. K<sub>3</sub>, 2100 mg; vit. E, 10000 mg; thiamin, 800 mg; riboflavin, 2500 mg; pantothenic acid, 10000 mg; pyridoxine, 2500 mg; folic acid, 250 mg; biotin, 100 mg; vit. B<sub>12</sub>, 15 mg; manganese, 60000 mg; copper, 8000 mg; iron, 60000 mg; zinc, 50000 mg; selenium, 200 mg; iodine, 800 mg; cobalt, 500 mg; Antioxidant 100%, 125000 mg.

unidades Haugh fueron calculadas mediante la fórmula:  $UH = 100 \log (H + 7.75 - 1.5W^{0.37})$ ; donde UH son las unidades Haugh, H es la altura de la clara y W es el peso del huevo<sup>(21)</sup>.

Para la evaluación sensorial de la yema y el albumen, los huevos fueron temperados en baño de agua a 50 °C por espacio de 3.25 min, sin sal. El panel de evaluación se conformó de 16 catadores con condiciones de salud excelentes y edades entre 20 y 55 años. Los criterios de calidad sensorial encuestados fueron olor (agradable, rancio u otros), sabor (normal, rancio y extraño) y textura (suave o fibrosa)<sup>(22)</sup>.

Los datos se analizaron mediante el módulo de estadística descriptiva, y se determinó la media y la desviación estándar; en los casos necesarios se utilizó la prueba de comparación múltiple de medias de Duncan<sup>(23)</sup>. Se empleó el paquete estadístico: SPSS versión 12.0. La viabilidad se analizó por comparación de proporciones en el software estadístico COMPARPRO 1.0<sup>(24)</sup>.

## RESULTADOS

En el Cuadro 3 se observa que la viabilidad, porcentaje de postura, peso del huevo, conversión masal, huevos rotos, en fáfara y cascados, y el peso inicial de las gallinas ponedoras no mostraron diferencias significativas entre tratamientos. No obstante, el peso final de las gallinas ponedoras se incrementó significativamente ( $P < 0.05$ ) en los tratamientos con 66 y 100 g/kg de inclusión de HSC.

Las gallinas ponedoras consumieron todo el alimento ofertado, y se encontró un mayor consumo de extracto etéreo y fibra cruda para los tratamientos que consumieron la harina.

La interacción de semanas de muestreo x niveles de HSC para la calidad externa e interna del huevo no mostró diferencias significativas (datos no mostrados). Asimismo, los tratamientos no indicaron diferencias ( $P > 0.05$ ) para ningún indicador en todas las semanas experimentales.

No obstante, el peso del huevo, superficie de la cáscara, altura de la clara densa, altura de la yema

albumin height (mm), yolk height (mm), Haugh units, and cracked, shell-less and broken eggs (%). Live weight was measured with a digital scale (Sartorio, BL 1500,  $\pm 1.5$  g accuracy). Egg weight was calculated by collecting thirty eggs a week per treatment, and weighing them on a digital scale ( $\pm 0.1$  g accuracy). Eggs (30) were also collected at wk 33, 39 and 44 to measure shell thickness (median, superior and inferior pole) with a micrometer screw ( $\pm 0.01$  mm precision), and calculate shell surface with the formula:  $area = 3.9782W^{0.7056}$ , where W = egg weight (g)<sup>(20)</sup>. Albumin and yolk height were measured with a height calibrator (FHK;  $\pm 0.01$  mm precision). The Haugh units were calculated with the formula  $HU = 100 \log (H + 7.75 - 1.5W^{0.37})$ ; where HU are the Haugh units, H is albumin height and W is egg weight<sup>(21)</sup>.

Sensory evaluation of the yolk and white was done after warming in a water bath at 50 °C for 3.25 min without salt. The panel consisted of 16 tasters in excellent health and between the ages of 20 and 55 yr of age. Sensory criteria were aroma (agreeable, rancid and others), flavor (normal, rancid and strange) and texture (soft or fibrous)<sup>(22)</sup>.

Data were analyzed with descriptive statistics, the mean and standard deviation calculated, and a Duncan multiple comparison of means run<sup>(23)</sup>. Statistical analyses were done with the SPSS ver. 12.0 program, and viability analyzed by proportion comparison using the COMPARPRO ver. 1.0 program<sup>(24)</sup>.

## RESULTS

No differences ( $P > 0.05$ ) were observed between treatments for viability, laying rate, egg weight, mass conversion, cracked, shell-less and broken eggs, and initial weight (Table 3). Final weight was higher ( $P < 0.05$ ) in the 66 and 100 g/kg DSM treatments. All offered feed was eaten by the hens, with ether extract and crude fiber intake being higher ( $P < 0.05$ ) in the DSM treatments.

No differences in external and internal egg quality were found in the sampling weeks x DSM levels

Cuadro 3. Productividad de gallinas ponedoras alimentadas con niveles de harina de semilla de calabaza  
 Table 3. Productivity of laying hens fed diets containing increasing levels of dried pumpkin seed meal (DSM)

	DSM inclusion levels (g/kg)				SE
	0	33	66	100	
Viability, %	100.0	100.0	100.0	97.50	1.24
Laying rate, %	83.13	82.47	83.48	82.55	0.68
Feed intake, g/bird/d	108	108	108	108	—
ME intake, MJ/bird/d	1.26	1.26	1.26	1.26	—
Crude protein intake, g/bird/d	18.36	18.36	18.36	18.36	—
Ca intake, g/bird/d	4.10	4.10	4.10	4.10	—
Available P intake, g/bird/d	0.43	0.43	0.43	0.43	—
Ether extract intake, g/bird/d	2.38	3.56	4.75	5.83	—
Crude fiber intake, g/bird/d	3.46	3.89	4.32	4.64	—
Mass conversion, kg/kg	2.11	2.14	2.10	2.14	0.15
Egg weight, g	61.2	61.1	60.9	61.1	0.30
Initial weight, g	1542	1541	1531	1522	7
Final weight, g	1582 <sup>b</sup>	1581 <sup>b</sup>	1643 <sup>a</sup>	1645 <sup>a</sup>	20
Cracked eggs, %	0.10±0.05	0.07±0.52	0.07±0.52	0.10±0.52	
Broken eggs, %	0.07±0.41	0.03±0.41	0.07±0.40	0.03±0.41	
Shell-less eggs, %	0.07±0.03	0.03±0.03	0.03±0.03	0.03±0.03	

SE= standard error.

<sup>ab</sup> Means with different superscripts in the same row are different ( $P<0.05$ ).

y las unidades Haugh se incrementaron con la edad de las gallinas, contrario al grosor de la cáscara que disminuyó en las semanas 39 y 44, respectivamente (Cuadro 4).

La calidad sensorial evaluada (sabor, olor y textura), con relación al huevo (yema y albumen) no mostrará diferencias entre tratamientos. Los 16 catadores en forma unánime; opinaron que en todos los tratamientos el sabor fue normal, el olor agradable y la textura suave.

## DISCUSIÓN

La inocuidad de la semilla de calabaza seca, era un aspecto importante a definir en el presente trabajo; en dos estudios realizados en México<sup>(8,9)</sup> se determinó que al incluir la pasta de semilla de calabaza con 54 % de PC, en las dietas de pollos de engorda, las aves manifestaban síntomas nerviosos similares a la deficiencia de tiamina (B<sub>1</sub>)

interaction (data not shown); in fact, none of the treatments exhibited differences ( $P>0.05$ ) for any indicator during the experimental period.

Egg weight, shell surface, albumin height, yolk height and Haugh units increased with hen age, while shell thickness decreased at wk 39 and 44 (Table 4).

The sensory evaluation produced no differences between treatments for the tested parameters (flavor, aroma and texture) and egg elements (yolk and white). The 16 tasters were of the view unanimously that in all treatments, the flavor was normal, pleasant aroma and soft texture.

## DISCUSSION

A principal focus of the present study was to determine the innocuity of DSM in diets for laying hens. In two previous studies in Mexico<sup>(8,9)</sup>,

PRODUCTIVIDAD DE GALLINAS ALIMENTADAS CON SEMILLA DE CALABAZA

Cuadro 4. Indicadores de calidad externa e interna del huevo de gallinas ponedoras alimentadas con niveles de harina de semilla de calabaza (DSM)

Table 4. External and internal quality indicators for eggs from laying hens fed diets containing increasing levels of dried pumpkin seed meal (DSM)

	Weeks	DSM inclusion levels (%)				SE
		0	3.3	6.6	10	
Egg weight(g)	33	52.41	52.10	51.71	51.80	0.91
	39	57.40	57.70	58.20	58.10	1.16
	44	61.42	61.43	61.12	61.22	1.59
Shell thickness (mm)	33	0.45	0.43	0.44	0.44	0.01
	39	0.43	0.44	0.45	0.43	0.02
	44	0.39	0.40	0.40	0.39	0.01
Shell surface (cm <sup>2</sup> )	33	64.99	64.72	64.38	64.47	0.91
	39	69.24	69.52	70.20	69.84	1.21
	44	73.53	74.28	73.25	73.44	0.92
Albumin height (mm)	33	6.60	6.47	6.78	6.91	0.25
	39	8.21	8.10	8.13	8.23	0.14
	44	8.31	8.41	8.33	8.36	0.15
Yolk height (mm)	33	7.17	7.18	7.18	7.17	0.09
	39	9.72	9.53	9.71	9.70	0.17
	44	10.90	10.91	10.90	10.08	0.07
Haugh units	33	83.16	82.57	84.92	85.09	1.45
	39	91.52	91.26	91.00	91.38	0.53
	44	92.02	92.65	92.55	92.49	0.39

SE= Standard error.

o piridoxina (B<sub>6</sub>), aunque posteriormente<sup>(25)</sup> comprobaron que la inclusión de hasta un 20 % de pasta de semilla de calabaza en las dietas para gallinas ponedoras no provocó los citados síntomas.

Otros autores<sup>(10,11)</sup>, trabajando con ratas y cerdos, no apreciaron insuficiencias de vitaminas al incluir altos porcentajes de pasta de semilla de calabaza en sus dietas. En el presente trabajo quedó demostrado que el uso de 33, 66 y 100 g/kg de HSC no daña la salud y no provoca morbilidad y mortalidad en las gallinas ponedoras. Hay que destacar que los pollos de engorda son más susceptibles al déficit de vitaminas hidrosolubles y que los requerimientos son superiores a las gallinas ponedoras<sup>(26)</sup>.

La inclusión de HSC en los alimentos de las gallinas ponedoras promovió una buena producción de

pumpkin seed paste was included at 54 % CP in diets for broilers, which consequently exhibited nervous symptoms similar to those caused by thiamin (B1) or pyridoxine (B6) deficiency. A later study showed that inclusion of 20 % pumpkin seed paste in diets for laying hens caused none of these symptoms. The different responses in laying hens and broilers were probably due to the fact that broilers are more susceptible to deficits in hydrosoluble vitamins since their requirements are higher than those of laying hens<sup>(26)</sup>. In studies using rats and pigs, no vitamin deficiencies were observed when high percentages of pumpkin seed paste were included in the diets<sup>(10,11)</sup>. This coincides with the present results in which inclusion of 33, 66 and 100 g/kg DSM had no negative effects, caused no morbidity and no mortality in laying hens.

huevo, la cual osciló entre 82.47 a 83.48 % de postura. Esto puede deberse a que la proteína cruda (317 g/kg) y el extracto etéreo (326 g/kg) son similares, y en algunos casos superiores a otras semillas oleaginosas tales como soya, girasol, cártamo, algodón, chía, lino y colza<sup>(3)</sup>.

Al emplear en las dietas de gallinas ponedoras pasta de semilla de calabaza, el porcentaje de postura descendió en relación al testigo en 12.6 %<sup>(25)</sup>; esto podría explicarse debido a que la composición química y la calidad nutritiva de la pasta de semilla de calabaza son inferiores cuando se comparan con la semilla de calabaza integral rica en nutrientes esenciales<sup>(27)</sup>.

El peso del huevo fue similar entre tratamientos, alcanzando los estándares de las gallinas ponedoras White Leghorn (Híbrido L-33)<sup>(18)</sup>, demostrando un adecuado suministro de proteína y aminoácidos para producir un buen tamaño del huevo<sup>(28)</sup>. Considerando que la metionina es el aminoácido esencial más importante en el peso del huevo<sup>(29)</sup>; la semilla de calabaza contiene 6.70 g/kg de metionina, el cual es superior al valor encontrado en la pasta de soya como alimento proteico de referencia<sup>(26)</sup>.

En el presente trabajo hubo una baja incidencia de huevos inservibles (rotos, fáfara y cascados). La cantidad de iones calcio depositada en el huevo es el factor primordial en la disminución de los huevos no aptos<sup>(30)</sup>. Algunos autores<sup>(31,32)</sup> obtuvieron resultados similares en los huevos no aptos, al referir un consumo de calcio de 4 a 4.10 g de calcio/ave/día.

Por otro lado el peso final de las gallinas se incrementó con 66 y 100 g/kg de inclusión de HSC. Esto puede deberse a la calidad de la grasa presente en la semilla de calabaza, como la mayor aportadora de energía (9.4 kcal/g) y también a la efectividad de la digestión de esta grasa insaturada<sup>(27)</sup> en las gallinas ponedoras, sobre todo si se tiene en cuenta que el consumo de nutrientes no varió en correspondencia al nivel de inclusión, excepto para el consumo de extracto etéreo (2.38 a 5.33 g/ave/día) y fibra cruda (3.46 a 4.64 g/ave/día).

Inclusion of the DSM in feed for laying hens promoted good egg production (82.47 to 83.48 %). This may be attributed to the similar levels of crude protein and ether extract in the DSM; these levels are higher than in other oilseeds such as soy, sunflower, safflower, cotton, chia, canola and flax<sup>(3)</sup>. Laying rate decreased 12.6 % in the treatments containing DSM compared to the control<sup>(25)</sup>, probably because pumpkin seed paste chemical composition and nutritional quality are inferior compared to whole pumpkin seed, which is rich in essential nutrients<sup>(27)</sup>.

Egg weight did not differ between treatments and met standards for White Leghorn (Hybrid L-33) laying hens<sup>(18)</sup>. Clearly, protein and amino acid content in the diets was sufficient to support production of good-sized eggs<sup>(28)</sup>. Methionine is the most vital amino acid in maintaining adequate egg weight<sup>(29)</sup>. In the present study, pumpkin seed methionine content was 6.70 g/kg, higher than reported for soybean meal as a reference feed protein<sup>(26)</sup>.

The percentage of unusable eggs (i.e. cracked, shell-less and broken) was low in the present study, indicating the diets resulted in sufficient deposition of calcium ions in the shell, the main factor affecting unusable egg frequency<sup>(30)</sup>. Similar results have been reported with calcium intake ranging from 4 to 4.10 g Ca/bird/d<sup>(31,32)</sup>.

Final weight increased in the hens fed the diets containing 66 and 100 g/kg DSM. This was most likely due to the high quality of fats in pumpkin seed (this constituent contributes the highest amount of energy - 9.4 kcal/g), and the efficient digestion of unsaturated fats in laying hens<sup>(27)</sup>. The fact that only ether extract (2.38 to 5.33 g/bird/d) and crude fiber (3.46 to 4.64 g/bird/d) intake levels varied according to DSM inclusion level supports the possibility that fat quality was responsible for the observed increases in final weight. In contrast, final weight was reported to decrease in a study of laying hens fed diets including 10 % flax seed<sup>(33)</sup>, an effect probably caused by the antinutritional factor content (e.g. cyanogenic compounds, estrogen factors and vitamin inhibitors) in flax seed<sup>(34)</sup>, which can lower final weight in hens. This also confirmed the



No obstante, en un trabajo donde se incluyó un 10 % de semilla de lino en las dietas de gallinas ponedoras, hubo una disminución del peso corporal<sup>(33)</sup>; la semilla de lino presenta factores anti nutricionales tales como, cianogénicos, factores de estrógenos e inhibidores de vitamina<sup>(34)</sup>, lo que pudo deprimir el peso final de las gallinas. Esto demuestra que la composición química determina la respuesta productiva de las aves en postura.

El grosor de la cáscara del huevo en los tratamientos se mantuvo sin variación, justificando un adecuado consumo de calcio, fósforo y otros minerales en las dietas con HSC. No obstante, el grosor de la cáscara disminuyó con la edad, coincidiendo con autores al emplear dietas ricas en lípidos<sup>(31,35)</sup>.

El nivel de albumen se incrementó proporcionalmente con el peso del huevo. Al parecer, la uniformidad entre las alturas de la clara densa, obtenidas en los diferentes tratamientos, se debió a que las dietas de gallinas ponedoras aportaron apropiadamente los aminoácidos esenciales. Puesto que la cantidad de la clara depende del equilibrio en aminoácidos que aporta la proteína de la dieta. Una deficiencia en lisina o metionina reduce el peso del albumen y disminuye la concentración de todos los aminoácidos libres<sup>(36)</sup>.

La altura de la yema no mostró variaciones con la inclusión de HSC en el alimento; pero sí se observó que a medida que avanzaba la edad de la gallinas, las yemas eran más prominentes; esto pudo estar determinado por el contenido de grasa en las dietas, aunque también influyen factores como peso del huevo, etapa productiva, edad y raza<sup>(29)</sup>. Cabe señalar que a pesar de un mayor contenido de grasa en las dietas con HSC, la altura de la yema no se incrementó.

Las unidades Haugh no se alteraron con la inclusión de HSC. Este indicador de calidad mostró que los valores del peso del huevo y la altura de la clara densa son óptimos para todos los tratamientos evaluados con o sin HSC. En este sentido, se han reportado valores similares a los presentados en el trabajo con 90 a 91.2 UH al añadir en las dietas, sebo, aceite de lino y aceite de pescado<sup>(37)</sup>.

fact that diet chemical composition clearly affects productive response in laying hens.

Egg shell thickness did not vary between treatments, suggesting that the DSM diets contained sufficient calcium, phosphorus and other minerals. Shell thickness did decrease with hen age, which coincides with reports for hens fed lipid-rich diets<sup>(31,35)</sup>.

Albumin content increased proportionally to egg weight. Apparently, the hens provided enough essential amino acids, resulting in uniform albumin height among the treatments. Albumin size depends on the amino acids balance in the dietary protein, and deficiencies in lysine and/or methionine can reduce albumin weight and diminish the concentration of all free amino acids<sup>(36)</sup>.

Yolk height was unaffected by inclusion of DSM in the diets, although yolks became more prominent as the hens aged. This may be due to dietary fat content, although factors such as egg weight, hen productive stage, age and breed can also effect this parameter<sup>(29)</sup>. Of note is that yolk height did not increase in the DSM treatments, despite their higher fat content.

Inclusion of DSM had no effect on the Haugh units. The values for this egg quality indicator showed that the egg weight and albumin height values were optimum in all the treatments. This coincides with the 90 to 91.2 HU values reported in a study in which tallow, flax seed oil and fish oil were added to laying hen diets<sup>(37)</sup>.

Pumpkin seed has high fat content, which can accelerate lipid peroxidation in cell membranes and cause disagreeable flavors and odors<sup>(38)</sup>. However, in the present study no differences were observed in sensory quality (i.e. flavor, aroma and texture) in either the egg yolks or whites. This contrasts with the results of a study in which flax seed (rich in linoleic acid) was added to diets for laying hens, resulting in a disagreeable odor in the eggs<sup>(39)</sup>. Presence of this odor could have been caused by an absence of antioxidants to counteract oxidative action, as well as a high concentration of long-chain fatty acids, which are more susceptible to

A pesar de que la semilla de calabaza posee un alto contenido de grasa, lo que puede acelerar la peroxidación lípida en las membranas celulares, y provocar sabores desagradables al consumidor<sup>(38)</sup>; no se apreciaron diferencias en la calidad sensorial (sabor, olor y textura) de la yema y del albúmen de los huevos.

En un estudio se observó<sup>(39)</sup> que al incluir semilla de lino (rica en ácido linoléico) en las dietas de gallinas ponedoras, se obtuvieron huevos con sabores desagradables. Esto pudo deberse a la ausencia de antioxidantes que contrarresten la acción oxidativa, y también a la alta concentración de ácidos grasos de cadena larga, que son más susceptibles a la degradación oxidativa. Otros autores<sup>(22)</sup> encontraron olores y sabores desagradables (a pescado) en el huevo de las gallinas alimentadas con una dieta conteniendo 1.25 % de aceite de pescado. En este trabajo, la HSC (rica en lípidos) incluida hasta 100 g/kg en las dietas de gallinas ponedoras no deteriora la calidad sensorial de los huevos.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los resultados obtenidos en la composición química de la harina de semilla de calabaza y la prueba de campo con gallinas ponedoras, permiten recomendar la utilización de hasta 100 g/kg de harina de semilla de calabaza en las dietas, sustituyendo totalmente el aceite vegetal, y en forma parcial la torta de soya, sin alterar el comportamiento productivo y la calidad del huevo.

## LITERATURA CITADA

1. Ruiz E, Sigarrosa A, Cruz J. Análisis dialéctico del rendimiento y sus principales componentes en variedades de calabaza. *Rev Biol* 2004;(18):1-9.
2. Martínez Y, Valdivié M, LaO A L, Leyva E. Potencialidades de la semilla de calabaza como alimento para monogástricos. *Revista ACPA* 2008;(4):20-22.
3. Ayerza R, Coates W. Dietary levels of Chia: Influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition for two strains of hens. *Poult Sci* 2000;(78):724-739.
4. FAO. Producción mundial de calabaza. 2007. Disponible: [www.fao.org/ag/esp/revista/0512sp1](http://www.fao.org/ag/esp/revista/0512sp1): consultado abril, 2009.
5. Carbin B, Larsson B, Lindahl O. Treatment of benign prostatic hyperplasia with phytosterols. *Brit J Urol* 1990;(66):639-641.

oxidative degradation. Other authors found that feeding laying hens diets containing 1.25 % fish oil resulted in eggs with a disagreeable fishy odor and flavor<sup>(22)</sup>. In contrast, no deterioration in egg quality was observed, even with the 100 g/kg DSM treatment.

## CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

Based on the chemical composition analysis of pumpkin seed meal, and the field trial use of dried pumpkin seed meal can be recommended in diets for laying hens at up to a 100 g/kg concentration, in total substitution of vegetable oil and partial substitution of soybean meal, without altering hen productive performance or egg quality.

*End of english version*

6. Hong H, Kim C, Kim J, Maeng W. Effects of pumpkin seed extracted oil supplementation on benign prostatic hyperplasia patients. *The FASEB J* 2008;(22):1108-1114.
7. Kerise A, Maxine D, Teran C, Gardne M, Simon O. Influence of Pumpkin seed oil supplementation on cardiovascular and histological outcomes in female non-ovariectomized and ovariectomized rats. *The FASEB J* 2008;(22):719-731.
8. Bressani R, Arroyave R. Nutritive value of pumpkin seed-essential amino acid content and protein value of pumpkin. *J Sci Food Agric* 1963;(11):29-33.
9. Rossainz M, Enrique V, Ávila G, Aguilera Y. Valor alimenticio de la pasta de semilla de calabaza para pollos en crecimiento. *Téc Pecu Méx* 1976;(31):32-38.
10. Manjarrez B, Enrique F, Ávila E, Shimada S. Sustitución de la pasta de soya por pasta de semilla de calabaza en raciones para abasto [resumen]. Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG, 1976:52-59.
11. Bernal S, Guadalupe L, Martínez R, Ávila G, Carrasco B, Shimada L. Aminoácidos limitantes de la pasta de semilla de calabaza para ratas. *Téc Pecu Méx* 1977;(32):91-92.
12. AOAC. Official methods of analysis, Ass. Off. Agric. Chem, 16<sup>th</sup> ed. Washington. DC, USA. 1995.
13. Bernstein C, Koetzle F, Williams J, Meyer F, Brice D, Rodgers R, Kennard O, *et al.* The protein data bank: A computer-based archival file for macromolecular structures. *J Mol Biol* 1977;(11):535-542.
14. Van Soest RJ. Nutritional ecology of the ruminant, 2<sup>nd</sup> ed. Ithaca, NY: Cornell Univ Press; 1994.
15. Multon JL. Analysis of food constituents. New York: Edit. Wiley-VCH, 1997.
16. Lazarus W. Purification of plant extracts for ion exchange chromatography of free aminoacids. *J Chromatography* 1973;(87):167-178.

## PRODUCTIVIDAD DE GALLINAS ALIMENTADAS CON SEMILLA DE CALABAZA

17. NOM. Norma Oficial Mexicana 117-SSA1. Método para la determinación de minerales en alimentos, agua potable y purificada por espectrofotometría de absorción atómica. 1994.
18. Unión de Empresas del Centro Avícola Nacional (UECAN). Aportes de los piensos avícolas. Ed. por Ministerio de la Agricultura. 2007.
19. Caballero A. Folleto de diseño experimental. Instituto Nacional de Ciencia Agrícola, La Habana, Cuba. 1982.
20. Carter TC. The hens egg: Estimation of shell superficial area and egg volume using measurement of fresh egg weight and breadth alone or in combination. *Brist Poult Sci* 1975;(16):541-543.
21. Haugh R. The Haugh unit for measuring egg quality. *US Egg Poultry Mag* 1937;(43):522-555.
22. Schreiner M, Hulan H, Razzazi-Fazeli E, Böhm J, Iben C. Feeding laying hens seal blubber oil: Effects on egg yolk incorporation, stereospecific distribution of omega-3 fatty acids, and sensory aspects. *Poult Sci* 2004;(83):462-473.
23. Duncan B. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics* 1955;11:1.
24. Font P, Noda A, Aida C, Torres C, Verena T, Herrera V, Magaly, et al. COMPARPRO, Comparación de proporciones. Versión:1.0. 2007.
25. Rangel JL, Enrique F, Bezares A, Ávila E. Efecto del reemplazo de pasta de soya en dietas para aves. *Téc Pecu Méx* 1978;(35):29-36.
26. National Research Council, (NRC). Nutrient Requirements of Poultry. 9th edition, Washington DC. Academy Press. Newsletter, 1994.
27. Martínez Y. Caracterización química de la harina de semilla de calabaza y su empleo de la alimentación de gallinas ponedoras y pollos de ceba. [tesis doctoral]. Cuba, Habana, Instituto de Ciencias Animal; 2009.
28. Grobas S, Mateos G. Influencia de la nutrición sobre la composición nutricional del Huevo. XII Curso de Especialización FEDNA. 1996.
29. Grobas S, Mendez J, Lázaro R, C de Blas, Mateo G. Influence of source and percentage of fat added to diet on performance and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens. *Poult Sci* 2001;(80):1171-1179.
30. Mateos G. Factores que influyen en la calidad del huevo. Nutrición y alimentación de ponedoras. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH). 2000.
31. Rodríguez R. Valor nutritivo de la harina de caña proteica y su en la alimentación de gallinas ponedoras White Leghorn L 33. [tesis doctoral]. Cuba, Habana, Instituto de Ciencia Animal; 2007.
32. Safaa H, Serrano M, Valencia D, Arbe X, Jiménez-Moreno E, Lázaro R, Mateos G. Effects of the levels of methionine, linoleic acid, and added fat in the diet on productive performance and egg quality of Brown laying hens in the late phase of production. *Poult Sci* 2008;(87):1595-1602.
33. Novak C, Scheideler S. Long-term effects of feeding flaxseed-based diets. Egg production parameters, components, and eggshell quality in two strains of laying hens. *Poult Sci* 2001 (80):1480-1489.
34. FAO. Factores antinutricionales endógenos presentes en los productos alimenticios vegetales. 2005 [en línea]. <http://www.fao.org/docrep/003/T0700S/T0700S06.htm>. Consultado 5 Dic, 2009.
35. Roland DA. The ability of young and old hens to change shell deposition with sudden neutral drastic changes in egg size. *Poult Sci* 1980;(59):924-926.
36. Whitehead CC. Plasma Estrogen and the regulation of egg weight in laying hens by dietary fats. *Anim Feed Sci Technol* 1995;(53):91-98.
37. Tallarico N, Sirri E, Meluzzi A, Pittia P, Parpinello GP, Franchini A. Effect of dietary vegetable lipids on functional and sensory properties of chicken eggs. *Ital J Food Sci* 2002;(14):159-165.
38. González-Esquerra R, Leeson S. Effect of feeding hens regular or deodorized menhaden oil on production parameters, yolk fatty acid profile, and sensory quality of eggs. *Poult Sci* 2000;(79):1597-1602.
39. Leeson S, Caston L, Mclaurin T. Organoleptic evaluation of eggs produced by laying hens fed diets containing graded levels of flaxseed and vitamin E. *Poult Sci* 1998;(77):1436-1440.

