

DESARROLLO E HISTOLOGÍA TESTICULAR DE GALLOS LIGEROS SOMETIDOS A DIFERENTES FOTOPERIODOS

Development and testicular histology of light roosters submitted to different photoperiods

M.P. Maciel, J.T.B. Cotta, L.D.S. Murgas*, F.P. Lima, D. Lima, E.S. Gonçalves, A.L.N. Alvarenga.

Departamentos de Zootecnia y Medicina Veterinaria-Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, 37200.000, Brasil.

* Autor para correspondencia: Luis David Solis Murgas. E-mail: lsmurgas@ufla.br

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar los efectos de diferentes fotoperiodos sobre el desarrollo e histología testicular de gallos ligeros, se realizó un experimento en el Departamento de Zootecnia de la Universidade Federal de Lavras. Fueron utilizados 48 gallos de linaje Lohman LSL con una edad inicial de 133 días, que fueron sometidos a 3 tratamientos: 1) Fotoperiodo Continuo; 2) Fotoperiodo Intermitente y 3) Fotoperiodo Natural Creciente. Tanto la asignación a los grupos experimentales como la selección de los animales para sacrificio se realizó aleatoriamente. El periodo experimental tuvo una duración de 140 días. Las variables evaluadas fueron el peso corporal y peso de los testículos derecho (PTD) e izquierdo (PTE), en gramos; el diámetro de los tubos seminíferos (DTS) y el espesor del epitelio seminífero (EES), en micrómetros, y, el número de células de los tubos seminíferos (células de Sertoli, espermatogonias y espermátides redondeadas). Las diferencias entre tratamientos fueron comparadas por la prueba Scott Knott (5%). No se observó efecto significativo ($P > 0,05$) de los fotoperiodos y de las edades sobre las variables evaluadas, con excepción del número de espermatogonias que presentó aumento inicial y disminución progresiva a partir de los 203 días. Se concluyó que los fotoperiodos continuo, intermitente o natural creciente pueden ser utilizados para los gallos ligeros durante el periodo reproductivo, sin perjuicio para los parámetros testiculares. Debido al menor gasto energético que puede ser conseguido con la utilización del fotoperiodo natural creciente, este sería el programa más recomendado para los machos, con relación a las características testiculares.

Palabras clave: Luz intermitente, luz natural, luz continua, reproducción, parámetros testiculares, gallos.

ABSTRACT

With the objective of evaluating the effects of different photoperiods on the development and testicular histology of light roosters, an experiment was conducted in the Animal Science Department of the Federal University of Lavras. 48 roosters of the Lohman LSL strain, aged 133 days were utilized, they themselves being submitted to 3 treatments: 1) Continuous photoperiod, 2) Intermittent photoperiod and 3) Growing natural photoperiod. The animals were allotted to a completely randomized experimental design, with 4 replicates being the experimental unit being made up of 1 animal. The experimental period lasted 140 days and the variables evaluated were: body weight, weights of the right (PTD) and left testes (PTE), in grams; diameter of the seminiferous tubules (DTS) and thickness of the seminiferous epithelium (EES), in micrometers and number of cells of the seminiferous tubules (Sertoli cells, rounded spermatogonia and spermatids). The differences between treatments were compared by the Scott Knott test (5%). A significant effect was not observed ($P>0.05$) of the photoperiods and the ages on the analyzed variable, with exception of the number of spermatogonia that had presented quadratic variation with the increase of the age of the animals. It follows that photoperiods continuous, intermittent or growing natural light can be utilized for creation of light roosters over the reproductive period without harming the testicular parameters. Had to the lesser expense of energy that can be gotten with the use of Growing natural photoperiod, this would be the recommended program more for the males, with regard to the testicular characteristics.

Key words: Intermittent light, natural light, continuous light, reproduction, testicular parameters, light roosters.

INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva de los machos está determinada genéticamente y por factores como temperatura, humedad, manejo alimentario, peso corporal y fotoperiodo. Diversos autores han realizado estudios sobre efectos del fotoperiodo en aves de postura evaluando la influencia de los mismos sobre la producción de huevos. Sin embargo, son raros los datos sobre los efectos del fotoperiodo en la producción espermática o aptitud reproductiva de machos.

Un aspecto interesante de la fisiología de las aves es que no necesitan estar sometidas a días largos continuamente, o sea, no hay necesidad de ofertarles luz diaria constantemente. Ese fenómeno es denominado de “día subjetivo”, en el cual, aves adultas en producción ignoran periodos de oscuridad insertados (incluidos) entre las 14 y 16 h estimulantes. El día subjetivo designa el periodo en el cual el ave permanece fisiológicamente activa, incluso en oscuridad. En este periodo, los animales ignoran la fase oscura pero no reducen la producción y la secreción de hormonas relacionadas a la reproducción.

Este fenómeno permite el uso de fotoperiodos intermitentes para aves, los cuales pueden ser definidos como aquellos formados por más de un periodo de luz y de oscuridad en un ciclo de 24 h (Cotta, 2002). Existen pocos trabajos en la literatura científica que se refieran a los efectos del fotoperiodo intermitente sobre las características reproductivas de los machos.

Reviere (1980), desarrolló un experimento con gallos sometiendo los mismos a un fotoperiodo principal de 7 h de luz y otro secundario de 1 h, ocurriendo éste entre 10 y 20 horas después del fotoperiodo principal, con el objetivo de localizar el momento de mayor fotosensibilidad del ave. Este autor observó que el desarrollo testicular evaluado fue máximo cuando el fotoperiodo corto (1 h de luz) se aplicó 11 h después del fotoperiodo principal (7 h de luz). El interés práctico esencial de este tipo de programa de iluminación es permitir economizar en energía eléctrica, evitando la iluminación para los gallos en un momento “menos eficiente”.

Siopes & Wilson (1980), registraron que el desarrollo testicular máximo en codornices ocurrió de 12 a 16 h después de la luminosidad (fase

fotosensible). Estos autores compararon fotoperiodos intermitentes: 14 h luz: 10 h oscuridad frente a períodos de oscuridad con una duración que variaba de 30 minutos a 10 h. No se observaron diferencias sobre el desarrollo testicular.

En trabajos con pavos sexualmente maduros, Bacon et al. (1994), aplicaron programas intermitentes (8 ciclos de 1 h de luz y 2 h de oscuridad) y continuos (14 h de luz y 10 h de oscuridad). No se observó diferencias entre los programas con respecto al peso corporal, peso testicular, producción de semen y secreción de LH y testosterona.

Según estudios de Sauveur (1998), el gallo presenta una fase de fotosensibilidad máxima a lo largo de 24 horas y responde conforme la noción de "día subjetivo". Una duración de 8 horas de luz por día, dividida en dos periodos de 4 horas de oscuridad separados 8 horas, es tan eficiente para el crecimiento testicular como los fotoperiodos continuos.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar los efectos de diferentes fotoperiodos sobre el desarrollo e histología testicular en gallos de linaje ligero.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en el Sector de Avicultura del Departamento de Zootecnia y en el Laboratorio de Fisiología Animal del Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), Estado de Minas Gerais-Brazil. El periodo experimental tuvo una duración de 140 días, extendiéndose de julio a diciembre de 2004. Se utilizó una nave dividida en 3 compartimientos por una lona de plástico negra, de tal forma que se permitió evaluar el paso de luz de un ambiente a otro. Fueron utilizados 48 gallos de linaje Lohmann LSL con una edad inicial de 133 días, alojados individualmente en cada jaula. La ración suministrada durante el periodo experimental, fue a base de maíz y harina de soja, conteniendo 14,8% de proteína bruta, 2900 Kcal de energía

metabolizable, 1% de calcio y 0.37% de fósforo disponible. En dos de los ambientes experimentales fueron instalados relojes con el objetivo de encender y apagar las luces en los horarios determinados. En el ambiente con iluminación intermitente, acoplado al reloj, fue instalado un temporizador que permitió apagar las luces 15 segundos después de haber sido encendidas.

Bajo fotoperiodo decreciente, las aves de un día de edad fueron criadas sobre el suelo hasta la edad de 84 días y después transferidas para jaulas. Después de los 133 días de edad las aves recibieron diferentes regimenes luminosos iniciándose el periodo experimental.

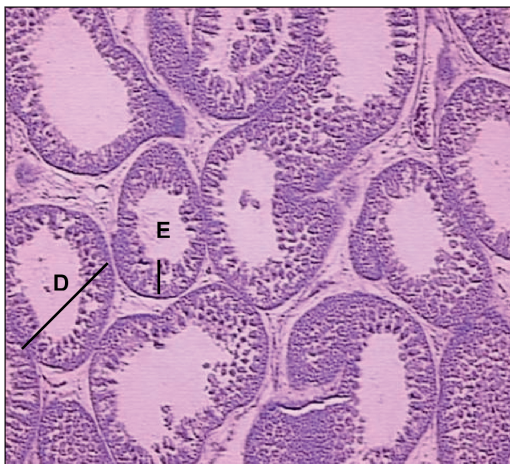
A partir de esta edad, se realizó la estimulación diaria de los gallos para la recolección de semen, con el objetivo de que se adaptaran a este procedimiento en la fase experimental (adaptación a los recolectores y posterior colecta y liberación de semen con facilidad). La estimulación fue realizada por el método de masaje abdominal, conforme Burrows & Quinn (1937).

Los tratamientos utilizados fueron: 1) Fotoperiodo continuo: las lámparas fueron encendidas a las 4 a.m. y apagadas con la aurora, encendidas nuevamente al anochecer y apagadas a las 7 p.m., totalizando un fotoperiodo continuo de 15 horas; 2) Fotoperiodo intermitente: las lámparas fueron encendidas a las 4 a.m. y apagadas 15 segundos después. Eran nuevamente encendidas a las 6 p.m. y apagadas a las 7 p.m. Evocándose el concepto de "día subjetivo", fue suministrado, así, un fotoperiodo intermitente de 15 horas; 3) Fotoperiodo natural: solamente fue suministrada iluminación natural creciente.

Cada 35 días se sacrificaron 4 animales por tratamiento para verificar el peso corporal y testicular, en gramos. Para la evaluación histológica, fueron extraídos fragmentos de parénquima testicular, y fijados en líquido de Bouin. Estos fragmentos fueron, de esta manera, deshidratados en concentraciones crecientes de alcohol etílico, diafanizados en xilol e incluidos en parafina, de acuerdo con metodología de rutina. Se hizo microtomía de los bloques, obteniéndose

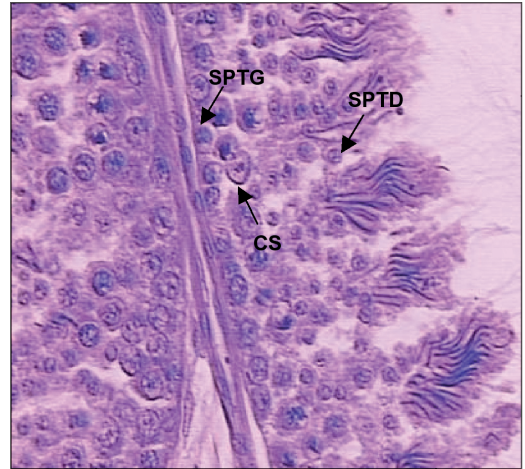
cortes de 5µm de espesor que fueron posteriormente coloreados con hematoxilina-eosina de acuerdo con la técnica de Behmer et al. (1976). En el análisis histológico de los testículos, para cada animal, se midieron 10 secciones transversales de tubos seminíferos, escogidos al azar, presentando contornos lo más circular posible, considerándose siempre su menor diámetro. Las variables histológicas evaluadas fueron: diámetro de los tubos seminíferos (DTS), espesor del epitelio seminífero (EES), desde la membrana basal hasta el borde luminal (Figura 1); población de células de los tubos seminíferos, estimada por el recuento de núcleos de espermatogonias, de espermátides redondeadas y células de Sertoli (Figura 2). Las espermatogonias y las espermátides redondeadas fueron escogidas por ser células del primer y último estadio, respectivamente, de la formación de los espermatozoides. La diferenciación de una espermatogonia de un espermatozocito de I orden o una espermátide de un espermatozocito de II orden fue de acuerdo con el tamaño. La célula de Sertoli fue escogida

Figura 1: **Histología testicular de los gallos destacando los tubos seminíferos (TS).**



D=medición del diámetro del TS; E= espesor del epitelio seminífero (20x).

Figura 2: **Corte histológico de un tubo seminífero en testículo de gallos con las células.**



SPTG= espermatogonia; SPTD= espermátide redondeada; CS= célula de Sertoli (40X).

por ser una célula que interviene en la formación de los espermatozoides, proporcionando un ambiente propicio para su desarrollo. El análisis histométrico fue ejecutado con ocular milimétrica Zeiss calibrada en aumento de 40x.

Tanto la asignación a los grupos experimentales como la selección de los animales para sacrificio se realizó de forma aleatoria. Fue propuesto un diseño en grupos subdivididos, considerándose las evaluaciones en las diferentes edades como medidas en el tiempo (subgrupos). Los resultados obtenidos fueron sometidos al análisis de variancia, de acuerdo al siguiente modelo.

$Y_{ijk} = \mu + F_i + e(a)_{ji} + I_k + (FI)_{ik} + e_{ijk}$, en que:

Y_{ijk} : observación de los animales sometidos al fotoperiodo i , repetición j , edad k ;

μ : media;

F_i : efecto del fotoperiodo i , en que $i = 1, 2, 3$;

$e(a)_{ji}$: error asociado a cada observación del grupo;

I_k : efecto de la edad k , en que $k = 1, 2, 3, 4$;

(FI)_{ik}: efecto de la interacción del fotoperiodo *i* con la edad *k*;

eijk: error asociado a cada observación del subgrupo.

programa computacional SISVAR, descrito por Ferreira (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las diferencias entre tratamientos fueron comparadas por la prueba Scott Knott a 5%, utilizándose para el análisis de los datos, el

Los promedios de peso corporal al sacrificio y pesos testiculares, en gramos, están presentados en la Cuadro 1. No se apreciaron diferen-

Cuadro 1. **Peso corporal, peso del testículo derecho (PTD), peso del testículo izquierdo (PTE) y peso testicular total (PTD + PTE), de gallos ligeros, de acuerdo con el fotoperiodo y edad.**

Fotoperiodo	Edad (días)				PROMEDIO
	168	203	238	273	
Peso corporal (g)					
Continuo	1740,5	1825,0	1841,0	1846,8	1813,3
Intermitente	1738,0	1807,8	1821,8	1834,0	1800,4
Natural	1739,0	1810,3	1822,3	1828,3	1800,0
MEDIA	1739,2	1814,4	1828,4	1836,4	
CV grupo	2,76%				
CV subgrupo	5,92%				
PTD (g)					
Continuo	12,12	12,71	12,75	12,71	12,57
Intermitente	12,00	12,60	12,58	12,58	12,44
Natural	12,08	12,57	12,55	12,48	12,42
MEDIA	12,07	12,63	12,63	12,59	
CV grupo	11,38%				
CV subgrupo	11,34%				
PTE (g)					
Continuo	13,35	13,51	13,47	13,40	13,43
Intermitente	13,21	13,70	13,49	13,15	13,39
Natural	13,28	13,51	13,37	13,21	13,34
MEDIA	13,28	13,57	13,44	13,25	
CV grupo	9,52%				
CV subgrupo	11,96%				
PTD + PTE (g)					
Continuo	25,47	26,22	26,21	26,11	26,00
Intermitente	25,21	26,30	26,08	25,73	25,83
Natural	25,35	26,07	25,92	25,69	25,76
MEDIA	25,34	26,20	26,07	25,84	
CV grupo ¹	6,43%				
CV subgrupo ²	8,93%				

CV: coeficiente de variación;

^{1,2} Los términos grupo y subgrupo se refieren a los fotoperiodos y edades evaluados estadísticamente.

cias significativas ($P>0,05$) en la media de las variables analizadas entre fotoperiodos y con la edad. No se observó interacción entre estas dos fuentes de variación.

De acuerdo a estos resultados, Siopes & Wilson (1980), Bacon et al. (1994) y Sauveur (1998), tampoco observaron diferencias en el desarrollo testicular de codornices, pavos y gallos con diferentes tipos de iluminación..

Como puede observarse, no hubo variación en los parámetros estudiados para las diferentes edades de evaluación. Adjanohoun (1994), afirma que el peso de los testículos en estas aves aumenta muy rápidamente, de forma exponencial, hasta la edad de 168 días. A partir de esta edad, el peso de los testículos permanece prácticamente igual, comenzando entonces, a decrecer a partir de los 280 días de edad. No obstante Casanovas (2004), afirma que solamente a los 210 días de edad termina el desarrollo de los

testículos y que, a partir de los 280 días, comienza su regresión.

Existe una elevada correlación positiva entre el peso corporal y el peso testicular en las aves (Etches, 1996). Como no fueron encontradas diferencias significativas entre los pesos de los animales, probablemente esto se reflejó también en la ausencia de variación de los pesos testiculares.

Los datos de histología testicular están presentados en las Cuadros 2 y 3. El diámetro de los tubos seminíferos (DTS) y el espesor del epitelio seminífero (EES), en micrómetros, no fueron influidos ($P>0,05$) por los fotoperiodos, ni por las edades. No hubo interacción entre programas de iluminación y edades sobre estas variables.

El número de células de Sertoli y de espermátides redondeadas se mantuvo estadísticamente igual ($P>0,05$), siendo independiente

Cuadro 2. Diámetro de los tubos seminíferos (DTS) y espesor del epitelio seminífero (EES) de gallos ligeros, de acuerdo con el fotoperiodo y la edad.

Fotoperíodo	Edad (días)				PROMEDIO
	168	203	238	273	
DTS (μm)					
Continuo	261,3	270,9	268,3	266,3	266,7
Intermitente	270,6	279,9	260,5	247,4	264,6
Natural	265,5	263,1	258,8	254,5	260,5
MEDIA	265,8	271,3	262,5	256,1	
CV grupo	20,65%				
CV subgrupo	17,58%				
EES (μm)					
Continuo	89,3	98,4	88,4	86,3	90,6
Intermitente	86,8	95,2	85,1	86,3	88,4
Natural	85,3	93,9	86,8	82,1	87,0
MEDIA	87,1	95,8	86,8	84,9	
CV grupo	13,82%				
CV subgrupo	12,65%				

CV: coeficiente de variación.

Cuadro 3. Número de células de Sertoli, espermatogonias y espermátides redondeadas por tubo seminífero de gallos ligeros, de acuerdo con el fotoperiodo y la edad.

Fotoperíodo	Edad (días)				Media
	168	203	238	273	
Células de Sertoli (n)					
Continuo	10,85	12,31	12,00	11,50	11,67
Intermitente	10,98	11,89	11,75	11,61	11,56
Natural	10,80	12,01 11,57		11,58	11,49
MEDIA	10,88	12,07	11,77	11,56	
CV grupo	15,71%				
CV subgrupo	11,94%				
Espermatogonias (n)					
Continuo	22,45	27,73	26,43	25,00	25,40
Intermitente	22,38	27,82	25,31	25,00	25,13
Natural	21,81	28,81	26,50	23,14	25,07
Promedio¹	22,21	28,12	26,08	24,38	
CV grupo	14,48%				
CV subgrupo	15,17%				
Espermátides redondeadas (n)					
Continuo	45,50	51,01	49,00	49,20	48,68
Intermitente	45,38	49,20	51,70	49,00	48,65
Natural	44,68	48,60	47,51	47,00	47,12
Promedio	45,19	49,60	49,40	48,40	
CV grupo	13,55%				
CV subgrupo	8,85%				

¹ Efecto cuadrático ($P < 0,05$);

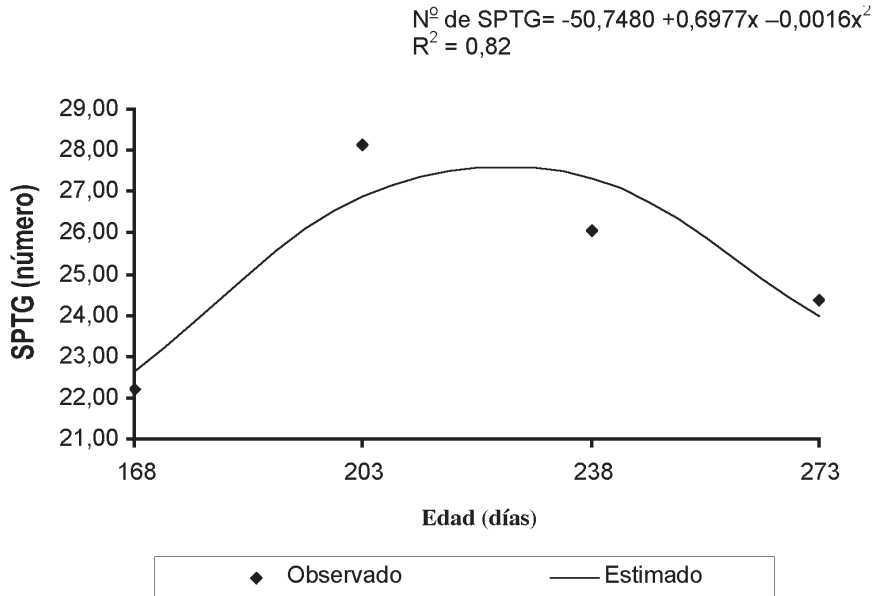
CV: coeficiente de variación.

del tipo de fotoperiodo y de la edad (Cuadro 3). Solamente hubo influencia de la edad sobre el número de espermatogonias ($P < 0,05$). Según Etches (1996) y Baraldi Artoni et al. (1999), el peso testicular tiene relación significativa con la actividad espermatogénica (proliferación celular). Esta actividad está determinada por el aumento en el diámetro de los tubos seminíferos y en el espesor del epitelio seminífero. Para el presente experimento, ninguno de los

tratamientos testados influyó significativamente sobre el número de células, lo que, probablemente, se reflejó en la constancia de las medidas histológicas y, consecuentemente, en los pesos testiculares.

Con respecto a las edades (Figura 3), se observó un comportamiento cuadrático en el número de espermatogonias independiente del fotoperiodo utilizado. La media del número de espermatogonias aumentó entre los 168 y 203

Figura 3: **Número de espermatogonias (SPTG) de los tubos seminíferos de gallos ligeros, en las diferentes edades (días).**



días y disminuyó progresivamente a partir de entonces. Sin embargo, a pesar de que la edad influyó en el comportamiento de esta variable, eso no reflejó cambios a lo largo del tiempo para las demás variables (DTS, EES, espermátides y pesos testiculares).

El número de animales usado en este experimento pudo comprometer las variables analizadas. Fue realizado un teste de covariables pero no se encontró significancia ya que los datos iniciales no presentaron diferencias y los animales tenían el mismo peso inicial.

Como puede ser observado, las características testiculares evaluadas no se alteraron con la utilización de los diferentes fotoperíodos, lo que puede justificar que se recomiende la utilización de cualquiera de ellos para los gallos en el período de 168 a 203 días. Debido a la economía de energía que puede ser conseguida con

utilización del fotoperíodo natural creciente, este sería el programa más recomendado para los machos, con relación a las características testiculares.

HALLAZGOS PRINCIPALES Y CONCLUSIÓN

1. Los fotoperíodos continuo, intermitente y natural creciente no afectaron el peso corporal, peso de los testículos derecho e izquierdo (PTE), diámetro de los tubos seminíferos, espesor del epitelio seminífero y del número de células de los tubos seminíferos (células de Sertoli, espermatogonias y espermátides redondeadas).

2. En el intervalo de edad estudiado (168 a 273 días) no hubo alteración de las variables analizadas, con excepción del número de esper-

matogonias que presentó aumento inicial y disminución progresiva a partir de los 203 días.

3. Los fotoperiodos continuo, intermitente o natural creciente pueden ser utilizados para los gallos ligeros durante el periodo reproductivo, sin prejuicio para los parámetros testiculares. Debido al menor gasto de energía que puede ser conseguido con la utilización del fotoperíodo natural creciente, este sería el programa más recomendado para los machos, con relación a las características testiculares.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidade Federal de Lavras y a los Departamentos de Zootecnia y Medicina Veterinaria, por el apoyo y oportunidad de realización de este trabajo; a la Granja Planalto por el suministro de las aves utilizadas en el experimento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADJANOHOON, E. 1994. Fertilidade relacionada aos machos. Fisiologia da reprodução de aves. Campinas: Apinco, p. 107-115.
- BACON, W.L.; LONG, D.W.; KURIMA, K.; CHAPMAN, D.P.; BURKE, W.H. 1994. Coordinate pattern of secretion of luteinizing hormone and testosterone in mature male turkeys under continuous and intermittent photoperiods. Poultry Science, Champaign, v. 73, p. 864-870.
- BARALDI ARTONI, S.M.; ORSI, A.M.; CARVALHO, T.L.L.; VICENTINI, C.A.; STEFANINI, M.A. 1999. Seasonal morphology of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*) testis. Anatomy, Histology and Embryology, v. 28, p. 217-220.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; NETO, A.G.F. 1976. Manual de técnicas para histología normal e patológica. São Paulo: Edart. 346 p.
- BURROWS, W.H.; QUINN, J.P. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. Poultry Science, Champaign, v. 16, p. 19-24.
- CASANOVAS, P. 2004. Aspectos gerais do manejo para melhorar a fertilidade dos machos. In: CONFERÊNCIA APINCO 2004 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. Santos. Anais. Santos: Apinco, p. 41-62.
- COTTA, J.T.B. 2002. Galinha: produção de ovos. Viçosa: Aprenda Fácil, 270 p.
- ETCHES, R.J. 1996. Reproducción aviar. Zaragoza: Acribia, 339 p.
- FERREIRA, D.F. 2000. SISVAR Sistema de análise estatística para dados balanceados. Lavras: UFLA/DEX, Software.
- REVIERS, M. 1980. Photoperiodism, testis development and sperm production in the fowl. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION, 9, 1980, Madrid. Proceedings... Madrid, p. 519-526.
- SAUVEUR, B. Fonctionnement testiculaire. In: Reproduction des volailles et production d'oeufs. Paris: INRA Production Animal, 1998, p. 200-208.
- SIOPEP, T.D.; WILSON, W.O., 1980 A circadian rhythm in photosensitivity as the basis for the testicular response of Japanese quail to intermittent light. Poultry Science, Champaign, v. 59, p. 868-873.

