

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSTGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS:

CAMBIOS HORMONALES Y ANATOMO HISTOLÓGICOS DEL
APARATO REPRODUCTOR DE LA GALLINA PONEDORA HY-LINE EN
ESTADO DE CLUEQUÉS

Para optar el Grado Académico de
DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

Gloria Vásquez Sánchez

Asesor:

Dr. Corpus Cerna Cabrera

Cajamarca, Perú

Mayo 2014

COPYRIGHT © 2014 by
GLORIA VÁSQUEZ SÁNCHEZ
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSTGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS APROBADA:

CAMBIOS HORMONALES Y ANATOMO HISTOLÓGICOS DEL
APARATO REPRODUCTOR DE LA GALLINA PONEDORA HY-LINE EN
ESTADO DE CLUEQUÉS

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:
Gloria Vásquez Sánchez

Comité Científico:

Ph. D. Pedro Ortiz Oblitas

Dr. Severino Torrel Pajares

Dr. Manuel Paredes Arana

Dra. Cecilia E. Pajares Acosta

Dr. Corpus Cerna Cabrera
Asesor

Fecha; Cajamarca, Mayo

2014



Universidad Nacional de Cajamarca

Escuela de Post Grado

CAJAMARCA - PERU

PROGRAMA DE DOCTORADO

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

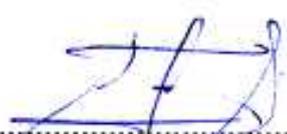
Siendo las once y cincuenta de la mañana del día jueves veintinueve de mayo del año dos mil catorce, reunidos en el auditorio de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Comité Científico Evaluador presidido por el Ph.D. Pedro Ortiz Oblitas; Dr. Severino Torrel Pajares, Dr. Manuel Paredes Arana como integrantes del jurado titular; y en calidad de Asesor, el Dr. Corpus Cerna Cabrera. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Postgrado y el Reglamento del Programa de Doctorado de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada "**CAMBIOS HORMONALES Y ANATOMO HISTOLÓGICOS DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA GALLINA PONEDORA HY LINE EN ESTADO DE CLUEQUÉS**", presentada por la M.Cs. GLORIA VÁSQUEZ SÁNCHEZ con la finalidad de optar el Grado Académico de DOCTOR EN CIENCIAS, Mención CIENCIAS VETERINARIAS.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Comité Científico Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó *A. PROBAR* con la calificación de *A.7 (MAGNA CUM LAUDE)* la mencionada Tesis; en tal virtud, la M.Cs. GLORIA VÁSQUEZ SÁNCHEZ está apta para recibir en ceremonia especial el Diploma que la acredita como DOCTOR EN CIENCIAS, Mención CIENCIAS VETERINARIAS.

Siendo las *1:30* horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Severino Torrel Pajares
Comité Científico Evaluador


.....
Dr. Manuel Paredes Arana
Comité Científico Evaluador


.....
Ph.D. Pedro Ortiz Oblitas
Presidente Comité Científico Evaluador

A:

Mi madre Olinda y mi padre Artidoro, que desde el cielo me conducen y apoyan en cada momento de mi vida

Iván Eduardo mi esposo, por su apoyo incondicional, paciencia y amor a mi persona
Gloria del Milagro, mi hija, con todo mi corazón

Mis hermanos Sara, Saúl, Eduar, Castinaldo, Juana y Edgar, por su gran apoyo

Agradecimiento

Al Doctor Corpus mi asesor y maestro

A mis compañeros de Doctorado

A mis estudiantes de Patología aviar por su apoyo incondicional

INDICE

	Pág.
Resumen	xiv
Abstract	xvi
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Antecedentes	4
2.1.1 Anatomía del aparato reproductor y funcionamiento hormonal en la cluequés	4
2.1.2 Histología de los órganos del aparato reproductor en la cluequés	10
2.1.2.1 Descripción de los diferentes folículos	12
2.2 Base Teórica	16
2.2.1 Situación, estructura y funcionamiento del aparato reproductor de la gallina	16
2.2.1.1 Situación y estructura del aparato reproductor de la gallina	16
El ovario	16
El oviducto	18
2.2.1.2 Funcionamiento del aparato reproductor de la gallina	20
El ovario	20
A. Hormonas gonadotropas hipofisiarias	20
B. Esteroides del ovario	20
C. Gametogénesis	22
D. Vitelogénesis	22
El oviducto	24
Ovulación y oviposición	27

2.2.2 Neuroendocrinología reproductiva	28
2.2.3 Descripción del comportamiento de incubación (CI) o cluequés	30
2.2.3.1 Características conductuales y morfológicas	31
2.2.3.2 Características endocrinológicas	32
2.2.3.3 Estímulos que influyen en la expresión de la cluequés	33

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1 Materiales	34
3.1.1 Aves en estudio	34
3.1.2 Instalaciones de la granja	34
3.1.3 Condiciones atmosféricas	35
3.1.4 Alimentación de las aves	35
3.1.5 Kits utilizados para hormonas	36
3.1.6 Equipos, material de laboratorio y reactivos	37
3.2 Métodos	39
3.2.1 Diseño de contrastación de la hipótesis	39
3.2.2 Biometría	40
3.2.3 Histología	40
3.2.3.1 Técnica de coloración Hematoxilina-Eosina	41
3.2.4 Serología	45
3.2.4.1 Prueba de Ensayo Inmunoenzimático Ligada a Enzimas (ELISA) tipo Sandwich a Doble Anticuerpo	46
3.2.4.2 Prueba de Radioinmunoensayo (RIA) para la determinación cuantitativa in vitro de Estradiol (E ₂) en suero de gallinas	48
3.2.4.3 Prueba de Radioinmunoensayo (RIA) para la determinación cuantitativa in vitro de Progesterona (P ₄) en suero de gallinas	50

3.2.5 Análisis de datos	51
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
4.1 Características corporales externas en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias	52
4.2 Niveles hormonales en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias	58
4.2.1 Estrógenos (Estradiol)	58
4.2.2 Progesterona	61
4.2.3 Prolactina	64
4.3 Descripción anátomo histológica del aparato reproductor de gallinas Hy Line en estado de cluequés y ponedoras	70
4.3.1 El Ovario	72
4.3.1.1 Descripción anatómica del ovario	72
4.3.1.2 Descripción histológica del ovario de gallinas cluecas y ponedoras	80
4.3.1.3 Folículos Ováricos en Diferentes Estadios de Desarrollo	80
A. Ovocito primario o primordial (OP)	80
B. Folículos pre-vitelogénicos (FPV)	82
C. Folículos vitelogénicos blancos (FVB)	82
D. Folículos vitelogénicos amarillos (FVA)	83
E. Folículos pre-ovulatorios (FPOV)	83
F. Folículos post ovulatorio (FPO)	87
G. Folículos atrésicos (FA)	87
4.3.2 El Oviducto	89
4.3.2.1 Descripción anátomo histológica del oviducto	89
A. Infundíbulum	95
B. Magnum	99
C. Istmo	102
D. Útero	106
E. Vagina	109
	112

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1 Conclusiones	112
5.2 Recomendaciones	114
CAPÍTULO VI: LISTA DE REFERENCIAS	115

LISTA DE ILUSTRACIONES

Tablas	Pág.
Tabla 1. Características corporales externas en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias.	54
Tabla 2A. Niveles hormonales en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias.	66
Tabla 2B. Análisis de varianza para los niveles hormonales en las diferentes fases etarias de gallinas cluecas.	67
Tabla 2C. Análisis de varianza para los niveles hormonales en las diferentes fases etarias de gallinas ponedoras.	68
Tabla 3. Peso del ovario, estroma y folículos en gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	76
Tabla 4. Pesos y diámetros de los diferentes folículos en jerarquía de ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	78
Tabla 5. Peso y longitud del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	92
Tabla 6. Medidas del oviducto en gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	94
Gráficos	
Gráfico 1. Niveles hormonales en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias.	69
Gráfico 1A. Niveles de estrógeno en cluecas y ponedoras según sus fases etarias.	69
Gráfico 1B. Niveles de progesterona en cluecas y ponedoras según sus fases etarias.	69
Gráfico 1C. Niveles de prolactina en cluecas y ponedoras según sus fases etarias.	69
Gráfico 2. Peso total de ovario; peso, largo y grosor de estroma en gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	77
Gráfico 2A. Peso total del ovario según fases etarias en cluecas y ponedoras.	77
Gráfico 2B. Peso del estroma ovárico según fases etarias en cluecas y ponedoras.	77

Gráfico 2C. Largo del estroma ovárico según fases etarias en cluecas y ponedoras.	77
Gráfico 2D. Grosor del estroma ovárico según fases etarias en cluecas y ponedoras.	77
Gráfico 3. Peso folicular según jerarquía y fases etarias en ponedoras Hy-Line.	79
Gráfico 4. Longitud del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	93
Gráfico 5. Peso del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.	93

Figuras

Figura 1. Gallina clueca.	55
Figura 2. Gallina ponedora.	55
Figura 3. Longitud de cresta de gallina clueca.	55
Figura 4. Longitud de cresta de gallina ponedora.	55
Figura 5. Grosor de cresta en gallina clueca.	56
Figura 6. Grosor de cresta en gallina ponedora.	56
Figura 7. Altura de cresta en gallina clueca.	56
Figura 8. Altura de cresta en gallina ponedora.	56
Figura 9. Longitud entre apófisis del esternón y apófisis púbicas de gallina clueca.	57
Figura 10. Longitud entre apófisis del esternón y apófisis púbicas en ponedora.	57
Figura 11. Longitud entre apófisis púbicas en gallinas cluecas.	57
Figura 12. Longitud entre apófisis púbicas en ponedoras.	57
Figura 13. Diámetro cloacal en clueca.	57
Figura 14. Diámetro cloacal en ponedora.	57
Figura 15. Aparato reproductor de la gallina clueca en la cavidad corporal.	71
Figura 16. Aparato reproductor de una ponedora en la cavidad corporal.	71
Figura 17. Aparato reproductor de una gallina clueca.	71
Figura 18. Aparato reproductor de una gallina ponedora.	71
Figura 19. Ovario de una gallina clueca.	75
Figura 20. Ovario de una gallina ponedora.	75

Figura 21. Estroma ovárico de gallina ponedora.	81
Figura 22. Folículo primordial de ponedora.	81
Figura 23. Folículo primordial en proceso a Folículo previtelogénico de ponedora.	84
Figura 24. Folículo velogénico blanco de ponedora.	84
Figura 25. Folículo vitelogénico blanco de una ponedora.	85
Figura 26. Folículo vitelogénico amarillo de ponedora.	85
Figura 27. Folículo previtelogénico de una ponedora.	86
Figura 28. Folículo atrésico en ponedora.	86
Figura 29. Estroma ovárico de ponedora.	88
Figura 30. Estroma ovárico de gallina clueca.	88
Figura 31. Morfología del oviducto de gallinas ponedoras.	90
Figura 31A. Infundíbulo de ponedora.	90
Figura 31B. Magnum de ponedora.	90
Figura 31C. Istmo de ponedora.	90
Figura 31D. Útero de ponedora.	90
Figura 31E. Vagina de ponedora.	90
Figura 32. Morfología del oviducto de gallinas cluecas.	91
Figura 32A. Infundíbulo de clueca.	91
Figura 32B. Magnum de clueca.	91
Figura 32C. Istmo de clueca.	91
Figura 32D. Útero de clueca.	91
Figura 32E. Vagina de clueca.	91
Figura 33. Infundíbulo de ponedoras.	97
Figura 33A. Infundíbulo de ponedora 50 μm .	97
Figura 33B. Infundíbulo de ponedora 10 μm .	97
Figura 33C. Infundíbulo de ponedora 5 μm .	97
Figura 33D. Infundíbulo de ponedora 5 μm .	97
Figura 34. Infundíbulo de cluecas.	98
Figura 34A. Infundíbulo de clueca 50 μm .	98
Figura 34B. Infundíbulo de clueca 10 μm .	98
Figura 34C. Infundíbulo de clueca 10 μm .	98
Figura 34D. Infundíbulo de clueca 5 μm .	98

Figura 35. Magnum de ponedoras.	100
Figura 35A. Magnum de ponedora 50 μm .	100
Figura 35B. Magnum de ponedora 10 μm .	100
Figura 35C. Magnum de ponedora 5 μm .	100
Figura 35D. Magnum de ponedora 5 μm .	100
Figura 36. Magnum de cluecas.	101
Figura 36A. Magnum de clueca 100 μm .	101
Figura 36B. Magnum de clueca 10 μm .	101
Figura 36C. Magnum de clueca 5 μm .	101
Figura 36D. Magnum de clueca 5 μm .	101
Figura 37. Istmo de ponedoras.	104
Figura 37A. Istmo de ponedoras 50 μm .	104
Figura 37B. Istmo de ponedoras 10 μm .	104
Figura 37C. Istmo de ponedoras 10 μm .	104
Figura 37D. Istmo de ponedoras 5 μm .	104
Figura 38. Istmo de cluecas.	105
Figura 38A. Istmo de cluecas 50 μm .	105
Figura 38B. Istmo de cluecas 10 μm .	105
Figura 38C. Istmo de cluecas 5 μm .	105
Figura 38D. Istmo de cluecas 5 μm .	105
Figura 39. Útero de ponedoras.	107
Figura 39A. Útero de ponedoras 100 μm .	107
Figura 39B. Útero de ponedoras 10 μm .	107
Figura 39C. Útero de ponedoras 10 μm .	107
Figura 39D. Útero de ponedoras 5 μm .	107
Figura 40. Útero de cluecas.	108
Figura 40A. Útero de cluecas 100 μm .	108
Figura 40B. Útero de cluecas 50 μm .	108
Figura 40C. Útero de cluecas 10 μm .	108
Figura 40D. Útero de cluecas 5 μm .	108
Figura 41. Vagina de ponedoras.	110
Figura 41A. Vagina de ponedoras 100 μm .	110
Figura 41B. Vagina de ponedoras 50 μm .	110

Figura 41C. Vagina de ponedoras 10 μm .	110
Figura 41D. Vagina de ponedoras 5 μm .	110
Figura 42. Vagina de cluecas.	111
Figura 42A. Vagina de cluecas 100 μm .	111
Figura 42B. Vagina de cluecas 50 μm .	111
Figura 42C. Vagina de cluecas 10 μm .	111
Figura 42D. Vagina de cluecas 5 μm .	111

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar los cambios hormonales y anatómo-histológicos del aparato reproductor de la gallina ponedora Hy-Line en estado de cluequés. Se seleccionó 32 gallinas cluecas y 32 ponedoras de la Agropecuaria “Cárpena”- Lambayeque. Se usó Radioinmunoanálisis (RIA) para determinar estrógenos y progesterona, el ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para prolactina; hematoxilina y eosina (H-E) para la coloración histológica. El intervalo confidencial al 95% de los niveles de estrógenos, progesterona y prolactina en cluecas y ponedoras es de $20.28 < \mu < 118.04$ pg/ml y $163.22 < \mu < 291.88$ pg/ml; $0.05 < \mu < 0.17$ ng/ml y $0.55 < \mu < 2.45$ ng/ml; $26.99 < \mu < 44.80$ ng/ml y $11.96 < \mu < 22.26$ ng/ml; la diferencia existente en las fases etarias es significativa solo en los estrógenos para las cluecas y la prolactina para las ponedoras. Las características corporales externas en gallinas cluecas y ponedoras tienen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$). El peso, largo y grosor del estroma ovárico en cluecas y ponedoras difieren significativamente. Las cluecas tienen 41.81 ± 15.44 folículos vitelogénicos blancos, no tienen folículos vitelogénicos amarillos ni post-ovulatorios; las ponedoras tienen 291.07 ± 40.4 folículos vitelogénicos blancos, 5.6 ± 0.9 folículos postovulatorios y 6.5 ± 1.3 folículos vitelogénicos amarillos en jerarquía con tendencia exponencial. El peso, longitud, diámetro y grosor del infundíbulo, magnum, istmo, útero y vagina mantienen diferencias altamente significativas en cluecas y ponedoras. Microscópicamente, el estroma ovárico de cluecas tiene gran cantidad de folículos con atresia lipoidal. En ponedoras, abundante tejido intersticial, vasos sanguíneos en la zona medular y en la cortical gran cantidad de folículos en desarrollo. El oviducto de ponedoras presenta una capa serosa, una muscular con fibras longitudinales y circulares, una mucosa con pliegues revestidos de epitelio cilíndrico ciliado, células caliciformes y glándulas tubulares en la lámina propia, con abundante tejido conjuntivo laxo, irrigación e inervación. Las cluecas tienen la misma estructura con pliegues muy pequeños con epitelio cilíndrico ciliado, células caliciformes, glándulas tubulares atrofiadas y abundante tejido conectivo denso.

Palabras clave: estrógenos, progesterona, prolactina, gallinas cluecas, cambios anatómo histológicos.

ABSTRACT

The objective of the research was to determine the hormonal and anatomical-histological changes of the reproductive Hy-Line laying hen in broody state apparatus. 32 broody and 32 layer hens of Agricultural "Cárpena" in Lambayeque were selected. Radioimmunoassay (RIA) was used to determine estrogen and progesterone, the immuno-enzyme assay (ELISA) for prolactin; hematoxylin and eosin (H-E) for histological staining. The confidence interval at 95% of estrogen, progesterone and prolactin levels in broody and laying is $20.28 < \mu < 118.04$ pg / ml and $163.22 < \mu < 291.88$ pg / ml; $0.05 < \mu < 0.17$ ng / ml and $0.55 < \mu < 2.45$ ng / ml; $26.99 < \mu < 44.80$ ng / ml and $11.96 < \mu < 22.26$ ng / ml; the difference in the age phases is significant only for estrogen for broody hens and for prolactin for laying hens. The external body characteristics in laying and broody hens have highly significant differences ($P < 0.01$). The weight, length and thickness of the ovarian stroma in broody and laying hens differ significantly. Broody hens have 41.81 ± 15.44 white vitellogenic follicles, do not have yellow vitellogenic or post-ovulatory follicles; layers have 291.07 ± 40.4 white vitellogenic follicles, 5.6 ± 0.9 postovulatory follicles and 6.5 ± 1.3 yellow vitellogenic follicles in hierarchy of exponential trend. The weight, length, diameter and thickness of the infundibulum, magnum, isthmus, uterus and vagina remain highly significant differences in laying and broody. Microscopically, the broody ovarian stroma has lots of follicles with lipoidal atresia. In layers, abundant interstitial tissue, blood vessels in the medulla zone and in the cortical lots of developing follicles. The oviduct of laying layer has a serosa layer, a muscle layer with longitudinal and circular fibers, a mucosal folds lined with ciliated columnar epithelium, goblet cells and tubular glands in the lamina propria, with plenty of loose connective tissue, blood supply and innervation. The broody hens have the same structure with very small folds with ciliated columnar epithelium, goblet cells, atrophied tubular glands and abundant dense connective tissue.

Key words: estrogen, progesterone, prolactin, broody hens, anatomic histological changes.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La conducta de incubación llamada también cluequés o cloquera se refiere al estado conductual y fisiológico que permite a la gallina mantener un ambiente apropiado para el desarrollo embrionario de los huevos. En la crianza de gallinas de postura de huevos para consumo humano es de suma preocupación para el avicultor la presencia de esta conducta en las aves, ya que se presenta durante toda la fase de postura. Las aves muestran estados de cluequés periódicos y repetitivos, generando pérdidas económicas sumamente importantes; porque se correlaciona negativamente con la producción de huevos y los productores gastan sobre el 50% de la mano de obra diaria en intentar prevenir e interrumpirlo (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002, 18-21).

La cluequés es un estado caracterizado por la paralización de la postura en cualquier etapa del ciclo de producción de las gallinas; si no se adopta ninguna medida correctiva, su manifestación aumenta hasta aproximadamente un 10% a 20% de las gallinas y persiste a lo largo del ciclo productivo. Las aves pueden perder sobre el 30% de su peso corporal por el bajo consumo de alimento, consecuentemente hay movilización de las reservas corporales como fuentes de energía y el aparato reproductor experimenta una involución, producto del desequilibrio hormonal, el área abdominal ventral se vuelve edematosa con pérdida de plumas y altamente vascularizada, la cloaca se torna firme y seca y los huesos pelvianos permanecen más juntos; consecuentemente no hay postura de huevos (Klein-Hessling 2008, 11-13).

La manifestación de la conducta de incubación está inducida por las interacciones entre el ambiente, el genotipo y el sistema endocrino de las aves (Klein-Hessling 2008, 11-13); es un carácter dominante y se presenta cuando la crianza de las aves es en piso, la que en la actualidad es la más recomendada por el bienestar del animal. En el Departamento de Lambayeque, año 2012, la población total de gallinas fue de 744,577 (Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos 2012, 48). En la provincia de Chiclayo existen 15 granjas avícolas de postura con una población promedio de 26,800 aves cada una. El 86% de granjas actualmente cría y explota la ponedora Hy-Line, de las cuales el 66.7% lo hace de manera tradicional, es decir en piso (Vásquez Sánchez 2006,71-73), en la que las aves pueden cambiar rápidamente de la condición de ponedoras a cluecas caracterizadas por la regresión del ovario y oviducto, comportamiento de incubación, hiperprolactinemia y falta de postura (Khalil et al. 2009, 523-528).

Toda esta problemática motivó la realización del presente estudio, el cual tuvo como finalidad dar respuesta a la siguiente interrogante principal: ¿Cuáles son los cambios de estrógenos, progesterona y prolactina y anátomo histológicos del aparato reproductor de la gallina ponedora Hy-Line durante el estado de cluequés en la fase productiva?

En gallinas ponedoras tales como las Lohmann Brown, Harco Sex Link, Isa Brown y Hy-Line entre otras, la aplicación de programas de selección genética ha contribuido a la reducción de la incidencia de la cloquera; sin embargo, en la actualidad los productores avícolas deben tomar medidas específicas con el fin de prevenirla o interrumpirla. Los métodos físicos son muy eficaces, pero requieren de tiempo y de una gran especialización del encargado de granja; en éste contexto, los avances farmacológicos e inmunológicos son muy importantes pero ninguno está disponible: así por ejemplo se estudia la prevención de la hiperprolactinemia de las gallinas administrando anticuerpos contra prolactina (Reddy, David y Raju 2006, 156-161).

En vista de la importancia que tiene en la explotación avícola la presentación de la cloquera en la ponedora Hy-Line, prevenirla significa tener un conocimiento profundo de los factores que influyen su presentación, como los de manejo, genética y fisiológicos, así como los perfiles hormonales y las características anátomo histológicas del aparato reproductor de las gallinas, todo esto nos lleva a formular la siguiente hipótesis: durante el estado de cluequés, los perfiles hormonales de estrógenos, progesterona y prolactina y las características anátomo histológicas del aparato reproductor de las ponedoras Hy-Line se alteran de modo significativo en comparación a las de postura normal. Consecuentemente, la presente investigación tuvo como objetivo determinar los perfiles hormonales de estrógenos, progesterona y prolactina e identificar los cambios anátomo histológicos del ovario y oviducto de las gallinas en estado de cluequés durante la fase productiva, en comparación con las gallinas ponedoras.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

2.1.1 Anatomía del Aparato Reproductor y Funcionamiento Hormonal en la Cluequés

El aparato reproductivo de la gallina está compuesto por dos partes esenciales: ovario y oviducto izquierdos, encontrándose atrofiado el órgano del lado derecho. En la formación del huevo intervienen dos estructuras anatómicas diferentes; el ovario, para la yema, y el oviducto, para la clara y la cáscara. La ovulación es la que permite el paso del óvulo al oviducto (Ricaurte Galindo 2006, 1-16).

El ovario de *Patagioenas maculosa* en la etapa de reposo posee forma triangular y se visualiza pequeños folículos de color blanquecino en su superficie, pero a medida que se aproxima la época reproductiva la gónada incrementa el peso y tamaño, adquiriendo un aspecto arracimado por la presencia de cuatro o cinco folículos amarillos de diferentes tamaños (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

El ovario está unido a la cavidad abdominal por los ligamentos mesováricos e irrigado por la arteria ovárica, la que penetra a través del tallo folicular ramificándose en cada uno de los folículos. Las venas que recogen la sangre de la gónada constituyen dos troncos venosos, uno anterior y otro posterior los que desembocan en la vena cava posterior (Altamirano, Bulfon y Bee de Speroni 2009, 61-66).

En el funcionamiento del sistema reproductor del ave intervienen: el hipotálamo, la pituitaria anterior o adenohipófisis, el ovario (jerarquía de folículos), el oviducto (donde se deposita la albúmina, las membranas internas y el cascarón), el hígado (formación de yema) y el sistema óseo (fuente de minerales para la formación de la cáscara del huevo). Cuando la pollita nace, lleva consigo las células “germinales” que tendrá durante su vida productiva; una hembra joven tiene más de un millón de folículos en su ovario, las aves inmaduras no tienen un canal de comunicación organizado entre el hipotálamo, la pituitaria anterior y el ovario.

En la pubertad, esta comunicación se establece y las aves empiezan a reclutar folículos de un depósito de pequeños folículos en el ovario, lo cual conduce a la iniciación de la producción de huevos (Robinson y Renema 1999, 1-6).

Cuando la polla percibe la duración del día, será esto suficiente para iniciar el desarrollo reproductivo (mínimo 11 a 12 horas), la energía lumínica es convertida en impulsos nerviosos en el hipotálamo. Estos mensajes nerviosos estimulan la liberación de la hormona luteinizante (LHRH), la cual viaja una corta distancia en el torrente sanguíneo a la pituitaria anterior; aquí estimula la producción y liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Este proceso no ocurre hasta que el hipotálamo está funcionalmente “maduro” (capaz de responder a la luz y mecanismos de *feedback* hormonales). La madurez hipotalámica en combinación con señales positivas de diversos factores metabólicos es fundamental para que la pollita responda a la estimulación lumínica a las 18 a 23 semanas de edad con madurez sexual (Robinson y Renema 1999,1-6).

La FSH y la LH actúan a nivel del ovario para estimular la producción de folículos, los folículos pequeños producen andrógenos y estrógenos; estas hormonas esteroideas mandan información al hipotálamo para ayudar a regular los niveles hormonales sexuales y para estimular el desarrollo de caracteres sexuales secundarios, esta producción de esteroideas lleva a la transformación de una pollita en gallina. En particular, el oviducto se desarrolla y crece para secretar albúmina, el hígado se vuelve un órgano que metaboliza lípidos produciendo un tipo particular de grasa destinada a la producción de la yema del huevo, los huesos largos se involucran en el metabolismo del calcio, y numerosos cambios se empiezan a percibir en la apariencia del ave. La cresta se desarrolla y enrojece, el ave puede perder algunas plumas primarias y desarrollar un plumaje “prenupcial” y los huesos púbicos se ensanchan para dar paso al huevo; existe mucha variabilidad de esta característica en las diferentes líneas de ponedoras (Mattiello 2009).

El control de la reproducción ocurre en tres niveles: el hipotálamo, la pituitaria y el ovario. El alterar el ambiente hormonal en cualquiera de éstos niveles, mediante cambios en la etapa de consumo de alimento o en el medio ambiente, afectará el funcionamiento de todo el sistema. Terminada la temporada de reproducción, el acortamiento de los días de verano estimula la resorción del tejido gonadal y permite el inicio de la muda (Mattiello 2009).

Hay dos diferentes regiones en la adenohipófisis de la mayor parte de las especies de aves: la región rostral, responde por la producción de prolactina, TSH, y ACTH y la región caudal, responde por la producción de la hormona del crecimiento. Algunas hormonas son producidas en las dos regiones; las gonadotropinas, por ejemplo, han sido encontradas en las dos áreas. La glándula pituitaria también es responsable por la secreción de prolactina en aves, ésta hormona cumple un papel importante tanto en la reproducción como en el metabolismo; en palomas, la prolactina estimula la producción de leche de crianza, adicionalmente en muchas especies de aves se observan altas concentraciones de prolactina durante los períodos de incubación o cluequés (Gutiérrez 1999, 151-174).

Las células que producen la hormona folículo estimulante (FSH) han sido encontradas en la región caudal y cefálica de la hipófisis; éstas están dispuestas en pares, así como también se encuentran separadas (Erdost 2005, 1125-1128).

El inicio de la postura de huevos en pavas se asocia con aumentos en los niveles circulantes de la hormona luteinizante (LH) y esteroides ováricos (progesterona y estradiol) y la conducta de incubación se asocia con la disminución en los niveles plasmáticos de LH y esteroides ováricos, además con los aumentos de la prolactina. Estos aumentos en los niveles de prolactina se encuentran directamente bajo la influencia estimulante del péptido intestinal vaso activo (VIP).

En 1935 se demostró que la prolactina era un factor causal en la inducción de la conducta de incubación en “líneas muy cluecas” de gallinas. El rol de la prolactina durante la conducta de incubación no está todavía claro, pero si se sabe que niveles altos de prolactina son un requisito indispensable para esta conducta, además se asocia a la involución gonadal, afagia y adipisia (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002,18-21).

Factores medioambientales como alta temperatura, luz opaca, iluminación no uniforme, pocas horas de luz, alojamiento en piso, acceso al nidal y presencia de huevos en los nidos, están asociados al problema de la cluequés. Para que una hembra manifieste la conducta de incubación debe alcanzar un umbral de estímulos medioambientales en conjunto con un umbral endocrinológico, los cuales dependen de un trasfondo genético. Las hembras que expresan tal conducta pueden ser más sensibles que otras a los factores estimulantes (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002,18-21).

Niveles altos de Inhibin-B y Prolactin se encuentran en pavas que están incubando y valores bajos en pavas ponedoras; niveles altos de FSH, LH, Estradiol-17-B, Progesterona, y Testosterona se encuentran en ponedoras, mientras valores bajos se encuentran en pavas que están incubando. Estos resultados demuestran claramente la correlación negativa encontrada entre la Inhibin-B y niveles de Prolactina y la gonadotropina y concentraciones hormonales de esteroides durante los diferentes estados reproductivos en las pavas. En contraste, existe una correlación positiva altamente significativa entre las gonadotropinas y las concentraciones de las hormonas esteroides, durante los diferentes estados reproductivos de las pavas (Khalil et al. 2009, 523-528).

La secreción de prolactina en gallinas cluecas se ve facilitada por la presencia de los pollitos y el aumento de las concentraciones de prolactina en plasma mantiene el comportamiento de incubación; en las gallinas que están incubando, la secreción de LH y prolactina puede ser regulada en parte de forma independiente. Además, la secreción de LH también puede ser inhibida por el aumento de prolactina en plasma. La prolactina es generalmente aceptada como crucial para el inicio y el mantenimiento de la cluequés en especies aviares (Jiang et al. 2005, 839-845).

La prolactina (PRL) es una hormona versátil sintetizada y secretada por las células especializadas en la pituitaria anterior de los vertebrados y es una de las hormonas importantes involucradas en la regulación de las hormonas endocrinas y producción de huevos en las aves; para bajar la concentración se ensayó en aves Leghorn una inmunización activa contra prolactina, utilizando anticuerpos contra prolactina (cPRL), a las 17 semanas de edad, seguido de tres dosis de refuerzo. La inmunización fue significativa ($P < 0.01$), disminuyendo la circulación de la concentración de prolactina y las concentraciones de estradiol, progesterona y LH fueron incrementadas significativamente ($P < 0.01$). La producción de huevos estuvo positivamente correlacionada con Estradiol-17 β ($r = 0.42$) progesterona ($r = 0.052$) y LH ($R = 0.75$); mientras que niveles de cPRL estuvieron negativamente correlacionados con la producción de huevos ($r = -0.14$), Estradiol-17 β ($r = -0.25$) Progesterona ($r = -0.32$) y LH ($r = -0.15$). El número total de días de pausa durante el período de producción bajó significativamente ($P < 0.01$) en el grupo inmunizado resultando en un 5.40% incremento en la producción de huevos (Reddy, David y Raju 2006, 156-161).

La reducción de la producción de estradiol por los folículos blancos pequeños, contribuye a bajar los niveles de estrógenos circulantes en las gallinas y por lo tanto iniciación de la regresión ovárica manifestándose el comportamiento de la incubación. (Porter et al. 1991, 581-586).

Así mismo se encontró niveles promedios de prolactina de 7.57 ± 0.96 ng/ml en reproductoras no ponedoras y 4.45 ± 0.66 ng/ml en ponedoras. Los estrógenos E2 de 7.5 ± 3.5 pg/ml en no ponedoras y 301.2 ± 176 pg/ml en ponedoras y la progesterona de 1.8 ± 0.3 Micg/dl en no ponedoras y 2.0 ± 0.5 Micg/dl en ponedoras (Quintana López 2001, 117-123).

En la cloquera existe la involución de los órganos reproductivos, la suspensión de la puesta de huevos, el desprendimiento y reemplazo de las plumas, reducción voluntaria de la ingesta de alimentos (anorexia espontánea) perdiendo aproximadamente el 20% de su peso corporal, debido a la involución de los órganos reproductivos. La prolactina está implicada en el desarrollo de la cluequés y el posterior colapso de la función reproductora; la concentración de prolactina en la sangre aumenta a medida que no hay puesta de huevos. El alto nivel de prolactina reduce la liberación hipotalámica de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y la liberación de la hormona luteinizante (LH) desde la pituitaria, la prolactina también puede inhibir directamente la esteroidogénesis ovárica. En conjunto, estas acciones de prolactina conducen a la involución del ovario y oviducto (Berry 2003, 971-980).

Durante el período de estrés en la muda de las gallinas el peso corporal decrece 26.37%, así como también decrece el peso de los órganos del aparato reproductivo de las aves $P < 0.01$ (Gjorgovska et al. 2008, 19-25).

Es sumamente importante considerar las características que tipifican una buena ponedora: la cresta muy desarrollada y roja brillante; el pico, borde del ojo y patas están despigmentadas; la cloaca está grande, ovalada, despigmentada y húmeda y tiene mayor capacidad abdominal por el gran desarrollo del aparato reproductor. En las gallinas cluecas: la cresta está poco desarrollada, fría y rugosa; el pico, borde del ojo y patas están bien pigmentadas y tienen menor capacidad abdominal producto del escaso o nulo desarrollo del aparato reproductor (Berti de Gesto 2012, 307-309).

2.1.2 Histología de los Órganos del Aparato Reproductor en la Cluequés

Estudios de cambios histológicos y hormonales estacionales en ovarios de perdiz (*Nothura maculosa Tinamidae*, Temminck,) reportan que durante la etapa de reposo sólo se observó folículos primordiales y previtelogénicos, con peso de ovarios de 0.09 ± 0.01 g; durante la etapa de desarrollo se detectaron folículos en desarrollo con signos de vitelogénesis, con peso de ovarios de 0.13 ± 0.01 g; en la etapa reproductiva se encontró máximo desarrollo folicular, con pesos de ovarios de 0.90 ± 0.15 g; en la etapa involutiva se exhibió gran variabilidad folicular con peso de ovarios de 0.18 ± 0.18 gramos. La atresia involutiva se observó en todos los períodos, mientras que la atresia explosiva y los folículos postovulatorios caracterizaron a la etapa reproductiva e involutiva. Glándulas con escasos gránulos de FSH y LH predominó en la etapa de reposo y de desarrollo; glándulas con abundantes gránulos de LH eran abundantes en la zona intermedia y en el lóbulo caudal en la etapa reproductiva e involutiva y escasas células contenían ambos tipos de gránulos. El número de células FSH se incrementó durante la etapa reproductiva y la etapa involutiva (Claver et al. 2008, 353-361).

Midiendo la concentración hormonal en la pared folicular de pequeños folículos ováricos en crecimiento de gansos se encontró que el máximo nivel de P4 fue registrado en los folículos amarillos (P 0.05), en los folículos más pequeños la concentración de P4 fue muy baja. La mayor concentración de estrógenos se encontró en los folículos pequeños blancos, el nivel de estrógenos decrece significativamente con el tamaño folicular (P 0.05). Contrariamente, concentraciones de Andrógenos incrementan significativamente con el incremento del diámetro folicular (P 0.05). El nivel mayor de P4 en las células de la granulosa de folículos amarillos indica que el crecimiento de la capa de la granulosa llega gradualmente a activarse esteroideogénicamente. La pared folicular de los folículos postovulatorios puede sintetizar grandes cantidades de Progesterona y menores cantidades de Andrógenos y Estradiol. El potencial esteroideogénico de las células foliculares fue marcadamente reducido durante el proceso de regresión folicular (Wojtysiak et al. 2005, 91-97).

El examen microscópico del ovario de *Patagioenas maculosa*, permite diferenciar dos zonas bien definidas: una periférica, la corteza ovárica y otra interna o médula. La primera está constituida por tejido conectivo denso y una profusa red de fibras colágenas, en la corteza están los folículos ováricos en diferentes estadios de desarrollo, los postovulatorios y los atrésicos.

En la zona medular se destaca abundante tejido conectivo denso en contacto con la corteza y más laxo con espacios lacunares hacia el interior del ovario con notorios vasos sanguíneos y nervios. La gónada está revestida de una capa densa de células planas con núcleos basófilos denominada epitelio germinal (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

El oviducto de codornas *Nothura maculosa*, está constituido por el infundíbulo, magno, istmo, útero y vagina. En el período de actividad sexual se presenta bien agrandado, con peso medio de 14g., su mayor porción está representada por el magno y la menor por la vagina. Morfológicamente el útero es el único segmento que difiere de las gallinas debido a la presencia de pigmentos que es característica de éstas. La mucosa está constituida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado, células caliciformes y glándulas tubulares apoyadas en la lámina propia; la capa muscular con fibras en varias direcciones y la serosa (Moraes et al. 2007, 146-152).

2.1.2.1 Descripción de los Diferentes Tipos de Folículos (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49)

1: Ovocitos primarios o primordiales (OP). Los OP son estructuras pequeñas (60 a 100 μm) y redondeadas, dispuestas en forma de cordones. Están constituidos por el ovocito o célula germinal y las células foliculares. El núcleo ovocitario presenta un prominente nucléolo y los cromosomas en configuración diplotene o *lampbrush*. Una capa de células aplanadas rodea a los OP constituyendo el estrato folicular o de la granulosa, mientras que las envolturas tecales están ausentes.

2: Folículos en desarrollo (FD). La maduración folicular está acompañada de modificaciones en el ovocito, las células foliculares y el tejido conjuntivo. A medida que los FD aumentan de tamaño, la capa simple de células granulosas, originan por sucesivas mitosis, un epitelio estratificado que junto a las envolturas tecales interna y externa constituyen la pared folicular. Las células de la granulosa o foliculares limitan con la capa perivitelina del ovoplasma y forman la zona radiada; están separadas de la teca interna por la lámina basal. En las envolturas tecales, con la tinción tricrómico de Mallory, se identifican fibroblastos, fibrocitos, fibras colágenas, nervios, vasos sanguíneos, diferenciándose una teca interna con numerosos tipos celulares y una externa más colagenizada y gruesa, entre ambas se localizan células de aspecto glandular. De acuerdo al grado de desarrollo que presentan estos folículos se categorizan en:

2a.- Folículos previtelogénicos (FPV). El diámetro de los FPV oscila entre 100 a 1000 μm en palomas. Las células de la granulosa forman un epitelio columnar alto pseudoestratificado y las envolturas tecales están bien delimitadas. En estos folículos es notorio el cuerpo de Balbiani y las granulaciones citoplasmáticas dispuestas en la zona cortical del ovoplasma.

2b.-Folículos vitelogénicos blancos (FVB). Los folículos FVB miden entre 1000 y 2000 μm en palomas. Las células de la granulosa constituyen una capa pluriestratificada y las envolturas tecales están muy bien diferenciadas entre sí. En la zona cortical del ovoplasma, se evidencia la zona radiada por el aspecto estriado, también los gránulos de aspecto lipídico de variadas formas y tamaños.

2c.-Folículos vitelogénicos amarillos (FVA). El cambio de color blanco a amarillo se debe a la incorporación de vitelo pigmentado. El diámetro de los FVA en palomas varía entre los 700 μm y 12 mm. Las células foliculares se comprimen y constituyen una capa de células cuboidales con núcleos muy basófilos, la teca interna se adelgaza y la externa presenta un tejido conectivo ricamente vascularizado. Los cuatro o cinco FVA más grandes, constituyen un ordenamiento morfológico o de tamaño denominado jerarquía folicular. El mayor es el FVA₁, sucesivamente y en orden decreciente se los denomina como FVA₂, FVA₃ y FVA₄.

2d.- Folículos preovulatorios (FPOV). Los FPOV en palomas alcanzan un diámetro entre 13 y 17 mm y presentan un color amarillo intenso. Se observa una notable irrigación en las envolturas foliculares destacándose en el área central una zona más pálida e hipovascular denominada estigma. En esta área folicular, se produce la ruptura de las paredes foliculares durante la ovulación.

2e.- Folículos postovulatorios (FPO). El diámetro de los FPO varía entre 950 y 4800 μm en palomas y su aspecto macroscópico es el de un saco de tejido conectivo con una prominente abertura. Con el microscopio óptico se visualiza en el interior de los mismos, restos de epitelio folicular constituido por abundantes células luteales y escasas granulosas.

3: Folículos atrésicos (FA). La atresia folicular es un proceso degenerativo normal en el ovario y se caracteriza por la desintegración del epitelio folicular, la destrucción del núcleo o cariólisis y la fragmentación citoplasmática. Este proceso afecta a los OP, FPV, FVB y FVA y se visualiza durante todo el ciclo.

3a. - Atresia no bursting. Comprende:

3a.1.- Atresia lipoidal. Los ovocitos primordiales atrésicos (OPA) exhiben un aspecto contraído, el ovoplasma presenta gran cantidad de gotas lipídicas que paulatinamente comprimen al núcleo y las células granulosas comienzan a desprenderse de la membrana basal. Por la apariencia que ofrece el ovocito en esta etapa regresiva recibe el nombre de lipoidal.

3a.2.- Atresia lipoglandular. Este proceso involutivo comprende a los FPV y FVB, entre 1500 y 2000 μm , macroscópicamente comienzan a deformarse, adquieren una tonalidad grisácea y en las envolturas foliculares, la irrigación sanguínea se incrementa notablemente. En el folículo atrésico lipoglandular (FALG), la desorganización citoplasmática, del epitelio folicular, la hiperestratificación y la intensa vacuolización del ovoplasma se evidencian microscópicamente. En un estadio más avanzado de involución, las envolturas tecales invaden al FA, siendo notoria la irrigación del tejido conectivo. Finalmente el FALG disminuye considerablemente su tamaño y en el parénquima ovárico toma el aspecto de una cicatriz de tejido conectivo.

3b.- Atresia bursting. La atresia bursting afecta tanto a los FVA pequeños como a otros de mayores dimensiones. Macroscópicamente los folículos atrésicos bursting (FAB) se colapsan, pierden la forma y el color al inicio del proceso regresivo. El examen de las secciones histológicas coloreadas con Hematoxilina Eosina (H-E) revela que, en los primeros estadios de involución se hipertrofia el epitelio folicular, el cual paulatinamente ocupa la cavidad folicular. En un estadio involutivo más avanzado, las tecas se colagenizan y forman un cordón de aspecto trabeculado y de tonalidad azulada, con la coloración tricrómica de Mallory. Luego se produce la ruptura de la pared folicular formando una apertura simple y pequeña en la superficie folicular, a través de la cual se libera el contenido del ovoplasma al exterior del folículo. Esta masa ectópica cae sobre el estroma del ovario, o en la cavidad peritoneal donde será digerida posteriormente. Finalmente la cavidad central del FAB es ocupado por células muy vacuoladas, similares a las luteales, gran cantidad de fibroblastos y fibras colágenas semejantes a las de la teca externa

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Situación Estructura y Funcionamiento del Aparato Reproductor de la Gallina

El sistema reproductivo de la gallina está compuesto por un ovario y un oviducto, localizados al lado izquierdo de la cavidad abdominal del ave. Durante el período embrionario, el oviducto y el ovario del lado derecho están inicialmente presentes; pero la producción de sustancias inhibitoras del *conducto de Müller* (origen del oviducto) por el ovario, origina la regresión del

ducto derecho y del ovario derecho, mas no del izquierdo. El ducto izquierdo es aparentemente protegido por presentar mayor número de receptores para estrógenos, siendo así más sensible a los estrógenos que el ducto derecho. Aparentemente el estrógeno impide la acción de sustancias inhibitoras del ducto de Müller (Rutz et al. 2007, 307-317).

2.2.1.1 Situación y Estructura del Aparato Reproductor de la Gallina

El ovario

Situación. El Ovario está situado en la parte superior de la cavidad abdominal, debajo de la arteria aorta y de la vena cava posterior. Se apoya sobre el riñón y el pulmón y por la parte inferior sobre el saco aéreo abdominal izquierdo. La glándula suprarrenal izquierda está estrechamente enlazada al ovario y todo se halla suspendido al peritoneo gracias a un pliegue del mismo, que contiene además fibras musculares lisas, vasos sanguíneos y nervios.

El riego arterial del ovario es variable, en la mayoría de los casos la irrigación sanguínea arterial procede de la arteria renal anterior .Existen dos venas ováricas que desembocan en la vena cava superior. La inervación está muy desarrollada especialmente en dirección a los folículos (Pollock y Orosz 2002, 441-474).

Estructura. En el ovario adulto se habla normalmente de *masas celulares* porque no es posible la distinción entre médula y *córtex*, alguna de las cuales contienen los oocitos (zona parenquimatosa) y otro fundamentalmente tejido medular y vasos sanguíneos (zona vascular). El ovario adulto muestra el aspecto de un racimo de uvas, debido a la presencia de 7 a 10 gruesos folículos portadores cada uno de ellos de una yema que se halla en fase de crecimiento acelerado. Junto a ellos se encuentran muchos pequeños folículos (más de 1000, perceptibles por el ojo humano) y también uno o dos folículos vacíos (estadio post ovulatorio), que degeneran rápidamente. En estado maduro y desde el interior al exterior, se distingue: a) una capa perivitelina acelular, segregada por la granulosa b) una capa monocelular, la granulosa c) una capa basal d) teca interna y externa, que contienen células intersticiales e) una capa de tejido conjuntivo (no hay en la zona del estigma, lugar de rotura folicular) f) un epitelio superficial.

Cada folículo está unido al ovario por un pedículo por donde penetran de 2 a 4 arterias que se extienden por la teca externa dividiéndose en conductos más pequeños (arteriolas) los cuales, a través de la teca interna, llegan a formar una densa red capilar alrededor de la capa basal. El sistema venoso está presente en varios niveles, el más profundo se sitúa en la teca interna.

Las fibras nerviosas siguen un trayecto parecido al de las arteriolas. La red capilar es poco densa en la región del estigma o línea de dehiscencia folicular. Esta estructura permite que la ovulación no produzca una hemorragia; sin embargo, si ésta tiene lugar, la yema adquiere una mancha de sangre (Pollock y Orosz 2002, 441-474).

El oviducto

Situación. El oviducto se presenta como un estrecho conducto de color rosa pálido que se extiende desde la región del ovario hasta la cloaca. En el caso de la gallina su longitud total es de 70 cm y su peso cerca de 40 g. Se encuentra suspendido mediante un repliegue ventral del riñón izquierdo. El riego arterial del oviducto realizado a partir del sistema arterial general, tiene lugar a 4 (y en ocasiones a 5) niveles. La inervación de la zona distal está especialmente desarrollada y juega un papel esencial en la progresión del huevo que se está formando y en la oviposición, pero no en el control de las secreciones (Ricaurte Galindo 2006, 1-16; Sauveur 1992, 555-76).

Estructura. Se diferencian 5 partes que en sentido anteroposterior son:

- a.- El Infundíbulo o pabellón: zona muy fina no sujeta al ovario. Tiene forma de embudo y presenta repliegues de la mucosa interna.
- b.- El magnum: es la parte más larga del oviducto. Su pared es muy elástica presenta en su cara interna grandes pliegues cuyo espesor puede llegar a los 5mm. Es la parte del oviducto con una mayor dotación en células y glándulas secretoras de todo tipo. El magnum se diferencia de la zona siguiente por una estrecha banda translúcida carente de glándulas y de repliegue interno.
- c.- El istmo: Comparado con el magnum, presenta un diámetro ligeramente más reducido. Los repliegues de su mucosa también están menos acentuados que los del magnum. Los 4 cm finales que forman el istmo rojo (para diferenciarlo del resto denominado istmo blanco) están muy vascularizados.
- d.- El útero o glándula coquiliaria: Se distingue claramente de las partes anteriores descritas por su forma de bolsa y por el espesor de su pared muscular. Sus repliegues internos presentan una menor continuidad que en los segmentos previos, dado que se encuentran interrumpidos por una serie de protuberancias transversales que forman en conjunto un relieve extraordinariamente complejo.
- e.- La vagina: parte estrecha y muscular, separada del anterior por la conjunción útero vaginal, sirve para que allí el huevo “rote” para salir por el polo agudo en la cloaca, y aquí se produce también la deposición de la última membrana que envolverá a la cáscara: constituida básicamente por lizosima, que sirve de importante barrera frente a la penetración bacteriana.

La pared de la vagina tiene repliegues longitudinales, pero carece de glándulas secretoras, desembocando en la mitad izquierda de la cloaca.

La pared del oviducto está constituida por 7 capas de adentro hacia fuera:

1. el epitelio secretor.-que cubre los repliegues. Está formado por 2 tipos principales de células (ciliadas y caliciformes) que se encuentran en proporciones variables según la parte del oviducto de que se trate.
2. Una capa denominada lámina propia. Contiene glándulas tubulares pluricelulares.
3. Una capa conjuntiva interna.
4. Una capa de fibras musculares circulares
5. Una capa conjuntiva externa
6. Una capa de fibras musculares longitudinales
7. Una capa serosa externa (peritoneo).

Las células epiteliales caliciformes y las glándulas tubulares aseguran en cada nivel, la síntesis y la secreción de los compuestos proteicos específicos (proteínas del albumen, de las fibras de las membranas testáceas, de la trama proteica de la cáscara, de la cutícula). Las células epiteliales ciliadas no tienen actividad de secreción proteica pero probablemente intervengan ayudando a la ascensión de los espermatozoides por el oviducto (Ricaurte Galindo 2006, 1-16; Sauveur 1992, 55-76).

2.2.1.2 Funcionamiento del Aparato Reproductor de la Gallina

El Ovario

A. Las hormonas gonadotropas hipofisarias. Existen tres hormonas: la FSH: (Follicle Stimulating Hormone) cuya misión esencial es la de regular el desarrollo de los folículos del ovario y la actividad secretora de éste; la LH: (Luteinizing Hormone) también responsable del desarrollo del ovario, de la secreción ovárica de hormonas esteroideas y, sobretodo de la ovulación; la Prolactina: que interviene en los fenómenos de la incubación (Sauveur 1992, 48).

B. Esteroides del ovario. El ovario de las aves, bajo el control de las hormonas gonadotropas, segrega estrógenos, andrógenos y progesterona. Esta secreción es por una parte cíclica, de acuerdo con el desarrollo de la ovulación, pero por otra también tiene lugar de forma continua aunque a un nivel más bajo.

Estrógenos. Son sintetizados probablemente, por las células intersticiales de las tecas foliculares. Su síntesis comienza muy pronto en el animal joven y aumenta de forma notable 2 o 3 semanas antes de la madurez sexual para disminuir de nuevo en 2 a 4 días si la gallina deja de poner (muda). En el caso del ave adulta la síntesis estrogénica está asegurada esencialmente por

el segundo y el tercer folículo de mayor tamaño. La capacidad de síntesis de estrógenos del folículo más grande desaparece, casi en su totalidad, la víspera de su ovulación; en estos momentos se especializa en la síntesis de progesterona. Las funciones de los estrógenos son múltiples puesto que participan en el control de todas las fases de formación del huevo; son indispensables para: el crecimiento del oviducto, la síntesis de las proteínas de los lípidos de la yema en el hígado, el transporte sanguíneo de lipoproteínas y calcio y su depósito en el folículo, la síntesis de las proteínas de la clara en el mágnium, la formación del hueso medular y el aumento de la retención fosfo-cálcica al inicio del período de puesta, el comportamiento de oviposición y aparición de los caracteres sexuales secundarios y separación de los huesos pelvianos (Sauveur 1992, 48-50).

Andrógenos. Pueden tener un doble origen; células intersticiales del estroma del ovario y de la teca. Al tratarse de esteroides sexuales típicamente masculinos, su papel en la hembra está bastante limitado, aunque su concurso es indispensable. Actúan estimulando el crecimiento de la cresta y de todos los caracteres sexuales secundarios. En sinergia con los estrógenos estimulan también el desarrollo del oviducto y del hueso medular. Su secreción también es importante en el momento de la muda.

Progesterona. Proviene en su mayor parte de la granulosa del folículo preovulatorio y en menor medida del folículo postovulatorio. Sus funciones son clasificadas en dos categorías:

a. Controla las actividades celulares implicadas en el crecimiento del oviducto (en este caso es agonista de estrógenos y andrógenos) y en la síntesis de ciertas proteínas del albumen: en éste último caso actúa habitualmente en sinergia con los estrógenos.

b. Controla también los ritmos de ovulación y de oviposición actuando sobre la liberación de LH-RH por parte del hipotálamo, sobre las contracciones del útero previas a la oviposición y sobre la conducta de puesta (Mans y Taylor 2008, 83-105; Ricaurte Galindo 2006, 1-16; Sauveur 1992, 48-50).

C. La gametogénesis en la hembra. En el octavo día de vida embrionaria, se inicia la oogénesis; el momento de la transformación de las células germinales primordiales en oogonias. Estas oogonias sufren repetidas divisiones mitóticas, dando lugar a los oocitos primarios, que son células diploides (es decir que contienen $2n$ cromosomas) en situación de profase meiótica.

En el momento de la eclosión el núcleo del oocito se encuentra precisamente en fase de paquitena para evolucionar posterior y lentamente hacia la fase de diplotena en la que permanece meses o incluso años. Únicamente unas 24 horas antes de que se produzca la ovulación es cuando, en el interior del folículo listo para ovular, tiene lugar un proceso de división reduccional dando lugar a un oocito haploide (n cromosomas), denominado oocito secundario (o de segundo orden) y a la expulsión del primer corpúsculo o glóbulo polar. En el caso de las aves, al ser la hembra heterogamética, es en este proceso cuando queda determinado el sexo del futuro embrión y no, como en el caso de los mamíferos, por el gameto masculino. La segunda división de maduración (con la correspondiente expulsión del segundo glóbulo polar) tiene lugar en el Infundíbulum, tras la ovulación y la fecundación (Sauveur 1992, 50).

D. Vitelogénesis, Formación de la Yema de Huevo. La vitelogénesis o deposición del vitelo o yema de huevo en el interior de un folículo ovárico, es un proceso muy largo que se inicia en la pollita cuando es muy joven y concluye justo antes de la ovulación. Para ello el ave recurre exclusivamente a elementos constituyentes aportados por vía sanguínea; éste proceso se divide en tres fases:

1.- Fase inicial de crecimiento lento. Cuando tiene lugar la eclosión de un polluelo hembra, cada uno de los óvulos que están contenidos en su ovario tiene un tamaño comprendido entre 1 y 2 céntimas de milímetro. Éste diámetro se multiplica por cuatro a las 6 semanas y alcanza 1 mm a los 4-5 meses de edad, una vez que se han depositado en dichos óvulos algunas gotitas de lípidos. En este momento cesa el crecimiento común de todos los óvulos; algunos de ellos permanecerán con la dimensión descrita durante meses e incluso años.

2.- Fase intermedia. Después de que un folículo determinado haya sido “elegido” de entre el amplio conjunto de folículos indiferenciados, su tamaño pasa en unos 60 días de 1 a 4 mm. Este incremento es posible por la deposición de, fundamentalmente proteínas, aunque también de algunos lípidos; el conjunto constituye lo que se denomina *vitelo blanco*.

3.- Fase de gran crecimiento. Durante los 8 a 10 días que preceden a la ovulación el crecimiento del óvulo es muy rápido y su peso pasa de unos 200 mg a 15-18 g. La yema formada presenta alteraciones más o menos claras de color, lo cual con una gran probabilidad, se atribuye a capas sintetizadas durante la noche o durante el día. Simultáneamente tiene lugar la migración del oocito

hacia la superficie folicular. En el ovario de una gallina se suelen encontrar simultáneamente, pero con un desfase inicial de un día, del orden de 8 folículos en fase de gran crecimiento.

Los mecanismos reguladores que permiten un control tan refinado de la elección de ciertos folículos y de su posterior crecimiento, no son conocidos. La velocidad con que tiene lugar el crecimiento rápido de la yema cambia también en función de la edad del animal. La yema prácticamente alcanza su peso máximo en el 5 mes de puesta, pero desde el segundo mes el tiempo de maduración queda establecido alrededor de los 9 días, consecuentemente la gallina adquiere a medida que envejece una mayor capacidad para acumular yema en un folículo dado, aunque paralelamente disminuye el número de folículos que en un momento concreto están en evolución (Ricaurte 2006, 1-16; Sauveur 1992, 50-55).

El Oviducto

La captación de la yema por parte del Infundíbulum constituye la primera etapa de la actividad del oviducto. Por término medio unas 24-26 horas más tarde, el huevo totalmente formado, es expulsado a través de la cloaca (oviposición). Desde que la yema entra en el Infundíbulum, hasta la oviposición sucede lo siguiente:

- a . Conclusión de la membrana vitelina en el Infundíbulum.
- b . Secreción de las proteínas del albumen en el magnum.
- c . Secreción de las membranas de la cáscara en el istmo
- d . Hidratación del albumen y secreción de la cáscara en el útero.
- e .Oviposición.

a. Infundíbulum. La actividad secretora del Infundíbulum se limita a asegurar el depósito de la capa externa de la membrana vitelina. Esta capa protege a la yema contra las transferencias de agua procedentes de la clara; en éste segmento la yema permanece aproximadamente 20 minutos.

b. Magnum. Las proteínas de la clara se sintetizan a nivel local por la pared del magnum; las células caliciformes del epitelio son las que segregan la avidina y la ovomucina y las glándulas tubulares segregan la ovoalbúmina y la lisozima; la ovomucina es la responsable de la estructura en gel del albumen denso. La síntesis de las proteínas del albumen depende de los estrógenos y progesterona. El huevo en formación permanece aproximadamente 3 horas y media y según avanza recibe las proteínas acumuladas en las células epiteliales en forma de gránulos de secreción, cuya expulsión a la luz del magnum está garantizada por

las invaginaciones de las membranas celulares que al fusionarse con las de los gránulos, permiten su liberación. La distensión tisular debida al paso de la yema provoca la llegada masiva de todas las proteínas a la luz principal del oviducto. La secreción de agua y de minerales se realiza cuando el huevo en formación abandona el magnum, el albumen tiene una forma de masa espesa gelificada que tiene 15 g de agua, la mitad de su contenido final, la clara posee ya el 80% de su contenido final de sodio; del 60 al 70% de calcio y magnesio, y el 50% del cloro. El potasio es aportado en poca cantidad.

- c. **Istmo.** En éste segmento se inicia la formación de las membranas testáceas e iniciación de la cáscara, el huevo permanece aproximadamente 1 hora y cuarto y se va recubriendo a ritmo constante de fibras proteicas cuyo entrelazado da lugar a las denominadas membranas testáceas o coquiliarias. El material secretado proviene fundamentalmente de las glándulas tubulares, estas sustancias en contacto con el agua se dilatan y van formando una red fibrosa muy densa, es poco probable que exista un control endocrino de la secreción, posiblemente sea la propia distensión de las paredes del istmo provocada por el avance del huevo en formación la que sirva de estímulo para desencadenar la mencionada secreción. En la parte final del istmo (rojo) es donde tiene lugar la secreción para las fibras proteicas que van a constituir la base o zona inferior (capa mamilar) de la matriz orgánica de la cáscara. Estas fibras quedan entrelazadas con las de la membrana testácea externa, asegurando así la solidez de la unión de la cáscara, en ésta zona empieza la cristalización del carbonato cálcico.
- d. **Útero.** En el útero el huevo en formación permanece 20 a 21 horas, la formación de la cáscara es un proceso mucho más lento que la formación de la clara, cuando el huevo sale del istmo recubierto por sus dos membranas testáceas tiene un aspecto arrugado debido a la escasa hidratación de las proteínas del albumen; la primera actividad en el útero es la de completar esta hidratación. La Hidratación de la clara en el útero se realiza durante las 6 ó 7 horas de estancia del huevo en el útero, el contenido de agua en la clara se duplica, a éste período se le conoce como “plumping” porque concluye con una hinchazón del huevo y con un tensado de las membranas de la cáscara. Esta adición de agua viene acompañada por una secreción mineral compuesta básicamente por sodio, potasio y bicarbonato. Es durante el proceso de hidratación de la clara en el útero cuando aparecen las distintas capas visibles del huevo terminado el albumen denso, el albumen fluido y las chalazas. La cáscara pesa alrededor de 6 gr. y está formada fundamentalmente por cristales de carbonato de calcio recubierto de una cutícula orgánica. Mientras continúa la hidratación de la clara, se inicia el desarrollo de los cristales de carbonato cálcico; este desarrollo se prolonga hasta finalizar la formación del huevo.

La mucosa uterina se compone de un epitelio formado por células ciliadas y caliciformes, bajo el que se ubican glándulas tubulares. Las células epiteliales (ciliadas o no) se encargan del transporte del calcio; la producción de iones bicarbonato lo realizan las células de las glándulas tubulares y en menor grado por las células caliciformes del epitelio.

- e. **Vagina.** La progresión del huevo está asegurada por la actividad de los músculos lisos situados detrás del huevo, junto a una intensa actividad de los situados delante de él. La actividad contráctil del útero se reanuda de forma nítida en el momento en que el huevo penetra en él y garantiza al huevo un lento movimiento de rotación alrededor de su eje mayor; este movimiento continúa durante todo el período de formación de la cáscara. Las contracciones uterinas alcanzan su punto álgido y provocan, primero el paso del huevo a la vagina, y unos minutos después, su expulsión al exterior (oviposición). La progesterona y/o las prostaglandinas tienen un papel muy importante en la contracción del útero y en el relajamiento de la vagina; importantísimo en la oviposición (Mans y Taylor 2008, 83-105; Sauveur 1992, 55-76; Ricaurte 2006, 7-10).

Ovulación y Oviposición

Los folículos pequeños (< de 10 mm) son las principales fuentes de estrógenos. Al alcanzar la pubertad, el estrógeno produce feedback negativo a nivel de la pituitaria ocasionando la reducción en la producción de LH. Una vía funcional está presente en los folículos mayores hasta 12 a 20 horas antes de la ovulación. El folículo F1 pierde la capacidad de convertir progesterona en androstenodiona y consecuentemente la producción de progesterona por los folículos aumenta debido a la acción de la LH. En la realidad la progesterona estimula la síntesis y secreción de LHRH por el hipotálamo. La concentración de LH plasmático presenta un pico 4 a 6 horas antes de la ovulación. Este pico de LH es esencial para que ocurra la ovulación; ésta ocurre aproximadamente 6 horas después del pico de LH y de 15 a 45 minutos después de la oviposición (Rutz et al. 2007, 307-317).

Al evaluar la pared celular del folículo, se observa una región estructuralmente diferente, caracterizada por ser avascular llamada estigma, que está compuesta por el epitelio, teca interna y externa y capa granulosa. La teca externa está compuesta principalmente por fibroblastos y matriz extracelular de colágeno. Antes de la ovulación la región del estigma aumenta en largo y se torna transparente. El colágeno altera estructuralmente, tornándose un tejido más frágil, estas alteraciones se restringen en la región del estigma. Las alteraciones en las fibras de colágeno

ocurren por acción de enzimas, como colagenasas y proteasas, que actúan en la disociación del colágeno antes de la ovulación. La actividad de la colagenasa aumenta con la maduración folicular. La dispersión de las fibras de colágeno ocurre en función de la alteración de la matriz que mantiene unida las fibras de colágeno. Con el rompimiento del estigma ocurre la ovulación.

La arginina-Vasotocina, una hormona de la neurohipófisis, está relacionada con la oviposición en gallinas; este proceso es el resultado de eventos sucesivos que ocurren a nivel de oviducto, incluyendo contracción del útero y peristaltismo de la vagina. La contracción del útero es causada por la acción de la Arginina-Vasotocina, después de ligarse a un receptor del miometrio del útero. Durante éste proceso actúan prostaglandinas. La oviposición ocurre aproximadamente 24 a 26 horas después de la ovulación y después que el huevo ha sido formado en el oviducto. Las prostaglandinas y las hormonas de la pituitaria posterior son las más importantes en el proceso de la oviposición; entre éstas se destacan la PGF_2 y la PGE_2 . La PGF_2 actúa en la contracción del útero de la gallina, en cuanto que la PGE_2 actúa en la abertura útero-vaginal. Así como en los mamíferos ocurre un mecanismo de Feedback entre la arginina-vasotocina y la prostaglandina en la contracción del útero y oviposición (Rutz et al. 2007, 307-317).

2.2.2 Neuroendocrinología Reproductiva

El sistema reproductivo es regulado por el eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal, la maduración de éste en el embrión ocurre a los 13 días de incubación y ya se sintetizan una variedad de hormonas esteroides. El cerebro concentra señales neurales y hormonales de origen endógeno y exógeno, ésta información es usada para controlar la pituitaria, gónadas y otros órganos directa e indirectamente.

Varias áreas del cerebro son utilizadas pero el principal punto de traducción de señales neurales en control hormonal ocurre en el hipotálamo, localizado en la base del cerebro, próximo de la pituitaria. Las células neurosecretoras del hipotálamo comunican directamente con la pituitaria anterior a través de un sistema porta, éste transporta hormonas del hipotálamo a la pituitaria. Las neuronas que sintetizan la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) forman parte de un sistema neural primario, esencial para el desenvolvimiento de la reproducción.

Existen por lo menos 8 tipos de GnRH; en aves fueron identificados dos tipos de GnRH: el GnRH I y el GnRH II, aparentemente el GnRH I es la forma funcional; la función del GnRH II, no está definida en aves. Hay evidencias que el GnRH II estimula el comportamiento sexual en

aves. Estas hormonas determinan cuando las gonadotropas (secreción de FSH y LH) o Lactótropas (secreción de Prolactina) deben promover a la secreción.

Estudios en codornices indicaron que el LHRH estimula la liberación tanto de la LH como de la FSH, la LH es responsable de estimular la producción de progesterona en el folículo maduro además de provocar el rompimiento del folículo y la ovulación.

En aves ocurre la presencia de otra hormona hipotalámico importante, que es el péptido intestinal vasoactivo (VIP). Esta hormona fue inicialmente descubierta en el intestino; en el cerebro de las aves, el VIP actúa en la liberación de prolactina por la pituitaria anterior. La inmunización de pavos con VIP para neutralizar VIP endógeno resultó en la reducción de los niveles de prolactina, bajó la incidencia de cluequés y aumento la producción de huevos. La otra hormona producida por la pituitaria es la FSH, que puede estimular la producción de hormonas esteroides por las células del folículo en desarrollo, particularmente los folículos menores (Rutz et al. 2007, 307-317).

2.2.3 Descripción del Comportamiento de Incubación (CI) o Cluequés

La conducta de incubación o cluequés es una de las principales fases del ciclo reproductivo en las aves silvestres. Se refiere al estado conductual y fisiológico que permite a la hembra mantener un ambiente apropiado para el desarrollo embrionario de los huevos. La manifestación de cluequés aún se presenta en la crianza de lotes de aves domésticas de diferentes especies. Ésta persiste en una baja tasa en los lotes de reproductoras broilers, sobre todo en las líneas enanas, y es una característica muy común en los pavos, gansos, y lotes de reproductoras de patos Pekín y Moscovita, así como también en ponedoras de huevos para consumo humano Hy-Line.

La cluequés, es utilizada en la supervivencia de aves silvestres y durante el proceso de domesticación, pero ahora ya no es de interés práctico debido a que en la industria avícola actual se usa exclusivamente la incubación artificial, es más la cluequés se correlaciona negativamente con la producción de huevos, por lo que constituye una fuente de pérdidas económicas para la industria avícola. Aunque el uso de programas de manejo limita en gran medida la aparición de la cluequés y como consecuencia el número de huevos perdidos; los encargados de las granjas gastan sobre el 50% de su mano de obra diaria en intentar prevenir e interrumpir la manifestación de la cluequés; por consiguiente la prevención de esta conducta es de gran importancia para los

productores de pavos y huevos que desean evitar las severas pérdidas económicas directas o secundarias (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002, 18-21; Sauveur 1992, 112-125).

2.2.3.1 Características Conductuales y Morfológicas

Las pavas silvestres y gallinas domésticas encluecan después de poner una nidada de casi veinte huevos. Igualmente, en las pavas y gallinas domésticas la cluequés aparece durante o después del máximo nivel de postura (fase de pico), si no se adopta medidas preventivas, perdura a lo largo del ciclo productivo. Las investigaciones han demostrado que, en ausencia de un manejo específico de cluequés, más del 80% de pasaron por episodios de 2 o más veces de cluequés a intervalos de 3 a 4 semanas.

El inicio de la cluequés es precedido por un aumento progresivo en la frecuencia y duración de las visitas al nidal, al principio durante la noche y luego progresivamente durante el día entero. Al final de este período intermedio, que es conocido como estado de transición, la hembra clueca sólo dejará brevemente el nido y pasará en éste más de 90% del día. Al acercarse, la hembra exhibe una conducta de defensa del nido, reúne e incuba los huevos, emite un siseo característico y encrespa sus plumas de una manera agresiva. Las hembras también reducen en gran cantidad su ingesta de alimento y agua. Como resultado, pueden perder sobre el 30% de su peso corporal (en pavas) durante el período de incubación, debido en parte a la involución del tracto reproductor, pero principalmente debido a la movilización de las reservas corporales como fuentes de energía. En este momento se desarrollan las características áreas peladas de cluequés, o también llamadas placas incubatrices producto de la pérdida de plumas en el área abdominal ventral. Esta área se vuelve edematosa y altamente vascularizada. La cloaca se torna firme y seca, la distancia entre el pubis y el esternón se acorta, los huesos pelvianos permanecen más juntos y la cresta palidece reduciéndose de tamaño. Un factor significativo en la inducción de éste CI es la estimulación táctil vía el parche de la incubación en el área abdominal ventral del ave (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002, 18-21).

2.2.3.2 Características Endocrinológicas

El inicio de la postura de huevos se asocia con aumentos en los niveles circulantes de LH y esteroides ováricos (denominados progesterona y estradiol) y la conducta de incubación con la disminución en los niveles plasmáticos de LH y esteroides ováricos; además con los aumentos de las concentraciones hipofisarias y plasmáticas de prolactina.

Los niveles permanecen altos a lo largo del período de incubación y se encuentran directamente bajo la influencia estimulante del péptido Intestinal Vasoactivo (VIP). En 1935 se demostró que la prolactina era un factor causal en la inducción de la conducta de incubación en líneas muy cluecas.

El o los roles que pueden afectar la prolactina durante la conducta de incubación no están todavía claros, pero la evidencia inmunológica; supresión de los niveles de prolactina vía inmunización activa o pasiva contra prolactina o contra su principal factor de liberación (VIP), sugiere claramente que niveles altos de prolactina son un requisito indispensable para esta conducta. Más aún, al colocar las hembras cluecas en corrales o jaulas diferentes induce la disrupción del establecido comportamiento de cluequés y provoca una caída de los niveles plasmáticos de prolactina. Sin embargo, ya que la manifestación de la conducta de incubación también se asocia a grandes cambios fisiológicos, incluyendo la involución gonadal, afagia y adiposidad, se puede esperar que la prolactina juegue múltiples papeles como mediador de las adaptaciones que llevan a este comportamiento (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002, 18-21).

2.2.3.3 Estímulos Que Influyen en la Expresión de la Cluequés

La cluequés es un carácter que es controlado por muchos genes, en el cromosoma Z. Se ha informado de varias incidencias de cluequés en lotes de aves comerciales dependiendo de las características de la crianza. Por lo tanto, se ha reconocido ampliamente los efectos estimulantes de ciertos factores medioambientales tales como: alta temperatura, baja luminosidad, iluminación no uniforme, crianza en piso, acceso al nidal, y presencia de huevos. De hecho, se informan incidencias mayores de cluequés en lotes comerciales criados durante el verano, especialmente cuando la temperatura es extremadamente elevada. En general, podemos suponer que para tener una hembra que manifieste la conducta de incubación se debe alcanzar un umbral de estímulos medioambientales en conjunto con un umbral endocrinológico, los cuales dependen de un trasfondo genético. Las hembras que expresan tal conducta pueden ser más sensibles que otras a los factores estimulantes y/o menos sensibles a los factores inhibitorios (Guemené, Kansaku, Zadworny 2002, 18-21).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Aves en Estudio

La investigación fue realizada con 64 aves; 32 gallinas en estado de cluequés y 32 gallinas ponedoras de la línea Hy-Line, criadas en piso en la granja “Agropecuaria Cárpena”.

3.1.2 Instalaciones de la Granja

La granja “Agropecuaria Cárpena”; se encuentra localizada en la carretera a San José Km 7.5 “El Astillero”, La Pradera – Chiclayo, Departamento de Lambayeque; contó a con 4 galpones de crianza, para todo el período de postura.

Los galpones estaban contruidos de material de la zona; se utilizaron mallas de hilo de pescar para cubrir todos los laterales .la construcción del techo fue a dos aguas con viguetas y mantas plásticas con breas templadas y fijadas a los extremos de los parantes de madera. Las dimensiones de los galpones fueron de 11 metros de ancho por 100 metros de largo para 6000 aves cada uno y cuando existen más éstos se alargan.

La cama de los galpones fue de pajilla de arroz con un espesor de 3 a 5 pulgadas. Los comederos fueron colocados cada 2.30 metros a lo largo del galpón y cada 1.50 metros a lo ancho. Los bebederos cada 3 metros a lo largo y cada 6 metros a lo ancho; encima de éstos se colocó una madera con la finalidad de que las aves no suban y puedan ensuciar y derramar el agua; estos bebederos se conectaron con una tubería al tanque ubicado en las afueras del galpón.

Los nidos estaban hechos de Guayaquil de 20 cm de largo, 20cm de altura y 20 cm de profundidad; cada nidal comprende de 24 nidos contruidos en 2 hileras y están colocados longitudinalmente en el centro de cada galpón, cada nido es para 3 a 4 gallinas, en el piso de éstos nidos se colocó pajilla de arroz.

3.1.3 Condiciones Atmosféricas

La selección de las gallinas cluecas y ponedoras en la granja se llevó a cabo durante los meses de marzo y agosto del 2012. En el mes de marzo se registró la temperatura ambiental promedio de 25.6 °C; la humedad relativa fue de 72%; 11 horas de luz natural; 7.7 horas de sol y un viento de 2.8 m/s; en el mes de Agosto se tuvo una temperatura promedio de 19.9 °C, 76% de humedad relativa, 12 horas de luz natural; 6.4 horas de sol y 3.1 m/s de velocidad de viento.

3.1.4 Alimentación de las Aves

Se les suministró raciones que cubrían los requerimientos nutricionales de acuerdo a la fase de producción: Primera Fase, sus requerimientos nutricionales fueron de: Energía: 2770-2860 Kcal/Kg, Proteína: 19.80%, Metionina: 0.51%, Metionina+Cistina: 0.84%, Lisina: 1.02%, Triptófano: 0.21%, Calcio: 4.50%, Fosforo total: 0.77%, Fosforo disponible: 0.48%, Sodio: 0.20%; Segunda Fase, los requerimientos fueron: Energía: 2725-2860 Kcal/Kg, Proteína: 17.50%, Metionina: 0.46%, Metionina+Cistina: 0.76%, Lisina: 0.91%, Triptófano: 0.18%, Calcio: 4.20%, Fosforo total: 0.66%, Fosforo disponible: 0.41%, Sodio: 0.18%; Tercera Fase, sus requerimientos nutricionales fueron de: Energía: 2675-2860 Kcal/Kg, Proteína: 17.00%, Metionina: 0.44%, Metionina + Cistina: 0.73%, Lisina: 0.88%, Triptófano: 0.18%, Calcio: 4.30%, Fosforo total: 0.61%, Fosforo disponible: 0.38%, Sodio: 0.18% y la Cuarta Fase, sus requerimientos nutricionales fueron de: Energía: 2550-2825 Kcal/Kg, Proteína: 17.00%, Metionina: 0.44%, Metionina+Cistina: 0.73%, Lisina: 0.86%, Triptófano: 0.17%, Calcio: 4.40%, Fosforo total: 0.58%, Fosforo disponible: 0.34%, Sodio: 0.18% (Hy-Line International 2002, 11).

Los Ingredientes de las diferentes raciones fueron: harina de pescado, torta de soya, harina de soya integral, ñelén, maíz amarillo, polvillo, premezcla de postura, cloruro de colina 60%, metionina 99%, lisina 99%, anticoccidial, secuestradores de micotoxinas, bicarbonato de sodio, fosfato dicálcico 18%, carbonato de calcio, conchuela, y sal.

El agua se les suministraba ad libitum.

3.1.5 Kits Utilizados para Hormonas

- Chicken prolactin (PRL) ELISA Kit Cat. No: CK-E60044, para la determinación de la Prolactina en el suero de las gallinas.

- DIASource E2-RIA-CT Kit Cat. No: KIP0629 de uso humano, para la determinación de Estradiol en el suero de las gallinas.
- DIASource PROG-RIA-CT Kit Cat.No: KIP1458 de uso humano, para la determinación de progesterona en el suero de las gallinas.

3.1.6 Equipos, Material de Laboratorio y Reactivos

- Lector de microplacas ELx-800 BIOTEK para ELISA
- Contador Gamma para RIA
- Baño maría
- Agitador Vortex VM-300
- Congeladora
- Refrigeradora
- Centrífuga
- Microscopio Trinocular “Carl Zeiss” modelo Primo Star con fototubo, con cámara digital AxioCam 5 megapíxeles.
- Balanza Analítica electrónica “A&D” modelo HR-200
- Cámara fotográfica Canon de 14.7 megapíxeles
- Micropipetas multicanal Neogen de 8 canales
- Micropipetas monocanal
- Gradillas
- Tips para las diferentes micropipetas
- Tubos polipropileno para congelar el suero
- Tubos de vidrio 10.0cm
- Equipo de disección
- Balanza de Kg.
- Vernier.
- Láminas montadas con tejidos coloreados.
- Vasos plásticos para las muestras
- Formol al 10%

3.2 Métodos

3.2.1 Diseño de Contrastación de la Hipótesis

Se utilizó un diseño cuasi experimental. Las aves fueron seleccionadas de 4 galpones de crianza de gallinas tomando como base la curva de postura establecida en la guía de manejo comercial (Hy- Line International 2009, 24). De 19 a 32 semanas de vida para la primera fase etaria en la que se tiene una máxima producción de huevos, 95%; de 33 a 44 semanas para la segunda fase etaria, en la que se tiene 93% a 89% de producción de huevo; de 45 a 58 semanas para la tercera fase etaria, en la que se tiene 88% a 85% de producción de huevo; de 59 a más semanas de vida para la cuarta fase etaria, en la que se tiene menos de 85% de producción de huevo.

Se codificó con 1C hasta 8C para la primera fase, de 9C hasta 16C para la segunda fase, de 17C hasta 24C para la tercera fase y de 25C hasta 32C para la cuarta fase en gallinas cluecas; 1P hasta 8P para la primera fase, 9P hasta 16P para la segunda fase, 17P hasta 24P para la tercera fase y de 25P hasta 32P para la cuarta fase etaria para las ponedoras. Haciendo un total de 8 grupos, 4 para cluecas y 4 para ponedoras. Las gallinas fueron trasladadas al laboratorio de Patología aviar de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo de Lambayeque para la toma de datos correspondientes a las características externas, extracción sanguínea para la obtención del suero, mediciones del aparato reproductor y obtención de muestras para las observaciones histológicas.

3.2.2 Biometría

Para tomar las características externas que tipifican a las gallinas cluecas y ponedoras, se procedió rápidamente a tomar: el peso corporal, utilizando una balanza de Kg.; luego utilizando un Vernier se precisaron las medidas de cresta (largo, alto y espesor); La longitud que dista entre la apófisis del esternón y las apófisis púbica; luego también se tomó la longitud de la distancia entre las apófisis púbicas; y finalmente el diámetro cloacal.

Para determinar los pesos y medidas del aparato reproductor de las gallinas cluecas y ponedoras, se realizó la necropsia a las aves y con la técnica de la disección se sacaron los órganos del aparato reproductor para ser evaluados tomando pesos con ayuda de una balanza analítica

electrónica con una precisión de 0.1 mg y las medidas de centímetros y milímetros (cm y mm) fueron tomadas con un Vernier Stanley.

3.2.3 Histología

De cada órgano se tomaron muestras de 2 x 2cm y se depositaron en vasos debidamente rotulados con formol al 10% tamponado a un PH de 7.0 los que se mantuvieron durante 48 horas para la fijación y éstas se procesaron en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital Regional Docente “Las Mercedes”, ubicado en la provincia de Chiclayo en el departamento de Lambayeque, de acuerdo a la técnica de inclusión en parafina, los cortes seriados de 4µm de espesor se colorearon con Hematoxilina- Eosina. Las láminas histológicas fueron observadas y fotografiadas con ayuda de un microscopio trinocular “Carl Zeiss” modelo Primo Star con cámara digital Axio Cam 5 megapíxeles en el laboratorio de patología aviar de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo – Lambayeque.

3.2.3.1 Técnica de Coloración Hematoxilina–Eosina para el Análisis Histológico (Bravo García 2011, 3-51)

Luego de la recolección de los órganos del aparato reproductor de la ponedora Hy -Line, se procedió a fijar éstos para matar rápidamente las células e impedir la aparición de las alteraciones agónicas, precipitando los elementos de la fase dispersa del coloide protoplasmático en forma de finísimos granos, a fin de conservar, en lo posible, los detalles estructurales que presentan in vivo, favoreciendo su observación e impidiendo la aparición de estructuras artificiales.

Procedimiento:

1.-Fijación: La Finalidad de la Fijación es inmovilizar las estructuras tisulares. Consistió en sumergir la pieza en el líquido fijador: Formol al 10%; éste debe penetrar rápida y homogéneamente, no debe producir retracción asegurando una conservación e imagen fiel de los tejidos.

El Fijador actúa coagulando las sustancias albuminoideas, tiene gran poder de penetración y no altera la coloración; endurece bien los tejidos y conserva las grasas y lipoides. El tiempo de fijación es de acuerdo con el tamaño de la pieza: 1 cm de espesor y la superficie puede ser más amplia.

Las muestras se identificaron, se lavaron a fin de eliminar el resto de las sustancias fijadoras. Es necesario que el agua se renueve constantemente.

2.-Deshidratación: Las piezas, imbuídas en agua impide sean penetradas por la parafina. Para que ésta penetración ocurra es necesario, en primer lugar deshidratar a los tejidos, en forma escalonada utilizando de preferencia alcohol etílico de graduación creciente: 70°, 90°, 96°, 100°

Alcohol de 70° (1^{er} baño): 1 hora

Alcohol de 70° (2^{do} baño): 1 hora

Alcohol de 90° (un baño): 1 hora

Alcohol de 96° (un baño): 1 hora

Alcohol de 100° (1^{er} baño): 1 hora

Alcohol de 100° (2^{do} baño): 1 hora

Alcohol Xilol (1^{er} baño): 1/2 hora

Alcohol Xilol (2^{do} baño): 1/2 hora

Parafina 56°C – 58°C en estufa a 60° 1/2 hora (1^{er} cambio)

Parafina 56°C – 58°C en estufa a 60° 1/2 hora (2^{do} cambio)

3.-Inclusión definitiva o formación del bloque en Parafina:

Éste proceso proporciona a la pieza dureza y homogeneidad suficiente para obtener secciones duras.

Se procedió a preparar los moldes para la confección de los bloques.

-Las barras de Leu kart o moldes de cartón se llenaron con Parafina de Laboratorio con punto de fusión de 56° - 58°C.

-Con las pinzas de punta roma previamente calentadas en el mechero de Bunsen, se extrajeron los fragmentos del frasco, colocándolos en el fondo de los moldes de tal forma que el lado del tejido de donde se desea extraer los cortes quede hacia abajo.

-Se enumeraron cuidadosamente y se esperó la solidificación de la parafina por enfriamiento (refrigeración), listo para el corte micrométrico de los tejidos.

4.-Corte Micrométrico de los tejidos:

En éste paso obtenemos secciones de tamaño micrométrico para su observación en el microscopio. Para éste proceso se empleó aparatos mecánicos de tal manera que permitan efectuar, en forma más o menos automática, cortes uniformes y delgados del espesor deseado.

Se utilizó un micrótopo de Minot, un baño de flotación con agua destilada a 50°C de temperatura, pinceles finos de medicina, pinzas curvas apropiadas, campo de género suave, láminas porta objetos enumerados con lápiz diamante y sustancia adhesiva.

Se obtuvo cortes de 3 a 6 micras que se extendieron en el baño de flotación, siendo recogidos con las láminas porta objetos sobre su superficie, dejándose escurrir; luego se colocó 1 a 2 gotas de albúmina, para introducir las láminas con el corte tisular hacia arriba dentro de la estufa a 58°C, con el fin de secarlos, se disolvió la parafina para obtener un contacto íntimo con el corte y luego se procedió a la coloración.

5.-Tinción: Hematoxilina – Eosina.

-) Se extrajó las láminas de la estufa, se enfriaron y colocaron en un porta lámina de vidrio sin fondo, procediendo con la siguiente técnica:
-) Eliminación de la Parafina, como esta impide la coloración de los cortes, es necesario eliminarla, recurriendo para ello a uno de los solventes: el Xilol.
-) Se colocó el portaobjetos horizontalmente y sobre éste unas gotas de Xilol por 5 minutos.

a. Hidratación:

Los cortes desparafinados están deshidratados, por lo tanto hidratamos con:

- Alcohol absoluto: primera vez durante 5 minutos
- Alcohol absoluto: segunda vez durante 5 minutos
- Alcohol a 95°: se sumergieron las muestras 2 a 3 veces.
- Alcohol a 80° durante 2 minutos
- Luego con agua corriente hasta hidratar el corte.

b. Coloración:

- Se suministró Hematoxilina durante 5 minutos
- Se sumergieron en alcohol clorhídrico 2 a 3 veces

c. Viraje:

- Se lavó inmediatamente con agua por 5 minutos.
- Se administró Eosina por 2 minutos

d. Diferenciación:

- Se administró alcohol de 70°: durante medio minuto

e. Deshidratación: (Alcoholes de graduación creciente)

- Se administró alcohol de 90° durante medio minuto
- Se administró alcohol de 96° durante medio minuto
- Se administró alcohol de 100° durante medio minuto (renovándolo una a dos veces)
- Para efectuar el montaje de los cortes con bálsamo de Canadá (medio anhidro) es necesario deshidratar previamente los cortes.

f. Aclaración o diafanización:

Se administró Carbol – Xilol durante medio minuto (renovándolo una o 2 veces), a fin de impregnar el corte con un solvente del bálsamo de Canadá, que al mismo tiempo confiere un índice de refracción semejante al vidrio (carbol - Xilol).

6.-Montaje: Tiene como fin facilitar el examen microscópico y conservar las preparaciones.

Se procedió a limpiar el porta objeto alrededor del corte y se depositó sobre él una gota de bálsamo de Canadá disuelto en Xilol y se cubrió con una laminilla de vidrio.

-La ejecución de éstos últimos pasos debe realizarse con cierta rapidez cuidando de no respirar sobre el preparado para evitar que se hidrate.

-Al observarlo por transparencia o sobre un fondo negro una vez terminado, no debe presentar ninguna opacidad.

-Finalmente, hizo la lectura microscópica de las diferentes estructuras reproductivas.

3.2.4 Serología

Para obtener muestras serológicas para la determinación de los niveles hormonales se extrajo 5 ml de sangre a las gallinas mediante incisión de la vena axilar derecha con ayuda de una jeringa descartable de 5 ml con aguja N°23 x 1" por cada gallina. La sangre se traspasó a tubos de 10 ml para que coagule y luego se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos; se extrajo el suero con una jeringa tuberculina y se depositó en viales rotulados, los que fueron guardados a -20°C para posteriormente medir los niveles de estrógenos, progesterona y prolactina. La medición de hormonas se realizó en el laboratorio de Reproducción de la Universidad Cayetano Heredia, realizando la respectiva metodología y haciendo uso del Lector de microplacas ELx-800 BIOTEK para la determinación de los niveles de Prolactina mediante la prueba Inmunoenzimática ELISA y el Contador Gamma para la determinación de los niveles de Estrógenos y Progesterona mediante la prueba Radioinmunoensayo (RIA).

3.2.4.1 Prueba de Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) Tipo Sandwich a Doble Anticuerpo (Hangzhou Eastbiopharm 2012, 1-8).

Procedimiento del ensayo

1.-Se prepararon los 5 estándares a partir del reactivo estándar original; frasco de 0.5 ml a una concentración de 320 ng /ml de la siguiente manera:

160ng/ml	Standard N° 5	120µl Original Standard+120µl Standard diluyente
80ng/ml	Standard N° 4	120µl Standard N° 5+120µl Standard diluyente
40ng/ml	Standard N° 3	120µl Standard N° 4+120µl Standard diluyente
20ng/ml	Standard N° 2	120µl Standard N° 3+120µl Standard diluyente
10ng/ml	Standard N° 1	120µl Standard N° 2+120µl Standard diluyente

2.-Se preparó la solución de lavado:

Cálculo de la cantidad: (consideraciones)

0.35ml, cantidad mínima que se inyecta a cada pocillo para lavar

80 pocillos de la placa por lavar (incluye blancos, estándares y muestras)

Cada pocillo se lavó 5 veces.

Entonces se necesitó 140 ml de solución de lavado.

Cálculo de la dilución: (consideraciones)

Se diluyó 30 veces la solución concentrada de lavado con agua destilada, y como se necesitó 140 ml para lavar todos los pocillos, se calculó 5 ml de solución concentrada, esto se diluyó en 145 ml de agua destilada.

3.-Los pocillos blancos fueron 1A, 1B de la placa, a éstos no se adicionó muestras, ni PRL-anticuerpo marcado con biotin y streptavidin –HRP, solamente se adicionó la solución cromógena A y B y solución stop.

Los pocillos para los **estándares**, -Se colocó 50 µl por duplicado de cada estándar en los pocillos: 1C, 1D el estándar 1; 1E, 1F el estándar 2; 1G, 1H el estándar 3; 2A, 2B el estándar 4; 2C, 2D el estándar 5.

Pocillos para las **Muestras**.-Se colocó 40µl de suero de gallinas cluecas desde el pocillo 2E hasta 6E y desde 6F hasta 10E sueros de gallinas ponedoras.

4.-Se adicionó 10µl de anticuerpo Biotin-PRL.

5.-Se colocó 50µl de estreptavidin-HRP-reactivo conjugado (azul)

6.-Se selló la placa con la membrana selladora.

7.-Se agitó suavemente para homogenizarlo.

8.-Se incubó en la estufa a 37°C durante 60 minutos.

9.-Se removió la membrana cuidadosamente y drenó el líquido.

- 10.-Cada pocillo Se lavó 5 veces, con 0.35 ml. y luego se sacudió la placa para eliminar el agua sobrante.
- 11.-A cada pocillo se colocó 50 µl de cromógeno A.
- 12.-Luego se colocó 50µl de cromógeno B a cada pocillo.
- 13.-Se mezcló suavemente y se incubó por 10 minutos a 37°C lejos de la luz.
- 14.-Se adicionó la solución Stop 50µl a cada celdilla (el azul cambia a amarillo inmediatamente).
- 15.-Finalmente se midió la densidad óptica (OD) a 450 nm de longitud de onda, dentro de los 15 minutos despues de añadir la solución stop.
- 16.-De acuerdo a la concentración de los estándares y el correspondiente valor de (OD) se calculó la ecuación de la curva de regresión lineal y luego se aplicó los valores de OD de la muestra en la ecuación de regresión para calcular la correspondiente concentración de la muestra.

3.2.4.2 Prueba de Radioinmunoensayo (RIA) para la Determinación Cuantitativa in Vitro de Estradiol (E₂) en Suero de Gallinas (DIAsource 2011, 13-16).

Preparación de Reactivos

- A.-Trazador: Se transfirió cuantitativamente la solución de etanol al tampón trazador y se mezcló.
- B.-Controles: Se reconstituyó los controles con 1 ml. de agua destilada.
- C.-Solución de lavado de trabajo: Se preparó el volumen necesario de solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por una parte de solución de lavado (70x). Se utilizó un agitador magnético para homogenizar.

Protocolo

- 1.-Se marcó los tubos recubiertos para cada muestra y por duplicado para cada uno de los estándares y controles. Para la determinación de las cuentas totales, se marcó 2 tubos normales.
- 2.-Se agitó brevemente los calibradores, muestras y controles y se dispensó 100 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
- 3.-Se dispensó 1000µl de E₂ marcado con I¹²⁵ en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos a las cuentas totales.
- 4.-Se agitó suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva en las paredes de los tubos.

- 5.-Se incubó durante 3 horas a 37°C en baño maría.
- 6.- Se aspiró el contenido de cada tubo (excepto los de cuentas totales).
- 7.-Se lavó los tubos con 3 ml de solución de lavado de trabajo (excepto los de cuentas totales) y se aspiró .Se evitó la formación de espuma durante la adición de la solución de lavado
- 8.-Se dejó los tubos en posición inversa durante 2 minutos y se aspiró el líquido restante.
- 9.-Se midió la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un contador Gamma.

3.2.4.3 Prueba de Radioinmunoensayo (RIA) para la Determinación Cuantitativa in Vitro de Progesterona (P4) en suero de gallinas (DIAsource, 2009, 13-16).

Preparación de reactivos

A Controles: reconstituir los controles con 0.5 ml de agua destilada.

B Solución de lavado de trabajo: Se preparó el volumen necesario de solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de solución de lavado (70x). Se utilizó un agitador magnético para homogenizar. Se desechó la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

Protocolo

- 1.-Se marcó los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las cuentas totales, se marcó 2 tubos normales.
- 2.-Se agitó brevemente los calibradores, muestras y controles y se dispensó 50µl de cada uno en sus respectivos tubos.
- 3.-Se dispensó 500µl de PROG marcado con I¹²⁵ en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos a las cuentas totales.
- 4.-Se agitó suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva en las paredes de los tubos.
- 5.-Se incubó durante 2 horas a 37°C en baño de agua.
- 6.-Se aspiró el contenido de cada tubo (excepto los de cuentas totales). Asegurando que la punta de la pipeta toque el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
- 7.-Se lavó los tubos con 3 ml de solución de lavado de trabajo (excepto los de cuentas totales) y se aspiró. Se evitó la formación de espuma durante la adición de la solución de lavado.
- 8.-Se dejó los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspiró el líquido restante.
- 9.-Se midió la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

Cálculo para preparar la solución de lavado para Progesterona y Estradiol: (consideraciones)

-Progesterona: 64 muestras, 14 estándares, 4 controles.= 82 tubos

-Estradiol: 64 muestras, 14 estándares, 4 controles.= 82 tubos

-Total=164 tubos

-164 tubos x 3 ml = 492 ml.; como la solución es 1: 70, se necesitó 7 ml. de solución de lavado y 485 de agua destilada, haciendo un total de 492 ml.

3.2.5 Análisis de Datos

Para el adecuado análisis e interpretación de los resultados se utilizó medidas de centralización y dispersión de datos, el análisis de varianza (ANAVA) para probar significancia estadística en las diferentes fases etarias en los niveles hormonales en gallinas cluecas y ponedoras, así como prueba de hipótesis del modelo “t” de Student características, tanto en las gallinas cluecas como en ponedoras y gráficos que describen las tendencias en los niveles hormonales así como en la jerarquía folicular, precisando el modelo al que mejor se ajusta la dispersión de datos. Para el análisis de los datos se usó el Excel y el programa de SPSS.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características Corporales Externas en Gallinas Cluecas y Ponedoras según sus Fases Etarias

En la Tabla 1 se presenta el peso corporal promedio obtenido en las gallinas cluecas, el cual es de 1.14 ± 0.17 Kg; y en las gallinas ponedoras es de 1.78 ± 0.05 Kg, en toda la edad productiva, ésta diferencia es altamente significativa ($P < 0.01$), debido básicamente a que las gallinas en estado de cluequés reducen en gran medida su ingesta de alimento y agua, dando como resultado una pérdida de un 36% de su peso corporal, porque éstas pueden permanecer el 90% de su tiempo sobre el nido abandonándolo sólo para comer, beber y eliminar excretas durante breves períodos de tiempo: 10 a 20 minutos, (Fig.1, Fig.2). Es muy importante indicar que en este período las gallinas pierden plumas en el área abdominal (placas incubatrices); la cual se vuelve edematosa y altamente vascularizada. Estos resultados son concordantes con los reportados en las investigaciones sobre la cluequés en gallinas y pavas (Berti de Gesto 2012, 307-309; Guemené, Kansaku y Zadworny 2002, 18-21; Sauveur 1992, 112-125).

El largo de la cresta es de 4.59 ± 0.38 cm en promedio para gallinas cluecas y 5.68 ± 0.48 cm para ponedoras (Fig.3 y Fig.4); el grosor de la cresta es de 2.58 ± 0.08 mm para cluecas y 3.7 ± 0.25 mm para ponedoras (Fig.5 y Fig.6) y la altura es de 1.95 ± 0.2 cm para cluecas y 2.91 ± 0.2 cm para ponedoras Fig.7 y Fig.8 respectivamente. Todas estas diferencias son altamente significativas ($P < 0.01$). Los cambios se deben principalmente a la reducción de los andrógenos y estrógenos que se evidencian en las gallinas cluecas; estos resultados concuerdan con las investigaciones sobre cluequés (Berti de Gesto 2012, 307-309; Guemené, Kansaku y Zadworny 2002, 18-21; Sauveur 1992, 112-125). Asimismo la distancia entre la punta del esternón y las apófisis púbicas en las gallinas cluecas es de 4.02 ± 0.19 cm y en las ponedoras de 6.46 ± 0.33 cm (Fig.9 y Fig.10); la distancia entre las apófisis púbicas en gallinas cluecas es de 2.10 ± 0.36 cm y en las ponedoras es de 4.03 ± 0.29 cm (Fig.11 y Fig.12) y el diámetro cloacal en las gallinas cluecas es de 1.94 ± 0.18 cm y en la ponedoras de 2.84 ± 0.16 cm (Fig.13 y Fig.14) respectivamente. Estas diferencias son altamente significativas ($P < 0.01$) y se deben básicamente a la involución del aparato reproductor en la gallina clueca; puesto que el peso del ovario se reduce en un 91.32% siendo muy notoria la ausencia de folículos vitelogénicos amarillos; el peso del oviducto se reduce en un 87.62% y el largo del mismo en un 64.02%.

El cese de puesta origina que los huesos pelvianos permanezcan más juntos y la cloaca se torne firme y seca. Todo esto es a consecuencia de la reducción de estrógenos. (Berti de Gesto 2012, 307-309; Guemené, Kansaku y Zadworny 2002, 18-21; Sauveur 1992, 112-125).

Tabla 1. Características corporales externas en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias

Fases etarias semanas	Peso corporal (kg)		Diámetro cloacal (cm)		Distancia entre Esternón y pubis (cm)		Distancia entre ipófisis púbicas (cm)		Cresta						
	¹ Cluecas	¹ Poned.	² Cluecas	² Poned.	³ Cluecas	³ Poned.	⁴ Cluecas	⁴ Poned.	Largo (cm)		Grosor (mm)		Altura (cm)		
									⁵ Cluecas	⁵ Poned.	⁶ Cluecas	⁶ Poned.	⁷ Cluecas	⁷ Poned.	
1 ^{ra}															
19 a 32 (x, $\bar{x} \pm S$)	.47 ± 0.15	.76 ± 0.11	.20 ± 0.19	.80 ± 0.29	.19 ± 0.47	.31 ± 1.07	.63 ± 0.55	.13 ± 0.58	.44 ± 0.54	.44 ± 0.66	.49 ± 0.19	.88 ± 0.15	.98 ± 0.36	.91 ± 0.62	
2 ^{da}															
33 a 44 (x, $\bar{x} \pm S$)	1.4 ± 0.16	.83 ± 0.13	.95 ± 0.50	.87 ± 0.29	.17 ± 0.96	.95 ± 0.65	.92 ± 0.45	.16 ± 0.56	.20 ± 0.77	.63 ± 0.61	.55 ± 0.09	.93 ± 0.25	.68 ± 0.34	.72 ± 0.27	
3 ^{ra}															
45 a 58 (x, $\bar{x} \pm S$)	.59 ± 0.18	.72 ± 0.07	.84 ± 0.29	.04 ± 0.24	.90 ± 1.23	.26 ± 0.68	.04 ± 0.47	.25 ± 0.35	.10 ± 0.13	.37 ± 0.38	.67 ± 0.25	.69 ± 0.22	.17 ± 0.28	.18 ± 0.43	
4 ^{ta}															
59 a más (x, $\bar{x} \pm S$)	.18 ± 0.04	.80 ± 0.13	.78 ± 0.27	.65 ± 0.35	.82 ± 1.12	.33 ± 0.91	.82 ± 0.36	.52 ± 0.76	.62 ± 0.34	.27 ± 0.69	.64 ± 0.47	.61 ± 0.45	.96 ± 0.30	.82 ± 0.46	
x, $\bar{x} \pm S$.14 ± 0.17	.78 ± 0.05	.94 ± 0.18	.84 ± 0.16	.02 ± 0.19	.46 ± 0.33	.10 ± 0.36	.03 ± 0.29	.59 ± 0.38	.68 ± 0.48	.58 ± 0.08	3.7 ± 0.25	.95 ± 0.20	.91 ± 0.20	
CV	14.91	2.81	9.28	5.63	4.73	5.11	17.14	7.20	8.28	8.45	3.10	6.76	10.26	6.87	
P <	¹ te = -7.22		² te = -7.47		³ te = -12.82		⁴ te = -8.35		⁵ te = -3.56		⁶ te = -8.53		⁷ te = -6.81		
	P < 0.01		P < 0.01		P < 0.01		P < 0.01		P < 0.01		P < 0.01		P < 0.01		
Número de Gallinas	Cluecas: 32; 8 por fase. Ponedoras: 32; 8 por fase														

CARACTERÍSTICAS EXTERNAS DE GALLINAS CLUECAS Y PONEDORAS



Figura 1. Gallina clueca. Figura 2. Gallina ponedora. Figura 3. Longitud de cresta de gallina clueca. Figura 4. Longitud de cresta de gallina ponedora.

CARACTERÍSTICAS EXTERNAS DE GALLINAS CLUECAS Y PONEDORAS



Figura 5. Grosor de cresta en gallina clueca. Figura 6. Grosor de cresta en ponedora. Figura 7. Altura de la cresta en gallina clueca. Figura 8. Altura de cresta en ponedora.

CARACTERÍSTICAS EXTERNAS DE GALLINAS CLUECAS Y PONEDORAS



Figura 9. Longitud entre apófisis del esternón y apófisis púbicas de gallina clueca. Figura 10. Longitud entre apófisis del esternón y apófisis púbica en ponedoras. Figura 11. Longitud entre apófisis púbicas en gallinas cluecas. Figura 12. Longitud entre apófisis púbicas en ponedoras. Figura 13. Diámetro cloacal en clueca. Figura 14. Diámetro cloacal en ponedora.

4.2 Niveles Hormonales en Gallinas Cluecas y Ponedoras según sus Fases Etarias

4.2.1 Estrógenos (Estradiol)

En la Tabla 2A se presenta el promedio de estrógenos en gallinas cluecas y ponedoras en las diferentes fases etarias, apreciándose un promedio general de 69.16 ± 30.74 pg/ml y 227.55 ± 40.46 pg/ml respectivamente; con diferencia altamente significativa y variación relativa más alta en las gallinas cluecas 44.45% y 17.78% en ponedoras. Los intervalos confidenciales del 95% para cluecas es de $20.28 < \mu < 118.04$ pg/ml y $163.22 < \mu < 291.88$ pg/ml respectivamente. También en la Tabla 2B se aprecia diferencia significativa en los niveles de estrógenos en las diferentes fases etarias en las gallinas cluecas, lo que no ocurre en las ponedoras (Tabla 2C).

Estas variaciones encontradas se presentan en el Gráfico 1A en donde los niveles de estrógeno en las cluecas se explicarían sólo en un 15.09% por las fases etarias ($R^2 = 0.1509$); aspecto que no se aprecia en las ponedoras en donde la variación de los estrógenos se explicarían por las fases etarias hasta en un 51.27% ($R^2 = 0.5127$). Describiendo la tendencia se tiene que por cada fase etaria, el menor incremento en el nivel de estrógenos se da en las cluecas: $y = 9.248x + 46.035$ y el más alto en las ponedoras: $y = 22.442x + 171.45$ respectivamente.

Estos resultados son concordantes con las investigaciones que también encontraron bajos niveles de estrógenos en pavas que estaban incubando y niveles altos en pavas ponedoras. (Porter et al. 1991, 581-586).

Los bajos niveles de Estrógenos encontrados en las gallinas cluecas se deben probablemente a que en el ovario de éstas sólo existía pequeña cantidad de folículos vitelogénicos blancos, en comparación a la notable y elevada cantidad de los mismos y además los folículos vitelogénicos amarillos ordenados éstos en una jerarquía folicular en las gallinas ponedoras; así como también el estroma ovárico en las cluecas es notablemente muy pequeño en comparación con el de las ponedoras (Tabla 3). Esto permite aceptar las teorías que afirman que los folículos vitelogénicos blancos específicamente y en mayor cantidad los folículos blancos pequeños (SWF), así como el estroma ovárico con los folículos estromales (SF); sintetizan los estrógenos (E_2) por la existencia de la enzima P450 AROM. (Wojtysiak et al. 2005, 91-97).

Asimismo el ovario de las gallinas cluecas no presenta folículos vitelogénicos amarillos, los cuales si están presentes en las ponedoras, los que son fuente de estrógenos, principalmente el segundo y tercer folículo de mayor tamaño; la capacidad de síntesis de estrógenos del F1 desaparece casi en su totalidad la víspera de la ovulación, en éstos momentos éste folículo se especializa en la síntesis de progesterona (Sauveur 1992, 48).

La variación relativa alta de estrógenos en las cluecas frente a las ponedoras lo explica la existencia tan variada de folículos vitelogénicos blancos (FVB) y la involución del estroma ovárico en las diferentes fases etarias de éstas gallinas (Tabla 3), pues éstos son fuente de estrógenos (Wojtysiak et al. 2005, 91-97); hecho que se ratifica con el análisis de varianza significativo en los niveles de estrógenos para las fases etarias. Todo esto probablemente se deba al diferente estado de cluequés que existió en las gallinas en las diferentes fases etarias, ya que se obtuvo un escaso coeficiente de determinación ($R^2= 0.1509$) en la influencia en el nivel estrogénico de la variable fases etarias, así como también un menor incremento que lo describe la ecuación de la tendencia frente a las ponedoras.

Todo lo encontrado permite aceptar las teorías que indican que la prolactina debe actuar directamente en el ovario para inhibir la esteroidogénesis y esto podría interrumpir el eje hipotalámico-hipofisiario gonadal y subsecuentemente la función reproductiva (Porter et al. 1991, 581-586). Acto que queda demostrado con los presentes resultados.

4.2.2. Progesterona

En la Tabla 2A se presenta el promedio de progesterona en gallinas cluecas y ponedoras en las diferentes fases etarias, en donde se aprecia un promedio general de 0.11 ± 0.04 ng/ml y 1.5 ± 0.6 ng/ml, respectivamente; con diferencia altamente significativa y una variación relativa de 36.36% en las cluecas y 40.00% en las ponedoras. Los intervalos confidenciales al 95% para cluecas es de $0.05 < \mu < 0.17$ ng/ml y $0.55 < \mu < 2.45$ ng/ml para ponedoras. Del mismo modo, no se aprecia diferencia significativa en los niveles de progesterona en las diferentes fases etarias en gallinas cluecas (Tabla 2B) y ponedoras (Tabla 2C).

Estas variaciones se presentan en el Gráfico 1B, en donde los niveles de progesterona en las cluecas se explicarían por la edad sólo en un 6.67% ($R^2=0.0667$) y en las ponedoras los niveles de progesterona se explicarían por las fases etarias hasta en un nivel del 10.06% ($R^2=0.1006$); el comportamiento de los niveles de progesterona en las diferentes fases etarias en las cluecas es relativamente uniforme con un crecimiento muy pequeño por cada fase etaria, tal como se muestra en el modelo $=0.009x+0.085$, a diferencia del comportamiento de los niveles de progesterona en las ponedoras que es mucho más variado y de crecimiento negativo como se explica por el modelo $= -0.148x+1.885$.

Estos resultados son similares a los encontrados en las investigaciones en los que también se obtuvieron niveles muy bajos de progesterona en gallinas que estaban incubando (1.7 ± 0.3 ng/ml) frente a los elevados niveles en gallinas que estaban poniendo (9.6 ± 1.2 ng/ml) (Porter et al. 1991, 581-586).

Los bajos niveles de progesterona encontrados en las gallinas cluecas se debe probablemente a que los ovarios tenían pequeña cantidad de folículos vitelogénicos blancos, los que solamente producen pequeñísimas cantidades de progesterona; diferencia muy marcada frente a los ovarios de las gallinas ponedoras las que tienen los folículos vitelogénicos blancos y especialmente los folículos vitelogénicos amarillos ordenados en una jerarquía folicular y la progesterona proviene en grandes cantidades principalmente de la granulosa del folículo preovulatorio, así como también en menor medida del folículo post ovulatorio. Todo esto concuerda con las teorías reportadas en la síntesis de esteroides sexuales (Sauveur 1992, 50) y con los resultados de la investigación sobre la concentración de esteroides en folículos post ovulatorios de patos (Wojtysiak et al. 2005, 91-97).

La variación relativa alta de los niveles de progesterona en cluecas se explica por la existencia tan variada de los folículos vitelogénicos blancos en las diferentes fases etarias, los que generan pequeñísimas cantidades de progesterona. El mismo comportamiento se observa en las ponedoras por la existencia también muy variada de los folículos vitelogénicos blancos (FVB), folículos vitelogénicos amarillos (FVA) y folículos postovulatorios (FPO) en las diferentes fases etarias (Tabla 3).

Todo esto se debe también probablemente al diferente estado de cluequés de las gallinas en las diferentes fases etarias ratificado por el bajo coeficiente de determinación ($R^2=0.0667$) y el comportamiento uniforme con pequeñísimo crecimiento ($0.009x$) que lo explica el modelo de estimación correspondiente (Gráfico 1B); así como también a la continua y pequeña liberación de progesterona emitida por los folículos blancos (Wojtysiak et al. 2005, 91-97).

Cabe hacer el análisis correspondiente en las ponedoras, pues en éstas existe también un escaso coeficiente de determinación ($R^2=0.1006$) y el comportamiento es mucho más variado con un crecimiento negativo que explica el modelo de estimación debido probablemente a la existencia de una disminución en la jerarquía folicular de acuerdo a las diferentes fases etarias (Tabla 3).

La función de ésta hormona es la de control de las actividades celulares implicadas en el crecimiento del oviducto y síntesis de ciertas proteínas del albumen, en éste último caso actúa en sinergia con los estrógenos; controla también los ritmos de ovulación y de oviposición, actuando sobre la liberación de LH-RH por parte del hipotálamo sobre las contracciones del útero previas a la oviposición y sobre la conducta de puesta. Estas funciones se ven anuladas en las gallinas cluecas ya que existe en éstas bajos niveles de progesterona y bajos niveles de estrógenos que tipifican el comportamiento de cluequés en las gallinas (Sauveur 1992, 50).

4.2.3. Prolactina

La Tabla 2A también muestra los niveles medios de prolactina en gallinas cluecas y ponedoras en las diferentes fases etarias y un promedio general de 35.9 ± 5.6 ng/ml y 17.11 ± 3.24 ng/ml respectivamente, ésta diferencia es altamente significativa ($P < 0.01$); también muestra la variación relativa de 15.60 % en cluecas y 18.94% en ponedoras. Los intervalos confidenciales de prolactina para las cluecas son de $26.99 < \mu < 44.80$ ng/ml y para ponedoras $11.96 < \mu < 22.26$ ng/ml. No se encontró diferencias significativas en los niveles de prolactina en las diferentes fases etarias en las cluecas (Tabla 2B) y la diferencia es significativa en ponedoras (Tabla 2C). Los niveles de prolactina en las gallinas cluecas dependen hasta en un 88.08% de las fases etarias, mostrándose también que va disminuyendo paulatinamente en -4.186 ng/ml por cada fase etaria a partir de 46.225 ng/ml, así como lo describe el modelo $= -4.186X + 46.225$. En cambio en las ponedoras los niveles de prolactina dependen en sólo 26.05% de las fases etarias ($R^2 = 0.2605$); su tendencia es a crecer en razón de 1.281 ng/ml por cada fase etaria a partir de 13.905 ng/ml según el modelo $= 1.281x + 13.905$ (Gráfico 1C).

Estos resultados son congruentes a los encontrados en las investigaciones sobre producción de esteroides ováricos en pavas en estado de cluequés (Porter et al. 1991, 581-586), encontrando niveles muy altos de prolactina en pavas que estaban incubando frente a los bajos niveles en las ponedoras; del mismo modo concuerdan con las investigaciones que afirman que ésta hormona induce todo el proceso desencadenante de la incubación, así como también es la encargada de reducir la secreción ovárica de estradiol, consecuentemente origina la regresión ovárica y de oviducto (Jiang et al. 2005, 839-845; Erdost 2005, 1125-1128).

Asimismo, existe el 88% de influencia de la variable fases etarias para los niveles de prolactina en las gallinas cluecas, además el modelo indica que gallinas jóvenes tienen más altos los niveles de prolactina en comparación con las de mayor edad; por lo tanto, el desencadenamiento de la cloquera en éstas es mucho más rápido, aseveración que queda descrita

por el modelo que tiene una tendencia negativa y que disminuye paulatinamente por cada fase etaria en -4.186 ng/ml de prolactina (Gráfico 1C). Todo lo contrario ocurre en las ponedoras, poca influencia de las fases etarias ($R^2=0.2605$) y el modelo describe una tendencia positiva, por cada fase etaria, la prolactina incrementa una pequeñísima cantidad: 1.28 ng/ml.

Lo encontrado queda ratificado por las investigaciones en las que afirman que el alto nivel de prolactina reduce la liberación hipotalámica de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y la liberación de la hormona luteinizante (LH) desde la pituitaria, inhibiendo directamente la esteroidogénesis ovárica, dando lugar a la regresión ovárica y del oviducto que se presenta en las gallinas cluecas. (Reddy, David y Raju 2006, 156-161; Berry 2003, 971-980).

Tabla 2A. Niveles hormonales en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias.

Fases etarias (semanas)	Estrógeno E2 pg/ml		Progesterona ng/ml		Prolactina ng/ml	
	¹ Cluecas	¹ Ponedoras	² Cluecas	² Ponedoras	³ Cluecas	³ Ponedoras
	x, ⁻ ±S	x, ⁻ ±S	x, ⁻ ±S	x, ⁻ ±S	x, ⁻ ±S	x, ⁻ ±S
1 ^{ra} 19 a 32	70.99±45.5	210.96±112.05	0.13±0.26	1.14±1.12	43.89±21.25	12.91±3.60
2 ^{da} 33 a 44	27.34±12.49	178.17±108.56	0.04±0.08	2.36±2.12	35.88±23.60	18.5±5.4
3 ^{ra} 45 a 58	101.05±55.75	263.87±172.04	0.12±0.12	1.51±1.49	32.23±16.00	20.51±4.01
4 ^{ta} 59 a más	77.25±66.50	257.2±217.36	0.13±0.11	0.99±0.59	31.65±11.33	16.51±4.11
x, ⁻ ± S	69.16 ± 30.74	227.55 ± 40.46	0.11 ± 0.04	1.5 ± 0.6	35.9 ± 5.6	17.11 ± 3.24
CV	44.45	17.78	36.36	40.00	15.60	18.94
Inter. conf. 95%	20.28<μ<118.04	163.22<μ<291.88	0.05<μ<0.17	0.55<μ<2.45	26.99<μ<44.80	11.96<μ<22.26
P<	¹ TE=-6.24		² TE=-4.62		³ TE=5.81	
	P<0.001		P<0.001		P<0.001	
Métodos de análisis	RIA		RIA		ELISA	
Número de gallinas	Cluecas: 32, 8 gallinas por fase. Ponedoras: 32, 8 gallinas por fase.					
Fuente: Resultado de análisis en el Laboratorio de Reproducción de la Universidad Cayetano Heredia						

Tabla 2B. Análisis de varianza para los niveles hormonales en las diferentes fases etarias de gallinas cluecas.

Análisis de varianza: ESTROGENO en CLUECAS						
Fases	Muestras	Suma	Promedio	Varianza		
Fase 1	8	567.98	70.99	2073.39		
Fase 2*	8	218.7	27.34	155.93		
Fase 3*	8	808.38	101.05	3107.62		
Fase 4*	8	670.76	83.85	4607.65		

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre fases	23792.87	3	7930.96	3.19	0.04	2.95	
Dentro de las fases	69612.12	28	2486.15				
Total	93404.99	31					

Análisis de varianza: PROGESTERONA en CLUECAS						
Fases	Muestras	Suma	Promedio	Varianza		
Fase 1	8	1.07	0.13	0.07		
Fase 2	8	0.32	0.04	0.01		
Fase 3	8	0.99	0.12	0.01		
Fase 4	8	1.18	0.15	0.01		

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre fases	0.056425	3	0.018	0.75	0.53	2.95	
Dentro de las fases	0.701725	28	0.025				
Total	0.75815	31					

Análisis de varianza: PROLACTINA en CLUECAS						
Fases	Muestras	Suma	Promedio	Varianza		
Fase 1	8	351.13	43.89	451.49		
Fase 2	8	287.03	35.88	557.14		
Fase 3	8	257.82	32.23	256.09		
Fase 4	8	248.78	31.10	143.52		

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre fases	802.78	3	267.59	0.76	0.53	2.95	
Dentro de las fases	9857.71	28	352.06				
Total	10660.50	31					

Fase 1. De 19 a 32 semanas. Fase 2. De 33 a 44 semanas. Fase 3. De 45 a 58 semanas. Fase 4. De 59 a más semanas.

* Diferencia mínima de significación entre fases, segunda con tercera y segunda con cuarta.

Tabla 2C. Análisis de varianza para los niveles hormonales en las diferentes fases etarias de gallinas ponedoras.

Análisis de varianza: ESTROGENO en PONEDORAS

Fases	Muestras	Suma	Promedio	Varianza
Fase 1	8	1687.65	210.96	12555.97
Fase 2	8	1425.37	178.17	11786.17
Fase 3	8	2110.91	263.87	29597.10
Fase 4	8	2057.60	257.20	47245.56

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre fases	35297.80	3	11765.93	0.52	0.67	2.95
Dentro de las fases	708293.63	28	25296.20			
Total	743591.43	31				

Análisis de varianza: PROGESTERONA en PONEDORAS

Fases	Muestras	Suma	Promedio	Varianza
Fase 1	8	9.15	1.14	1.26
Fase 2	8	18.88	2.36	4.47
Fase 3	8	12.11	1.51	2.23
Fase 4	8	7.97	0.99	0.05

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre fases	9.00	3	3.00	1.22	0.25	2.95
Dentro de las fases	58.17	28	2.08			
Total	67.17	31				

Análisis de varianza: PROLACTINA en PONEDORAS

Fases	Muestras	Suma	Promedio	Varianza
Fase 1*	8	103.30	12.91	12.96
Fase 2*	8	143.00	17.88	29.13
Fase 3*	8	164.07	20.51	16.21
Fase 4	8	132.11	16.51	16.90

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre fases	251.66	3	83.89	4.46	0.01	2.95
Dentro de las fases	526.42	28	18.80			
Total	778.09	31				

Fase 1. De 19 a 32 semanas. Fase 2. De 33 a 44 semanas. Fase 3. De 45 a 58 semanas. Fase 4. De 59 a más semanas.

* Diferencia mínima de significación entre fases, primera con segunda y primera con tercera

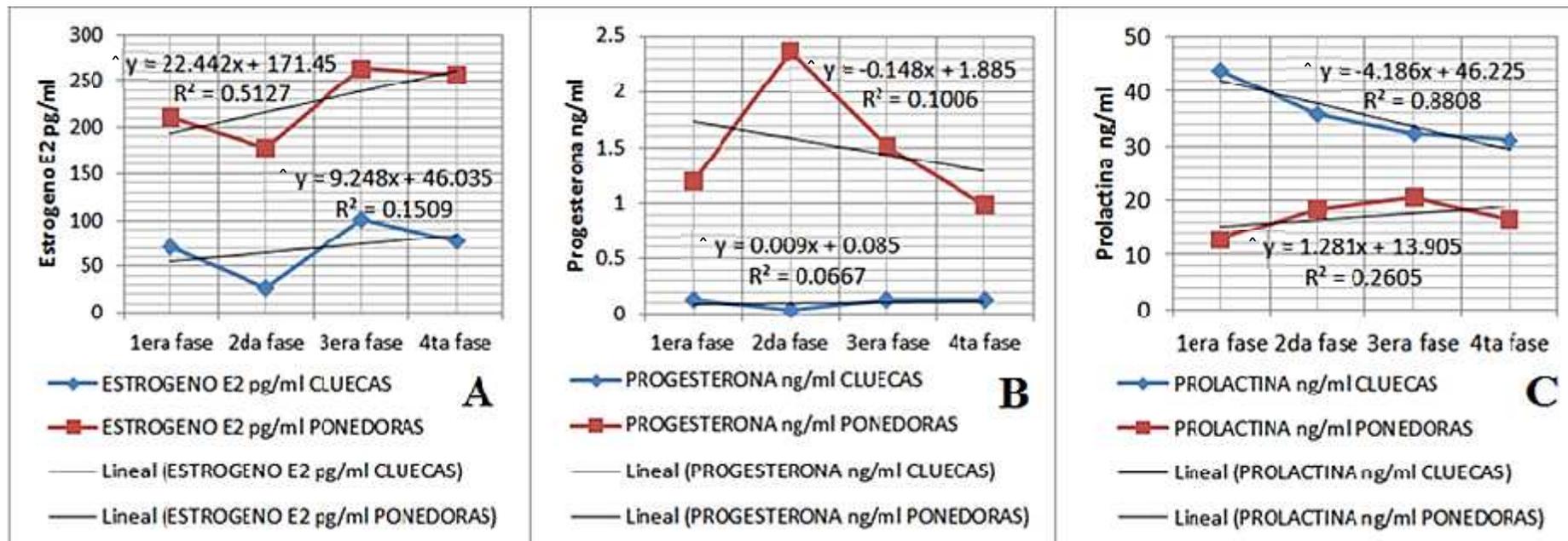


Gráfico 1A: Niveles de Estrógeno en cluecas y ponedoras según sus fases etarias.

Gráfico 1B: Niveles de Progesterona en cluecas y ponedoras según sus fases etarias.

Gráfico 1C: Niveles de Prolactina en cluecas y ponedoras según sus fases etarias.

Gráfico 1. Niveles hormonales en gallinas cluecas y ponedoras según sus fases etarias.

4.3 Descripción Anatómico Histológica del Aparato Reproductor de Gallinas Hy-Line en estado de Cluequés y Ponedoras

La figura 15 y figura 17 muestran el ovario y oviducto de gallinas cluecas, el que está completamente involucionado versus el de las ponedoras que se encuentra en su normal funcionamiento (Figura 16 y Figura 18, respectivamente).

El aparato genital de la gallina está constituido por el ovario izquierdo que representa la gónada funcional y el oviducto largo y plegado del mismo lado. El ovario está unido a la cavidad abdominal por los ligamentos mesováricos e irrigado por la arteria ovárica, la que penetra a través del tallo folicular ramificándose en cada uno de los folículos. Las venas que recogen la sangre de la gónada constituyen dos troncos venosos, uno anterior y otro posterior los que desembocan en la vena cava posterior (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49; Altamirano, Bulfon y Bee de Speroni 2009, 61-66; Ricaurte Galindo 2006, 7-10).



Figura 15. Aparato reproductor de gallina clueca en la cavidad corporal; se visualiza el ovario(o) y oviducto (ov) completamente involucionados. Figura 16. Aparato reproductor de una ponedora en la cavidad corporal nótese su gran tamaño del ovario (o) y oviducto (ov). Figura 17. Aparato reproductor de una gallina clueca: ovario(o), infundíbulo (i), Magnum (m), Istmo (is), útero (u) y vagina (v). Figura 18. Aparato reproductor de una gallina ponedora, nótese el gran tamaño, ovario(o), infundíbulo (i), magnum (m), Istmo (is), útero que contiene el huevo (u), y vagina (v).

4.3.1 El Ovario

4.3.1.1 Descripción Anatómica del Ovario

En la Tabla 3 se muestra el peso total promedio del ovario de $3.68\text{g.} \pm 2.04\text{g.}$ versus $42.37\text{g.} \pm 8.54\text{g.}$ en gallinas cluecas y ponedoras respectivamente, diferencia altamente significativa ($P < 0.01$); en ambas tiene un aspecto arracimado, pero en las gallinas cluecas sólo se visualizan pequeños folículos de color blanquecino (Fig.19).

En las ponedoras se observa la presencia de un promedio de 6.5 ± 1.3 Folículos Vitelogénicos Amarillos (FVA) en diferentes estadios de desarrollo que muestran un ordenamiento morfológico y de tamaño denominado jerarquía folicular, constituyendo el folículo más próximo a ovular el F_1 y sucesivamente en orden decreciente se les denomina F_2 , F_3 , F_4 , F_5 , F_6 , F_7 , y F_8 . Cabe remarcar que ponedoras que se encuentran en la primera fase etaria tienen en promedio 8 FVA (una jerarquía folicular de 8) y son las que demuestran alta producción de huevos; las ponedoras de la 2da fase etaria tienen en promedio 7 folículos (jerarquía folicular de 7); las de la 3era fase etaria tienen en promedio 6 folículos (jerarquía folicular de 6) y las de la 4ta fase etaria un promedio de 5 folículos (jerarquía folicular de 5). En contraste las gallinas cluecas no tienen folículos vitelogénicos amarillos (FVA). (Tabla 3) y (Fig. 20). Estos folículos exhiben un color amarillo anaranjado intenso y una notable vascularidad; en la región medial se destaca el estigma, que es una zona clara, poco irrigada o sitio de dehiscencia de las paredes foliculares durante la ovulación. Características similares son reportadas en las investigaciones sobre manejo del fotoperiodo en reproductoras de engorde (Robinson y Renema 1999, 1-6) y en las de endocrinología reproductiva (Pollock y Orosz 2002, 441-474).

Las ponedoras tienen un promedio de 291.07 ± 40.4 folículos vitelogénicos blancos (FVB) muy pequeños y las cluecas tienen un promedio de 41.81 ± 15.44 , diferencia altamente significativa ($P < 0.01$). Los folículos post ovulatorios (FPO) están ausentes en las cluecas; solamente se encontraron en los ovarios de las ponedoras en un promedio de 5.6 ± 0.9 , demostrando la ovulación respectiva. (Tabla 3, Fig. 19 y Fig. 20). Resultados congruentes con los encontrados en las investigaciones sobre los cambios histológicos estacionales en ovarios de perdiz (Claver et al. 2008, 353-361).

En cuanto al estroma de las gallinas cluecas y ponedoras, el peso promedio es de $3.68g \pm 2.04g$ Versus $6.51 \pm 0.82g$, diferencia altamente significativa ($P < 0.01$). El largo del estroma en las gallinas cluecas es de $2.24cm \pm 0.44cm$ y en las ponedoras es de $2.79cm \pm 0.34 cm$, diferencia significativa ($P < 0.05$). El Grosor del estroma en las gallinas cluecas es de $2.02 mm \pm 0.09mm$ y en las ponedoras es de $4.05 \pm 0.10mm$, diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) (Tabla 3, Fig.19, Fig.20). Cabe destacar que el peso, el largo y el grosor del estroma de las gallinas cluecas mantienen muy poca dependencia con las fases etarias como se deduce de los bajos coeficientes de determinación; $R^2=0.29$, $R^2=0.44$, y $R^2=0.00$ respectivamente (Gráfico 2B, 2C y 2D); ratificándose cuando se hace el análisis del peso total del ovario de cluecas y ponedoras, donde el R^2 es de 0.29 y 0.08, respectivamente (Gráfico 2A). Estas diferencias se deben al estado de cluequés de las gallinas; estos hallazgos son congruentes con las investigaciones reportadas en estudios de producción de esteroides ováricos durante la regresión gonadal en pavas (Porter et al. 1991, 581-586) así como también en estudios en los que se encontró células gonadotrópicas FSH presentes en la pituitaria en gallinas ponedoras (Erdost 2005, 1125-1128) y en estudios en los que se afirman que la alta concentración de prolactina interfiere con la esteroidogénesis folicular originando de esta manera la regresión ovárica (Reddy, David y Raju 2006, 156-161).

La Tabla 4 describe que el peso promedio de los F_1 es de $12.43g \pm 1.4g$, máximo peso ya que éste es un folículo preovulatorio; el F_2 tiene $9.77g \pm 0.96g$, el F_3 tiene $6.91g \pm 1.0g$, decreciendo de ésta manera hasta F_8 en donde el peso promedio fue de $0.44g \pm 0.8g$, peso muy pequeño debido a que el folículo está iniciando su desarrollo. En correspondencia a estos pesos, los diámetros mayores y menores descienden desde $31mm \pm 3mm$ y $25.58 mm \pm 2 mm$ hasta $5.24mm \pm 3.37mm$ y $4.01mm \pm 2.63 mm$ respectivamente. Estos pesos y diámetros se dan desde la primera fase etaria que inicia en la semana 19 hasta la cuarta fase etaria en gallinas mayores de 59 semanas. Demostrando así que los pesos y diámetros foliculares aumentan de acuerdo a la edad de la gallina. Comportamiento congruente con las bases teóricas sobre la vitelogénesis (Sauveur 1992, 50-55).

En el Gráfico 3 se muestra el incremento de peso de los folículos vitelogénicos amarillos, de acuerdo al desarrollo folicular según las fases de las edades siguiendo una tendencia exponencial de $y = 0.5335 e^{0.4267x}$ y un coeficiente de determinación del orden del 0.9622, lo cual significa una correlación altamente significativa para las ponedoras de la 4ta fase etaria.

Para las ponedoras de la primera fase etaria su tendencia es de: $y = 0.2627e^{0.4953x}$ y un coeficiente de determinación de 0.986, demostrando que en la primera fase el peso de los folículos se incrementa con mayor velocidad que en las ponedoras de la 4ta fase etaria. Hallazgos similares con las bases teóricas sobre la vitelogenénesis (Sauveur 1992, 50-55).

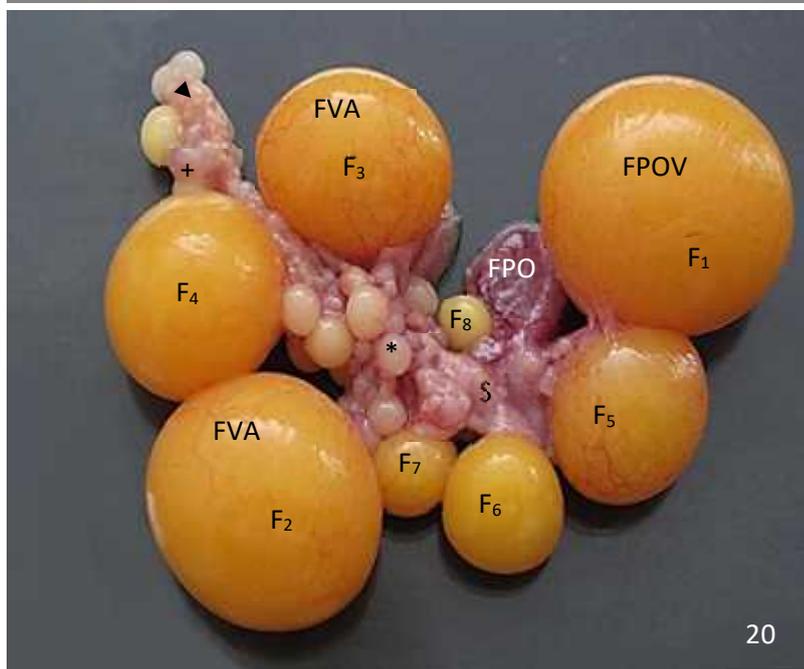


Figura 19. Ovario de una gallina clueca, se observa su reducido tamaño: Estroma (S), Folículos previtelogénicos FPV (), Folículos vitelogénicos blancos FVB (*).

Figura 20. Ovario de una gallina ponedora, obsérvese su gran tamaño, Estroma (S), Folículo vitelogénico amarillo (FVA), Folículo vitelogénico blanco FVB (*), Folículo previtelogénico FPV (), Folículo postovulatorio (FPO), Folículo preovulatorio (FPOV), Folículo atrésico FA (+).

Tabla 3. Peso del ovario, estroma y folículos en gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.

Ovario													
Fases etarias semanas	Cluecas (n=32, 8 por fase)						Ponedoras (n=32, 8 por fase)						
	¹ Peso t. (g)	Estroma			N° FVA	⁵ N° FVB	¹ Peso t. (g)	Estroma			N° FVA (Jerarquía folicular)	⁵ N° FVB	N° FPO
		² Peso (g)	³ Largo (cm)	⁴ Grosor (mm)				² Peso (g)	³ Largo (cm)	⁴ Grosor (mm)			
1 ^{ra}	5.43	5.43	2.46	2.0		62.13		5.72	2.73	3.98		263.88	6.94
19 a 32	±	±	±	±	0	±	35.98 ±	±	±	±	8	±	±
(x, ±S)	2.77	2.77	0.05	0.05		13.08	12.39	1.33	0.58	0.08		53.25	2.21
2 ^{da}	2.35	2.35	2.32	2.05		30.50		6.39	2.35	4.02		279.78	5.56
33 a 44	±	±	±	±	0	±	40.85 ±	±	±	±	7	±	±
(x, ±S)	0.42	0.42	0.54	0.13		15.15	7.54	0.44	0.37	0.10		37.92	0.73
3 ^{ra}	5.41	5.41	2.6	2.03		29.13		7.65	3.17	4.20		269.75	5.00
45 a 58	±	±	±	±	0	±	54.81 ±	±	±	±	6	±	±
(x, ±S)	3.27	3.27	0.56	0.09		21.21	6.77	0.80	0.12	0.11		23.00	1.31
4 ^{ta}	1.53	1.53	1.59	2.01		45.50		6.27	2.89	4.0		350.88	4.88
59 a más	±	±	±	±	0	±	37.81 ±	±	±	±	5	±	±
(x, ±S)	0.27	0.27	0.16	0.06		24.04	7.43	1.67	0.54	0.09		27.18	0.35
	3.68	3.68	2.24	2.02		41.81		6.51	2.79	4.05	6.5	291.07	5.6
x, ±S	±	±	±	±	0	±	42.37 ±	±	±	±	±	±	±
	2.04	2.04	0.44	0.09		15.44	8.54	0.82	0.34	0.10	1.3	40.4	0.9
P <	¹ te= -10.79 P< 0.01		³ te= -2.42 P< 0.05			⁵ te=-11.53 P<0.01		² te= -2.57 P< 0.01		⁴ te= -19.72 P< 0.01			

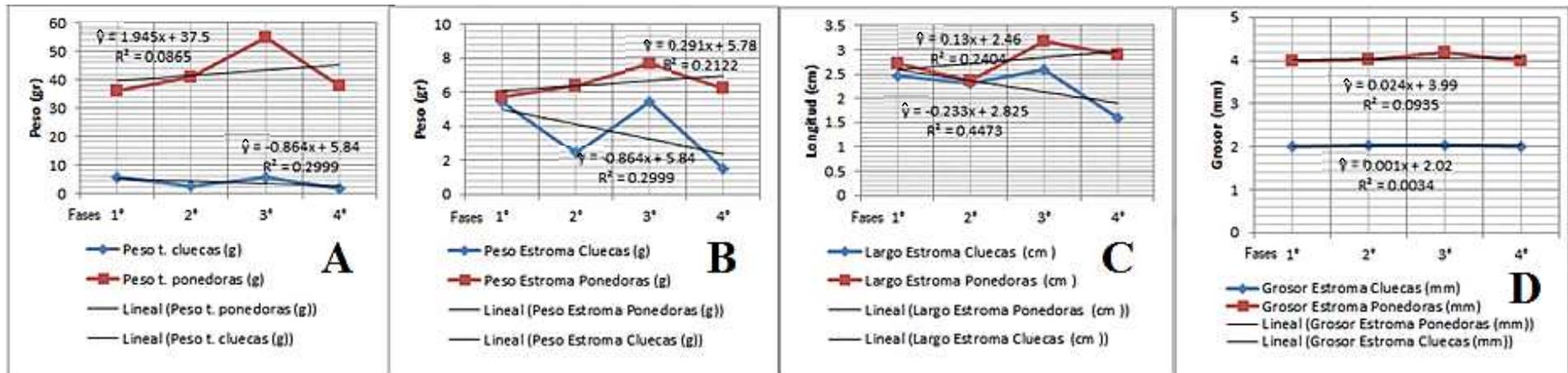


Gráfico 2A. Peso total del ovario según fases etarias en cluecas y ponedoras.

Gráfico 2B. Peso del estroma ovárico según fases etarias en cluecas y ponedoras.

Gráfico 2C. Largo del estroma ovárico según fases etarias en cluecas y ponedoras.

Gráfico 2D. Grosor del estroma ovárico según fases etarias en cluecas y ponedoras.

Gráfico 2. Peso total de ovario; peso, largo y grosor de estroma en gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.

Tabla 4. Pesos y diámetros de los diferentes folículos en jerarquía de ponedoras de acuerdo a las fases etarias.

Folículos Vitelogénicos Amarillos (FVA) – Jerarquía Folicular																								
(n=32, 8 por fase)																								
Fases Etarias (Semanas)	F1			F2			F3			F4			F5			F6			F7			F8		
	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)	peso (g)	D> (mm)	D< (mm)
1 ^{ra}	10.96	27.13	22.39	8.73	23.37	20.74	6.06	20.72	19.64	3.81	20.96	17.03	1.95	15.74	13.16	1.07	10.45	8.51	0.62	8.40	7.07	0.44	5.24	4.01
19 a 32	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
(x, ± S)	1.50	6.97	7.97	1.42	8.24	7.50	1.55	7.52	5.71	1.48	6.70	7.40	1.22	6.42	5.54	1.01	5.17	4.36	0.86	2.62	2.12	0.80	3.37	2.63
2 ^{da}	11.84	30.87	25.76	9.31	28.16	23.77	6.33	25.29	20.58	3.94	20.79	17.13	1.89	16.37	13.24	1.15	10.40	6.02	0.76	8.82	6.00			
33 a 44	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
(x, ± S)	1.56	1.04	1.53	1.52	1.58	1.63	1.53	2.70	1.97	1.43	3.38	2.95	1.06	3.19	2.86	0.46	4.22	5.55	0.17	2.04	2.34			
3 ^{ra}	12.68	31.61	27.05	10.11	29.34	24.80	6.92	25.73	21.84	3.98	20.84	15.75	2.49	11.33	9.83	1.20	14.43	5.18						
45 a 58	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
(x, ± S)	1.94	1.67	2.30	2.31	2.62	2.65	2.38	4.04	3.35	1.83	4.23	3.84	1.80	8.51	7.55	0.62	2.71	6.67						
4 ^{ta}	14.25	34.40	27.11	10.94	30.68	24.86	8.33	28.13	21.79	4.68	22.09	18.25	2.58	17.88	12.40									
59 a más	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±									
(x, ± S)	2.32	3.32	2.75	2.48	3.65	2.61	2.60	3.92	3.93	2.34	4.88	4.15	1.56	5.23	7.45									
	12.43	31.00	25.58	9.77	27.89	23.54	6.91	24.97	20.96	4.10	21.17	17.04	2.23	15.33	12.16	1.14	11.76	6.57	0.69	8.61	6.54	0.44	5.24	4.01
x, ± S	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1.40	3.00	2.21	0.96	3.18	1.94	1.01	3.09	1.05	0.39	0.62	1.02	0.36	2.81	1.60	0.06	2.31	1.73	0.10	0.30	0.76			

F8, F7, ..., F1: Folículos en crecimiento jerárquico

D[>]: Diámetro mayor de folículo.

D[<]: Diámetro menor de folículo

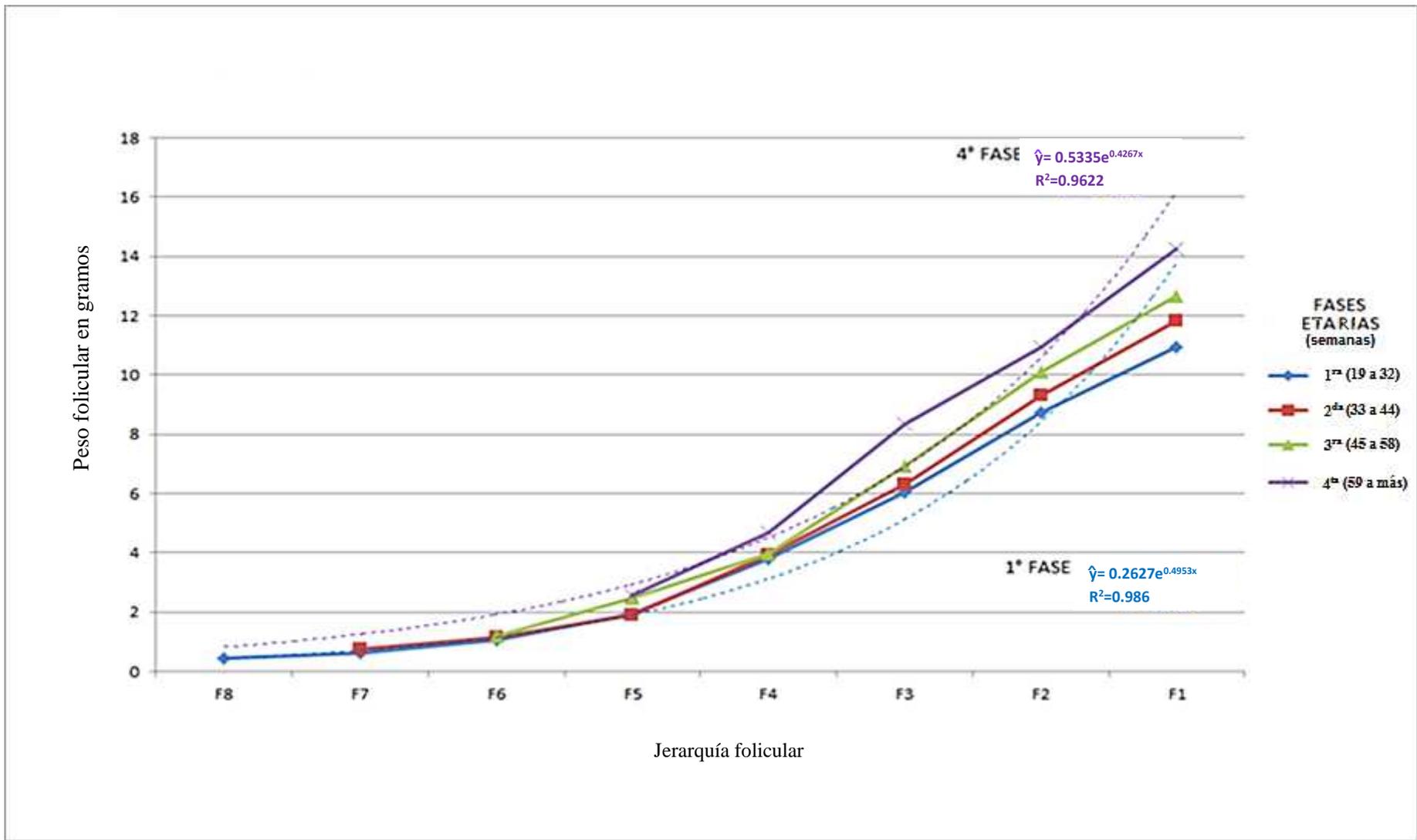


Gráfico 3. Peso folicular según jerarquía y fases etarias en ponedoras Hy-Line

4.3.1.2. Descripción Histológica del Ovario de Gallinas Cluecas y Ponedoras

El ovario de las gallinas cluecas se encuentra totalmente involucionado, no se encontraron folículos vitelogénicos amarillos (FVA), ni folículos postovulatorios (FPO). Estas estructuras sí forman parte del ovario de las ponedoras, en donde se diferencian dos zonas: la corteza ovárica o periférica y la médula o interna. La corteza está constituida por tejido conectivo denso y una red de fibras colágenas, aquí se localizan los folículos en diferentes estadios de desarrollo, los postovulatorios y atrésicos. En la zona medular se destaca abundante tejido conectivo denso en contacto con la corteza y más laxo con espacios lacunares hacia el interior del ovario con notorios vasos sanguíneos y nervios. La gónada está revestida de una capa densa de células planas con núcleos basófilos denominada “epitelio germinal” (Fig. 21). Características también encontradas en investigaciones histomorfométricas de ovarios en palomas (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

4.3.1.3 Folículos Ováricos en Diferentes Estadios de Desarrollo

A: Ovocitos primarios o primordiales (OP)

Estas estructuras muy pequeñas y redondeadas se observan en forma de cordones sobre el estroma cortical ovárico. Están constituidos por el ovocito o célula germinal y las células foliculares. El núcleo ovocitario presenta un prominente nucléolo y los cromosomas en configuración diplotene o *lampbrush*. Una capa de células aplanadas rodea a los OP constituyendo el estrato folicular o la granulosa, están ausentes las envolturas tecales; éstas características se observan en los ovarios de las ponedoras en las diferentes fases etarias (Fig. 22). Estas características también fueron encontradas en ovarios en palomas (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

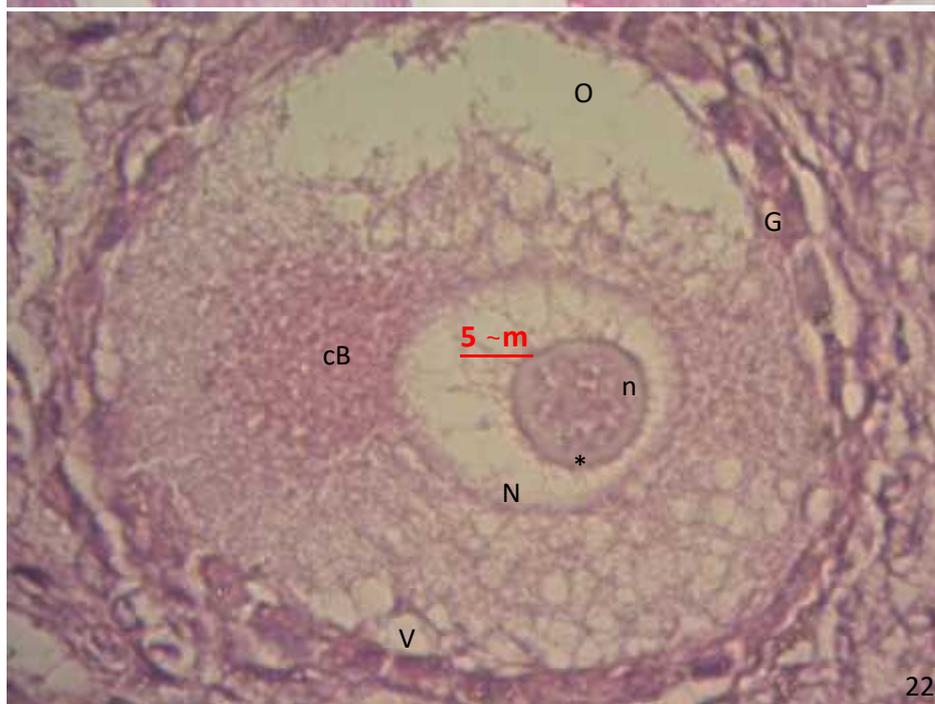
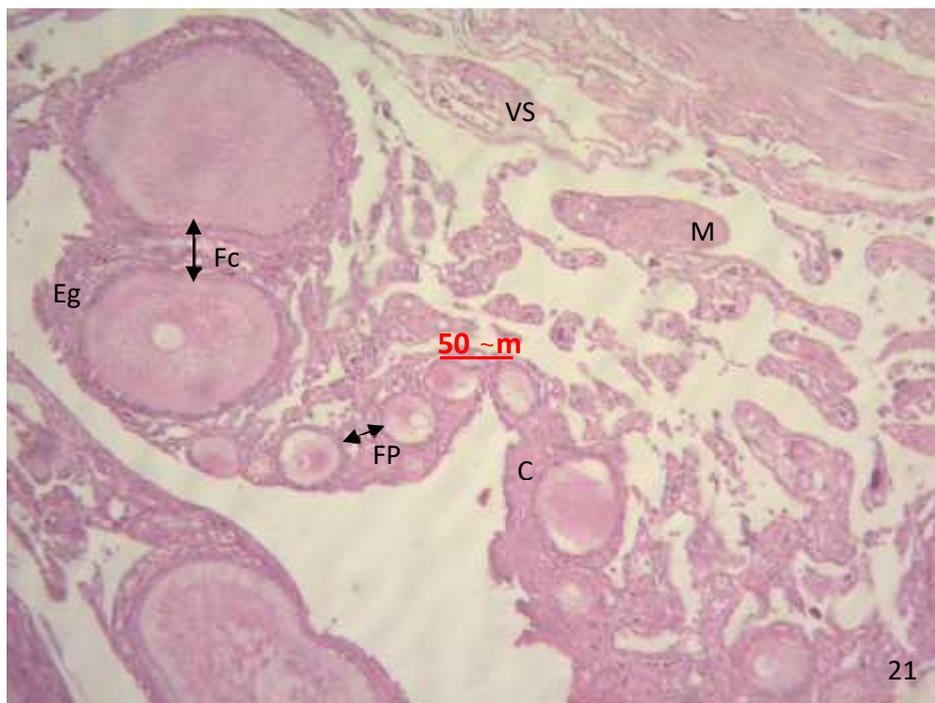


Figura 21. Estroma ovárico de gallina ponedora. 100X. Coloración (H-E). Se observa la corteza (C); Médula (M); Folículos primordiales (FP); Vasos sanguíneos (VS); Epitelio germinal (Eg); Folículos en crecimiento (Fc).

Figura 22. Folículo primordial de ponedora (FP). 1000X. H-E. Se observa el Oocito (O); capa simple de células de la granulosa aplanadas (G); un cuerpo de Balbiani (cB) que rodea al núcleo (N) en forma de media luna; un nucléolo (n), en éste se destacan los cromosomas en configuración *lampbrush* (*); Vacuolas (V); las envolturas tecales no se visualizan.

B. Folículos previtelogénicos (FPV)

En los FPV las células foliculares de la granulosa forman un epitelio columnar alto pseudoestratificado y las envolturas tecales están bien delimitadas, teca interna y teca externa; entre éstas envolturas se localizan grupos de cuatro a cinco células de aspecto glandular; es notorio el cuerpo de Balbiani esférico que rodea al núcleo, las granulaciones citoplasmáticas están dispuestas en la zona cortical del ovoplasma, en el nucléolo los cromosomas están en configuración *lampbrush*. Todas estas características se observan en ovarios de las ponedoras (Fig.23 y Fig.27). Similares caracteres fueron encontrados en ovarios de palomas (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

C. Folículos vitelogénicos blancos (FVB)

Las células de la granulosa constituyen una capa pluriestratificada y las envolturas tecales están muy bien diferenciadas entre sí. En la zona cortical del ovoplasma, se evidencia la zona radiada por el aspecto estriado, también los gránulos de aspecto lipídico de varias formas y tamaños, y las gotas de vitelo. Todas éstas características se observan en las ponedoras (Fig.24 y Fig.25). Caracteres similares fueron encontrados en ovarios de palomas (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

D. Folículos vitelogénicos amarillos (FVA)

El color amarillo se debe a la incorporación de vitelo pigmentado. Las medidas y pesos varían de acuerdo a los diferentes estados en la jerarquía ya descritos en la Tabla 4 y Gráfico 3. En éste folículo se encuentra un ovoplasma donde existen gránulos de vitelo, es muy notoria la zona radiada y la capa perivitelina que en otras especies es denominada zona pelúcida, las células foliculares de la granulosa, se hacen células cuboidales más notorias con núcleos basófilos, seguidamente la lámina basal la separa de la teca interna, que se adelgaza, la teca externa presenta un tejido conectivo ricamente vascularizado; todos los folículos están rodeados de un epitelio superficial (Figura 26). El ordenamiento por el tamaño de los 8 o 5 folículos más grandes que las ponedoras tienen a lo largo de su vida productiva constituye la “jerarquía folicular” ya estudiada (Tabla 4). Estas características son congruentes a las observadas en ovarios de palomas (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49; Altamirano, Bulfon y Bee de Speroni 2009, 61-66; Claver et al. 2008, 353-361).

E. Folículos preovulatorios (FPOV)

Estos alcanzan un peso promedio de 10.96 ± 1.50 g. en gallinas de la primera fase etaria hasta 14.25 ± 2.32 g. en la 4ta fase y un diámetro mayor promedio de 27.13 ± 6.97 mm hasta 31.00 ± 3.00 mm, un diámetro menor promedio de 22.39 ± 7.97 mm hasta 25.58 ± 2.21 mm, respectivamente (Tabla 4); estos folículos presentan un color amarillo intenso, tienen notable irrigación en las envolturas foliculares, destacándose en el área central una zona más pálida e hipovascular denominada estigma, en esta área folicular se produce la ruptura de las paredes foliculares durante la ovulación (Fig.20). Estas características son congruentes con las descritas en estudios del ovario de gallinas (Sauveur 1992, 55-76).

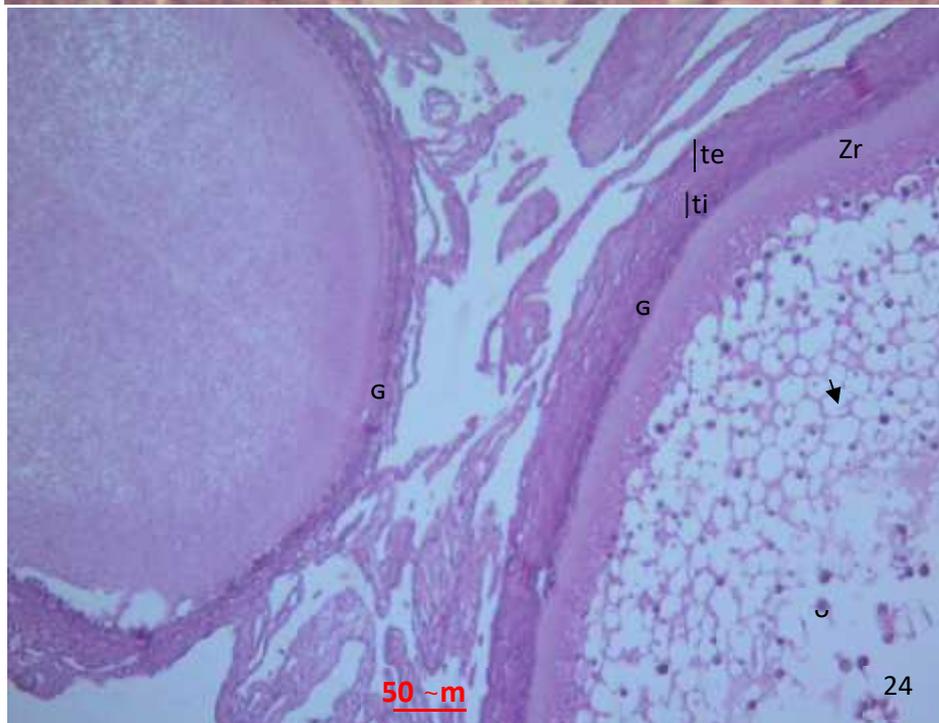


Figura 23. Folículo primordial en proceso a Folículo previtelogénico de ponedora (FPV) 1000X. H-E. Las células de la granulosa (G) forman un epitelio columnar alto pseudoestratificado. Las envolturas tecales están bien diferenciadas, teca interna (ti) y teca externa (te) con células glandulares (Cg). Hay un cuerpo de Balbiani (cB) que rodea al núcleo(N). En el nucléolo (n) los cromosomas están en configuración *lampbrush* (*). Vacuolas (V).

Figura 24. Folículo vitelogénico blanco de ponedora (FVB). 100X. H-E. Se observan Células de la granulosa (G), teca interna (ti), y teca externa (te), zona radiada (Zr), gránulos de aspecto lipídico () y gotas de vitelo (∪).



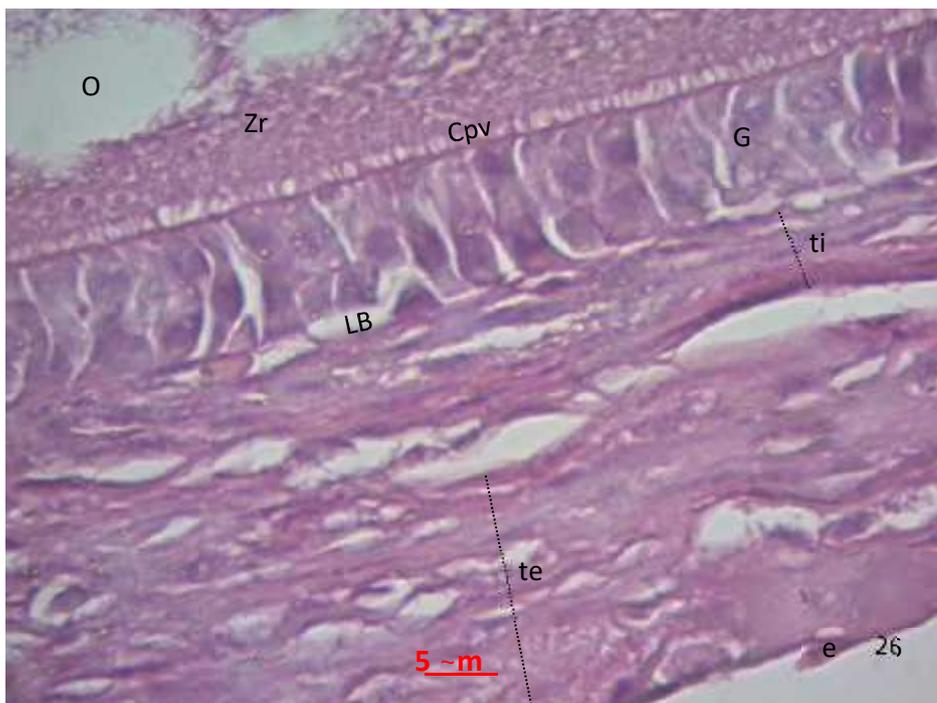
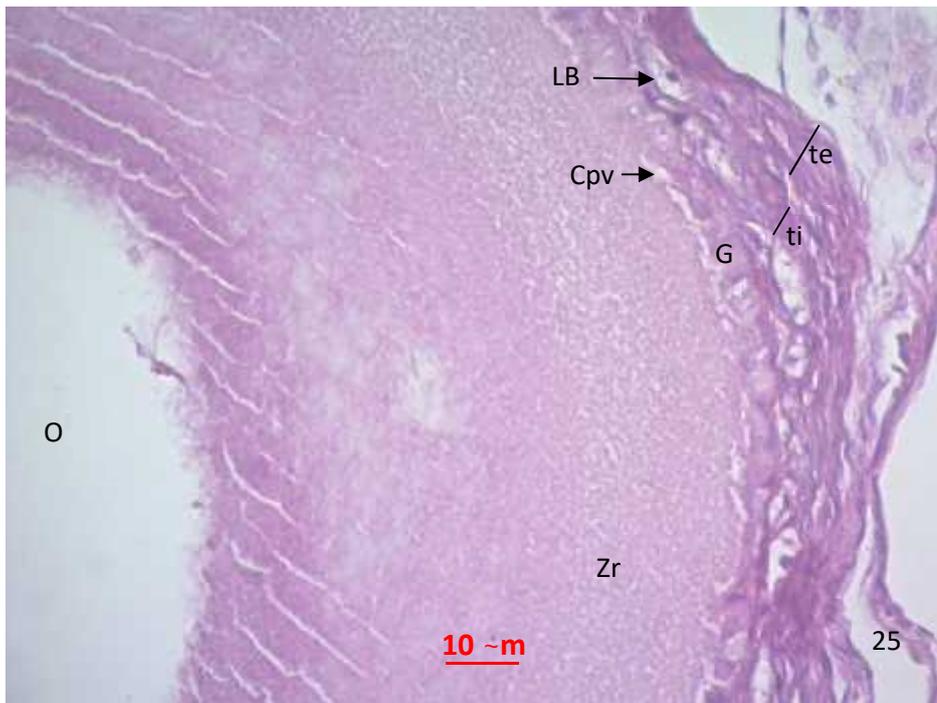


Figura 25. Folículo vitelogénico blanco (FVB) de una ponedora 400X. H-E. Se observa células de la granulosa (G), la teca interna (ti) y la teca externa (te) bien diferenciada. La zona radiada (Zr), capa perivitelina (Cpv), lámina basal (LB) y el ovoplasma (O).

Figura 26. Folículo vitelogénico amarillo de una ponedora (FVA). 1000X. H-E. Se observa el ovoplasma (O), la zona radiada (Zr), la capa perivitelina (Cpv), las células de la granulosa (G), la lámina basal (LB), la teca interna (ti), la teca externa (te) y el epitelio (e).

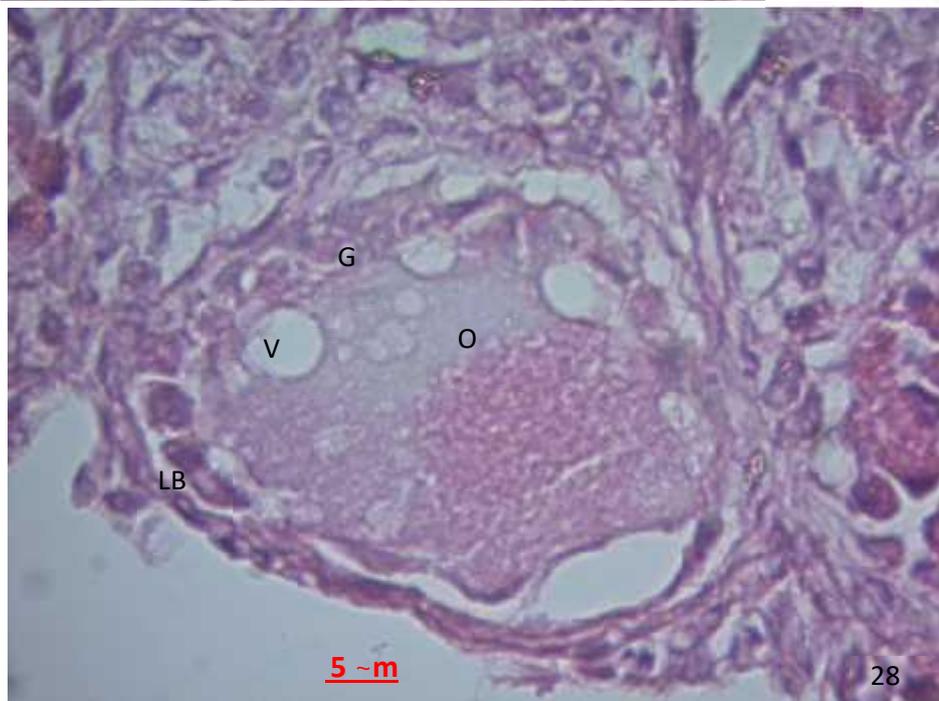
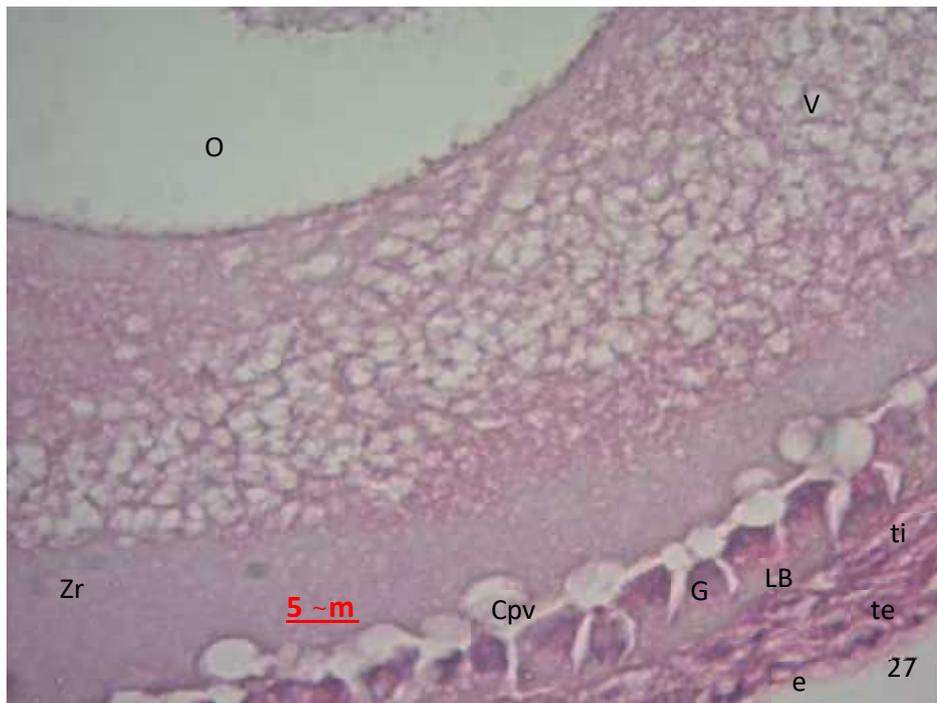


Figura 27. Folículo previtelogénico (FPV) de una ponedora. 1000X. H-E. Se visualiza el ovoplasma(O), la zona radiada (Zr), la capa perivitelina (Cpv), la granulosa (G), la lámina basal (LB), la teca interna (ti), la teca externa (te), el epitelio (e) y Vacuolas (V).

Figura 28. Folículo atrésico en ponedora 1000X. H-E. Atresia lipoidal de un Folículo primordial, se aprecia la desorganización del citoplasma. Gran cantidad de vacuolas (V) de aspecto lipídico en toda la estructura del ovocito (O). Desprendimiento de la granulosa (G) de la lámina basal (LB).

F. Folículos post ovulatorios (FPO)

Se observan como un saco de tejido conectivo solamente en las ponedoras, con una prominente abertura que se formó por la ovulación. En el interior quedan restos de epitelio folicular y abundantes células de aspecto luteal con escasas células de la granulosa; las envolturas tecales están muy engrosadas y notablemente irrigadas. Hallazgos congruentes con las bases teóricas del funcionamiento ovárico (Sauveur 1992, 55-76).

G. Folículos atrésicos (FA)

La atresia folicular es un proceso degenerativo normal en el ovario, caracterizada por la desintegración del epitelio folicular, la destrucción del núcleo o cariólisis y la fragmentación citoplasmática; afectando a los OP, FPV, FVB y FVA. (Fig. 20). La Figura 28, muestra una atresia lipoidal de un ovocito primordial de una ponedora, caracterizado por gran cantidad de vacuolas de aspecto lipídico que invade paulatinamente al ovoplasma folicular y la desorganización del citoplasma.

El estroma ovárico de la gallina clueca se muestra con abundantes folículos atrésicos; los ovocitos exhiben un aspecto contraído, el ovoplasma presenta gran cantidad de gotas lipídicas que comprimen al núcleo y las células de la granulosa se desprenden de la membrana basal. Todo esto conlleva a una inactividad de la gónada (Fig. 30). En el estroma ovárico de las gallinas ponedoras se visualiza abundante tejido intersticial y vasos sanguíneos, los que se encuentran en la médula que se sitúa en el centro del ovario y contiene tejido conjuntivo laxo, vasos linfáticos y nervios. La región cortical rodea la médula y en ésta se encuentran los folículos ováricos en diferentes estadios de crecimiento (Fig. 29). Lo encontrado es similar a lo obtenido en investigaciones en palomas (Maron, Bulfon y Bee de Speroni 2012, 43-49).

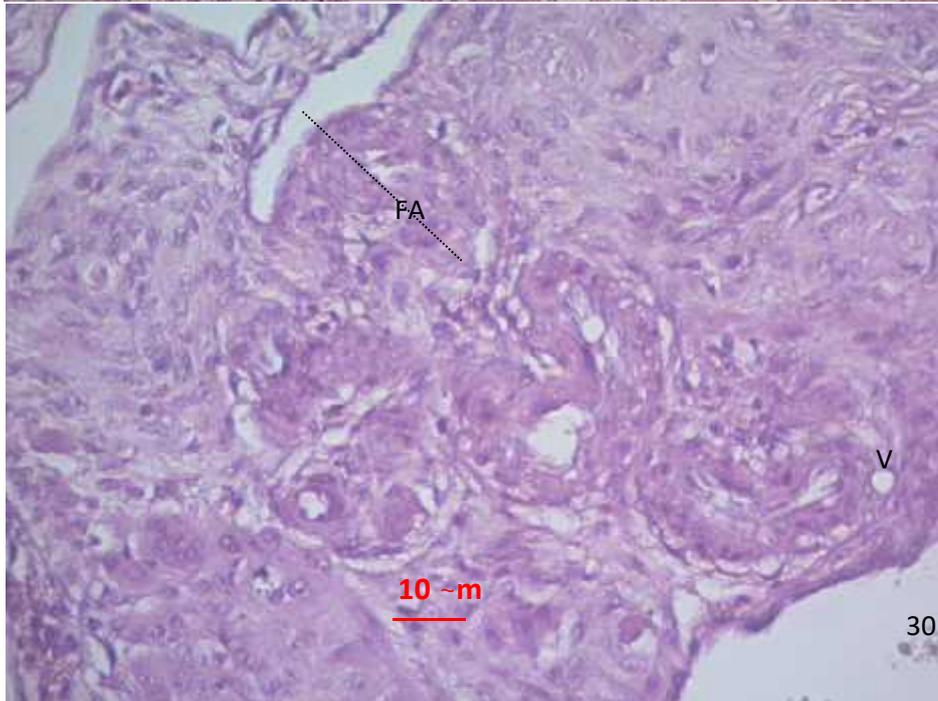
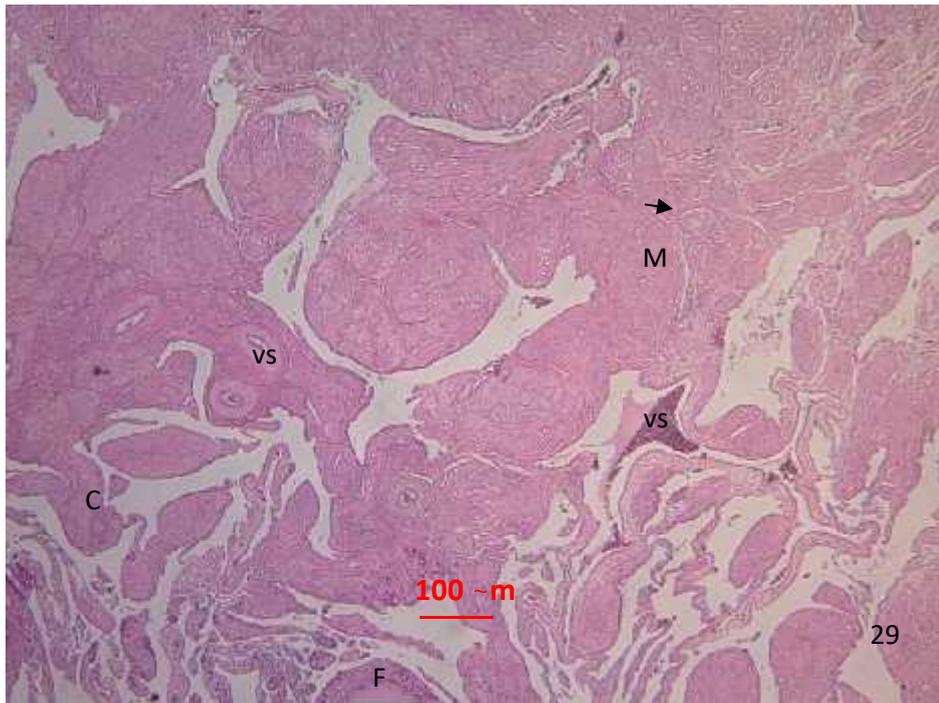


Figura 29. Estroma ovárico de ponedora 40X. H-E. Abundante tejido intersticial () y vasos sanguíneos (vs) los que se encuentran en la médula (M). Folículos que se encuentran en la zona cortical (F).

Figura 30. Estroma ovárico de gallina clueca 400X. H-E. Se aprecia gran cantidad de folículos atrésicos de aspecto contraído (FA) y abundantes vacuolas lipídicas (V).

4.3.2. El Oviducto

4.3.2.1: Descripción Anátomo histológica del Oviducto

El Oviducto de las ponedoras está formado por el Infundíbulum, magnum, istmo, útero, y vagina. La Tabla 5 muestra que el Oviducto en las gallinas cluecas tiene un largo promedio de $25.04\text{cm} \pm 3.59\text{cm}$ y en las ponedoras de $69.59\text{cm} \pm 4.82\text{cm}$., diferencia altamente significativa ($P < 0.01$). El Peso del oviducto en gallinas cluecas es de $7.47\text{g} \pm 5.15\text{g}$ y en las ponedoras es de $60.33\text{g} \pm 5.35\text{g}$, diferencia altamente significativa ($P < 0.01$); evidenciando la involución y el no funcionamiento de éste órgano en las gallinas cluecas (Figura 17).

En el Gráfico 4 se observa que el 87% de los cambios en la longitud del oviducto de las gallinas ponedoras se explican por la edad; su tendencia es a disminuir la longitud, pero con menor rapidez que en las cluecas, en las que el 73% de la variación de la longitud del oviducto es debido a la edad, tendencias exponenciales que se observan en el presente gráfico.

En el Gráfico 5 se aprecia que la variación del peso del oviducto explicada por las fases etarias es 87% en las gallinas cluecas y en las ponedoras 67%, respectivamente, mostrando una tendencia a disminuir más rápido en las cluecas que en las ponedoras.

Estos resultados se deben a la existencia de los bajos niveles de estrógenos y progesterona en gallinas cluecas tal como lo afirma la base teórica sobre las funciones de estas hormonas en el crecimiento del oviducto (Sauveur 1992, 55-76).

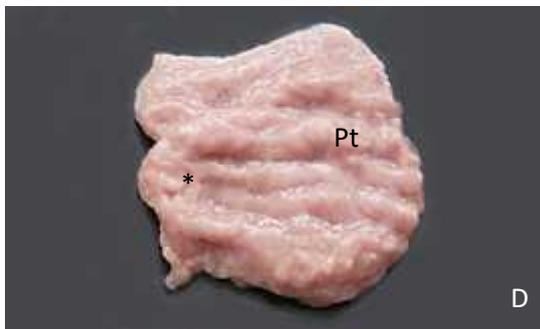
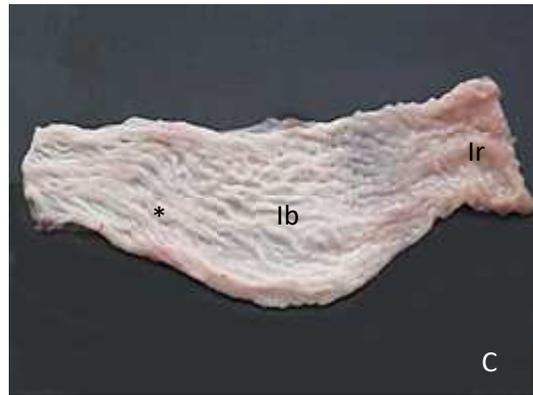
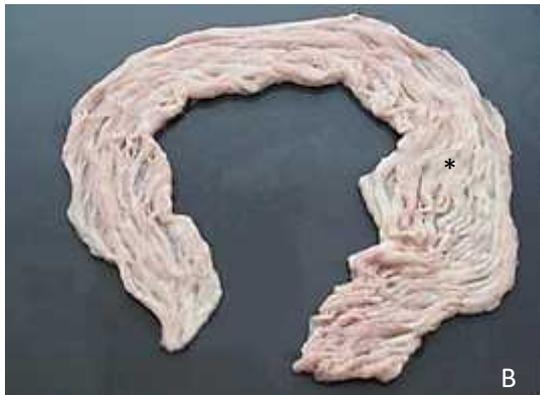


Figura 31. Morfología del Oviducto de gallinas ponedoras: A- Infundíbulo, con la región craneal en forma de embudo () y región caudal tubular (), con presencia de pliegues longitudinales (*). B- Mucosa de Magnum con pliegues muy altos y engrosados (*). C- Mucosa del Istmo, se observa pliegues cortos y menos pronunciados (*) en la zona del Istmo blanco (Ib) e Istmo rojo (Ir). D- Mucosa del Útero muy engrosada con abundantes pliegues largos (*) y protuberancias transversales (Pt). E- Mucosa de Vagina con la presencia de pliegues (*).



Figura 32. Morfología del Oviducto de gallinas cluecas: A- Se observa el Infundíbulo muy reducido, en la región craneal en forma de embudo (►) y en la región caudal la forma tubular (.....), no se visualizan pliegues, se nota atrofiado. B- La mucosa del Magnum tiene pliegues longitudinales (*) y un tanto oblicuos (+) los que están muy reducidos de tamaño, está muy atrofiado. C- El Istmo está muy reducido de tamaño, en la mucosa los pliegues son escasamente notorios (*), Istmo blanco (Ib) e Istmo rojo (Ir). D- Útero, muy reducido de tamaño, en la mucosa se visualizan pequeños pliegues (*). E- Vagina, disminuida de tamaño, se observan pliegues (*).

Tabla 5. Peso y longitud del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.

Oviducto				
Fases etarias (semanas)	¹Cluecas	¹Ponedoras	²Cluecas	²Ponedoras
	Peso (g)	Peso (g)	Largo (cm)	Largo (cm)
1^{ra}				
19 a 32	15.03 ± 8.21	62.68 ± 5.71	30.02 ± 9.32	73.93 ± 12.67
(x̄ ± s)				
2^{da}				
33 a 44	5.88 ± 2.85	66.53 ± 5.92	23.54 ± 6.58	73.51 ± 7.07
(x̄ ± s)				
3^{ra}				
45 a 58	5.45 ± 4.73	57.68 ± 3.17	24.97 ± 6.78	66.03 ± 3.73
(x̄ ± s)				
4^{ta}				
59 a más	3.51 ± 1.16	54.43 ± 6.82	21.64 ± 3.21	64.85 ± 4.36
(x̄ ± s)				
x̄ ± s	7.47 ± 5.15	60.33 ± 5.35	25.05 ± 2.65	69.59 ± 4.82
P <	¹te = -17.44		²te = -18	
	P < 0.01		P < 0.01	
Número de gallinas	Cluecas: 32, 8 por fase. Ponedoras: 32, 8 por fase			

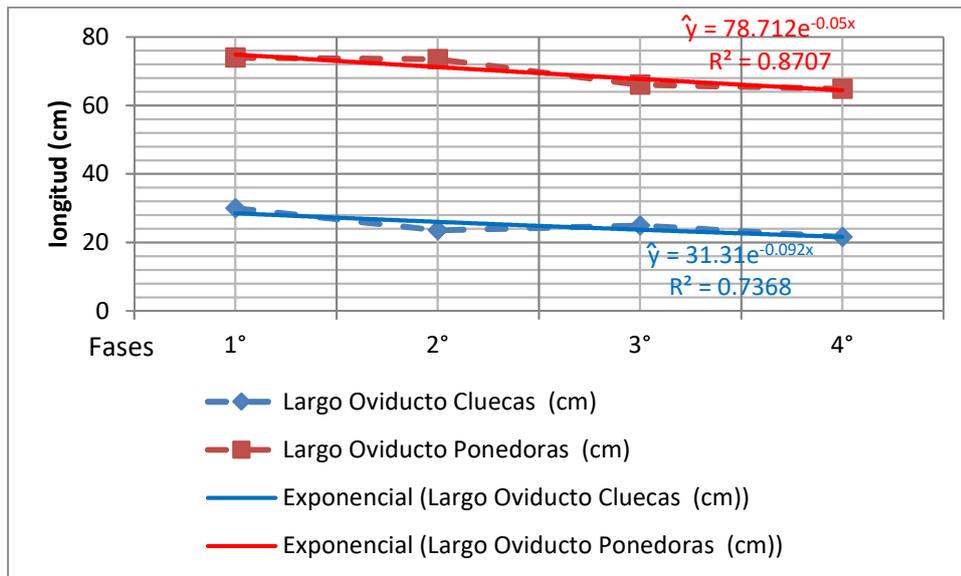


Gráfico 4. Longitud del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.

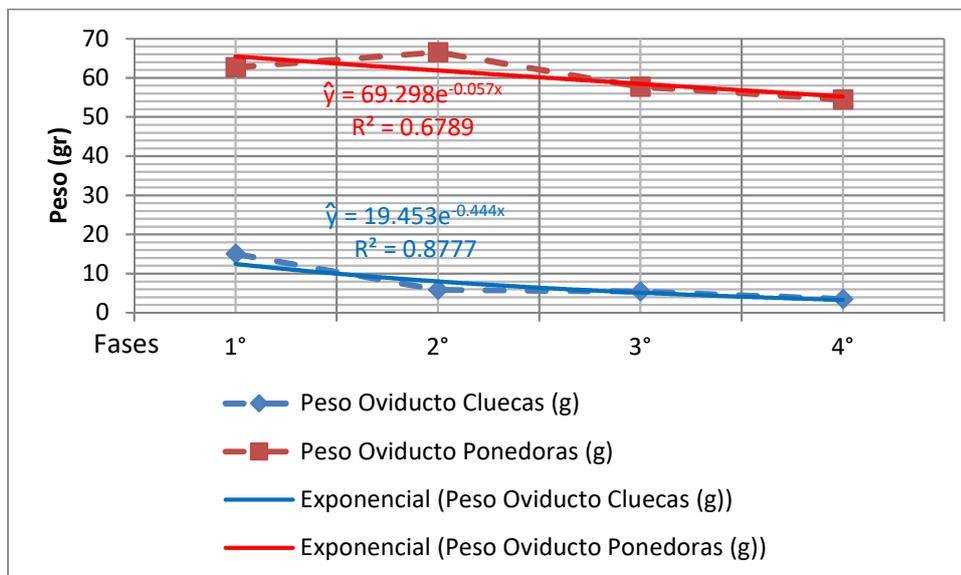


Gráfico 5. Peso del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras de acuerdo a las fases etarias.

Partes del oviducto	Semanas	FASES	CLUECAS (n=32, 8 por fase)				PONEDORAS (n=32, 8 por fase)			
			Peso (g)	Largo (cm)	Diámetro(cm)	Grosor (mm)	Peso (g)	Largo (cm)	Diámetro (cm)	Grosor (mm)
Infundíbulum	19 a 32	1ra	0.60 ± 0.27	5.10 ± 1.00	0.98 ± 0.11	1.18±0.05	1.89 ± 0.22	9.47 ± 2.85	0.77 ± 0.10	1.96±0.05
	33 a 44	2da	0.27 ± 0.14	3.04 ± 1.12	0.93 ± 0.12	1.26±0.07	2.08 ± 0.54	8.08 ± 1.44	1.95 ± 0.53	1.96±0.05
	45 a 58	3ra	0.28 ± 0.14	3.69 ± 1.13	0.68 ± 0.14	1.41±0.06	2.11 ± 0.30	9.61 ± 1.48	1.57 ± 0.20	1.95±0.05
	59 a más	4ta	0.17 ± 0.05	2.15 ± 0.53	0.84 ± 0.14	1.41±0.08	1.71 ± 0.27	7.59 ± 1.67	1.24 ± 0.41	1.94±0.05
		x, \bar{x} ± S		0.33 ± 0.19	3.5 ± 1.24	0.86 ± 0.13	1.3±0.1	1.95 ± 0.19	8.69 ± 1.01	1.38 ± 0.50
Magnum	19 a 32	1ra	4.63 ± 3.21	10.67 ± 7.35	0.98 ± 0.23	1.40±0.09	32.09 ± 3.90	38.44 ± 12.39	2.20 ± 0.51	3.15±0.14
	33 a 44	2da	1.63 ± 1.09	10.01 ± 3.19	0.67 ± 0.16	1.40±0.08	34.24 ± 4.28	38.23 ± 4.59	2.92 ± 0.85	3.28±0.07
	45 a 58	3ra	1.72 ± 1.40	12.06 ± 3.36	0.77 ± 0.04	1.40±0.09	27.76 ± 1.79	33.65 ± 2.24	2.0 ± 0.23	3.20±0.13
	59 a más	4ta	0.88 ± 0.34	9.69 ± 1.75	0.78 ± 0.07	1.40±0.09	26.42 ± 4.64	34.23 ± 3.11	2.23 ± 0.23	3.36±0.05
		x, \bar{x} ± S		2.22 ± 1.65	10.61 ± 1.05	0.8 ± 0.13	1.40±0.0	30.13 ± 3.66	36.31 ± 2.76	2.34 ± 0.40
Istmo	19 a 32	1ra	1.91 ± 1.17	7.05 ± 2.15	0.87 ± 0.14	1.35±0.05	7.57 ± 1.20	12.46 ± 2.12	1.42 ± 0.26	2.28±0.08
	33 a 44	2da	0.73 ± 0.52	4.82 ± 1.37	0.74 ± 0.07	1.35±0.07	7.71 ± 0.93	12.21 ± 1.74	1.55 ± 0.22	2.91±0.03
	45 a 58	3ra	0.73 ± 0.62	4.49 ± 2.50	0.68 ± 0.07	1.34±0.05	6.12 ± 0.25	11.48 ± 0.27	1.71 ± 0.16	2.91±0.04
	59 a más	4ta	0.45 ± 0.14	4.48 ± 0.93	0.75 ± 0.05	1.33±0.05	5.82 ± 1.03	11.28 ± 0.58	1.59 ± 0.15	2.98±0.05
		x, \bar{x} ± S		0.95 ± 0.65	5.21 ± 1.24	0.76 ± 0.08	1.34±0.00	6.81 ± 0.97	11.86 ± 0.57	1.57 ± 0.12
Útero	19 a 32	1ra	4.91 ± 2.57	2.63 ± 1.01	2.90 ± 0.42	1.95±0.05	14.98 ± 1.90	5.62 ± 0.77	4.17 ± 0.71	3.97±0.05
	33 a 44	2da	1.85 ± 0.83	2.02 ± 0.50	2.33 ± 0.34	1.95±0.05	16.04 ± 1.70	4.97 ± 0.67	4.07 ± 0.51	4.44±0.14
	45 a 58	3ra	1.80 ± 2.10	1.84 ± 0.56	2.12 ± 0.43	1.92±0.04	14.93 ± 1.31	4.43 ± 0.63	4.19 ± 0.58	4.39±0.12
	59 a más	4ta	0.99 ± 0.45	1.62 ± 0.43	1.77 ± 0.22	1.93±0.05	19.36 ± 2.6	4.16 ± 1.02	4.40 ± 0.85	4.34±0.17
		x, \bar{x} ± S		2.39 ± 1.73	2.03 ± 0.43	2.28 ± 0.47	1.94±0.01	15.33 ± 0.51	4.80 ± 0.64	4.21 ± 0.14
Vagina	19 a 32	1ra	2.99 ± 1.26	4.58 ± 1.17	0.74 ± 0.10	1.25±0.47	6.15 ± 1.09	7.98 ± 2.23	0.75 ± 0.23	2.44±0.07
	33 a 44	2da	1.40 ± 0.42	3.66 ± 1.49	0.75 ± 0.07	1.34±0.10	6.46 ± 0.59	9.32 ± 1.31	0.94 ± 0.10	2.42±0.11
	45 a 58	3ra	0.92 ± 0.50	2.89 ± 0.93	0.76 ± 0.05	1.41±0.08	6.77 ± 0.33	6.88 ± 0.69	1.06 ± 0.12	2.49±0.04
	59 a más	4ta	1.04 ± 0.23	3.70 ± 0.52	0.67 ± 0.06	1.44±0.05	5.13 ± 0.89	7.60 ± 1.36	0.95 ± 0.08	2.48±0.07
		x, \bar{x} ± S		1.59 ± 0.96	3.71 ± 0.69	0.73 ± 0.04	1.36±0.08	6.13 ± 0.71	7.95 ± 1.02	0.93 ± 0.13

En la Tabla 6 mostrada anteriormente se detallan medidas de las diferentes partes del oviducto de gallinas cluecas y ponedoras (infundíbulum, magnum, istmo, útero y vagina) que tienen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$); las que se describen a continuación:

A. Infundíbulum o Pabellón

Zona muy fina no sujeta al ovario, tiene la forma de embudo, en las gallinas cluecas tiene un peso de: $0.33\text{g} \pm 0.19\text{g}$; largo de $3.5\text{cm} \pm 1.24\text{cm}$; diámetro de $0.86\text{cm} \pm 0.13\text{cm}$; grosor de $1.3\text{mm} \pm 0.1\text{mm}$ y en las gallinas ponedoras un peso de $1.95\text{g} \pm 0.19\text{g}$; Largo de $8.69\text{cm} \pm 1.01\text{cm}$; diámetro de $1.38\text{cm} \pm 0.50\text{cm}$; y grosor de $1.95\text{mm} \pm 0.0\text{mm}$, abriéndose inmediatamente caudal al ovario, no tiene inserción directa a éste, el embudo del infundíbulum se estrecha rápidamente para formar el cuello. La estructura interna extremadamente delgada de la pared del embudo presenta un borde con fimbrias en la extremidad craneal del oviducto que permite la entrada de los grandes folículos que se encuentran suspendidos en el ovario. La mucosa tiene pliegues longitudinales y oblicuos que gradualmente aumentan de tamaño de la porción craneal a la caudal. Este compartimento es el lugar receptor de los ovocitos destinados a ser fertilizados en la porción caudal del infundíbulum (Figura 32 A, para cluecas y Figura 31 A, para ponedoras).

Histológicamente; La porción craneal del infundíbulum presenta mucosa con pliegues bajos y es revestido por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado no-secretor apoyado en una lámina propia de tejido conjuntivo laxo interno bien vascularizado, seguidamente se observa una capa de tejido muscular liso, con fibras musculares circulares con tejido conjuntivo externo y fibras musculares longitudinales continuas con la serosa. En la región caudal se observa una mucosa con pliegues más altos, recubierto por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado con células caliciformes, las que están intercaladas entre las células cilíndricas ciliadas en la superficie inferior del epitelio o sea más próximas a la lámina basal y producen moco. Este epitelio reposa sobre una lámina propia de tejido conjuntivo laxo ricamente vascularizado, donde se encuentran glándulas tubulares, también secretoras de moco. El resto de la pared es la capa muscular y la capa serosa. Estas características se visualizan en la Figura 33 para gallinas ponedoras y en la Figura 34 para gallinas cluecas, en estas últimas se resalta atrofia de los pliegues, abundante tejido conectivo, epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado, células caliciformes y glándulas tubulares atrofiadas, evidenciando el estado de cluequés en las gallinas. Estos resultados concuerdan con las investigaciones en oviducto de perdiz (Moraes et al. 2007, 146-152), oviducto de codorniz (Moraes et al. 20010, 293-301) y bases teóricas sobre el oviducto de las aves (Sauer 1992, 55-76).

La actividad secretora del infundíbulo asegura la capa externa de la membrana vitelina. Esta capa está constituida por pequeñas fibras de composición muy parecida a la del albumen denso y representa casi los dos tercios del espesor total de la membrana, dicha capa juega un papel muy importante en la protección de la yema contra la transferencia de agua procedente de la clara en las gallinas ponedoras (Sauveur 1992, 55-76).

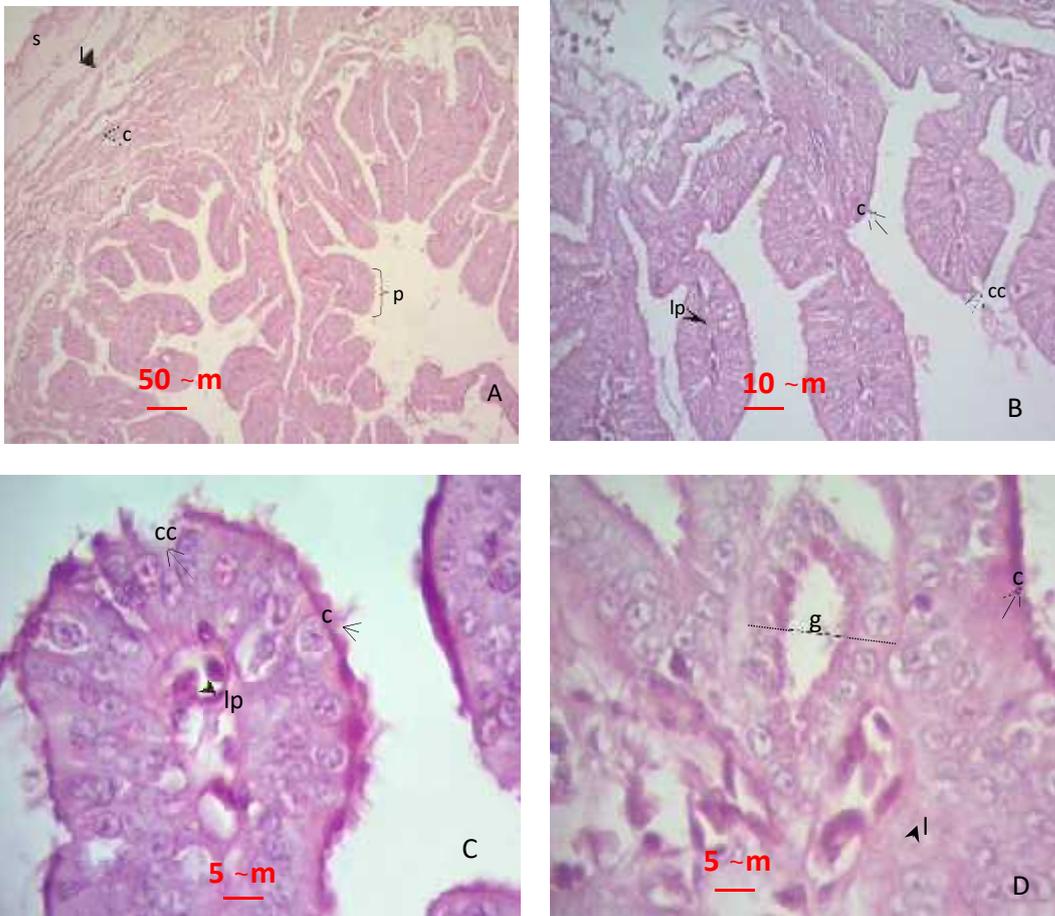


Figura 33. Infundíbulo de ponedoras: **A-** Mucosa revestida por pliegues (p), zona muscular visualizándose fibras longitudinales (l) y fibras musculares circulares (c) y serosa (s). H-E. 100 X. **B-** Mucosa revestida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (c) con células caliciformes (cc) apoyadas en la lámina propia (lp). H-E. 400X. **C-** Epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (c) con células caliciformes (cc) apoyadas en la lámina propia (lp) con abundante tejido conectivo laxo, con mayor cantidad de vasos sanguíneos. H-E. 1000x. **D-** Células cilíndricas ciliadas (c) y glándula tubular sobre la lámina propia (lp). H-E. 1000X

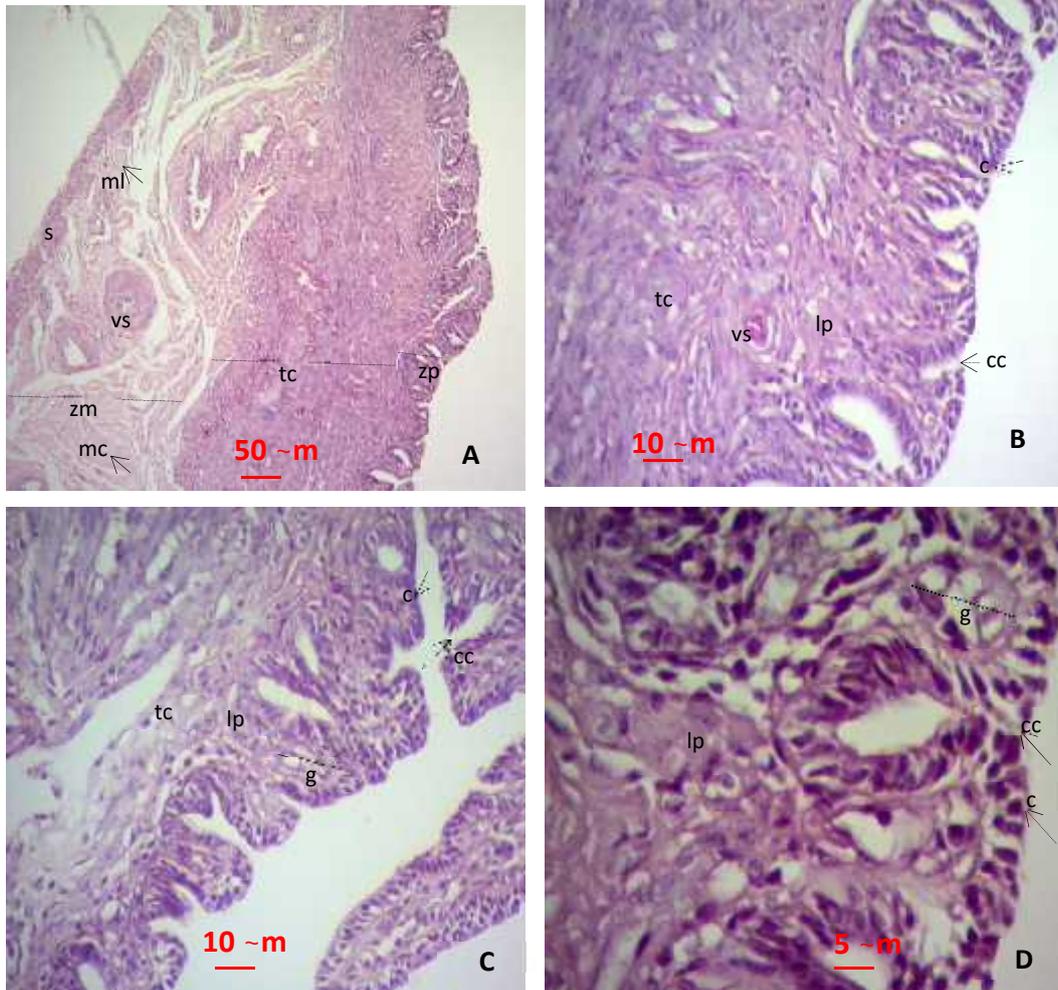


Figura 34. Infundíbulo de cluecas: **A-** Mucosa revestida por pliegues atrofiados (zp), abundante tejido conectivo (tc), zona muscular (zm) visualizándose fibras musculares circulares (mc) y longitudinales (ml) hacia el exterior donde se encuentran los vasos sanguíneos (vs) y serosa (s). H-E. 100X. **B-** Mucosa revestida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (c) y células caliciformes (cc) marcadamente atrofiadas, apoyadas en la lámina propia (lp), abundante tejido conectivo (tc) denso más fibras elásticas reticulina y algunas colágenas y presencia de vasos sanguíneos (vs). H-E. 400X. **C-** Mucosa revestida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (c), células caliciformes (cc), glándula tubular (g) marcadamente atrofiada, apoyada en la lámina propia (lp) y abundante tejido conectivo (tc) H-E. 400x. **D-** Células cilíndricas ciliadas (c), células caliciformes (cc) y glándula tubular (g) marcadamente atrofiadas sobre la lámina propia (lp). H-E. 1000X.

B: El Magnum

Es la parte más larga del oviducto y de coloración blanco rosada. En las gallinas cluecas tiene un peso promedio de $2.22\text{g} \pm 1.65\text{g}$; un largo de $10.61\text{cm} \pm 1.05\text{cm}$; un diámetro de $0.8\text{cm} \pm 0.13\text{cm}$ y un grosor de $1.40\text{mm} \pm 0.0\text{mm}$. y en las gallinas ponedoras tiene un peso promedio de $30.13\text{g} \pm 3.66\text{g}$; un largo de $36.31\text{cm} \pm 2.76\text{cm}$; un diámetro de $2.34\text{cm} \pm 0.40\text{cm}$ y un grosor de $3.25\text{mm} \pm 0.09\text{mm}$, diferencias altamente significativas ($P < 0.01$). Su pared es más elástica y engrosada que el infundíbulo, debido a la presencia de glándulas en el interior de los pliegues longitudinales de la mucosa; los últimos centímetros del magno presentan pliegues reducidos (Fig. 31B para las ponedoras y Fig. 32B para cluecas). Estas características hacen ver la marcada diferencia entre las gallinas cluecas y ponedoras.

Histológicamente; está revestido por el epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado con abundantes células caliciformes, las que se apoyan en la lámina propia formada por tejido conjuntivo laxo ricamente vascularizado con abundante tejido linfático difuso, conteniendo numerosas glándulas. Las células cilíndricas ciliadas y las secretoras presentan un núcleo oval; el núcleo de las primeras se sitúa en la región centro apical y en las últimas, en la base de las células. Las células caliciformes en una ponedora secretan la avidina y la ovomucina, esta última se encarga de la estructura en gel del albumen denso de la clara de huevo y la glándula tubular es la que segrega la ovoalbúmina y la lisozima. La síntesis de las proteínas depende de los esteroides del ovario: estrógenos y progesterona básicamente (Sauveur, 1992, 55-76).

Estas características se visualizan en la Figura 35 para las gallinas ponedoras y en la 36 para las gallinas cluecas; en estas últimas se ven los pliegues, las células cilíndricas ciliadas, las células caliciformes y las glándulas tubulares atrofiadas.

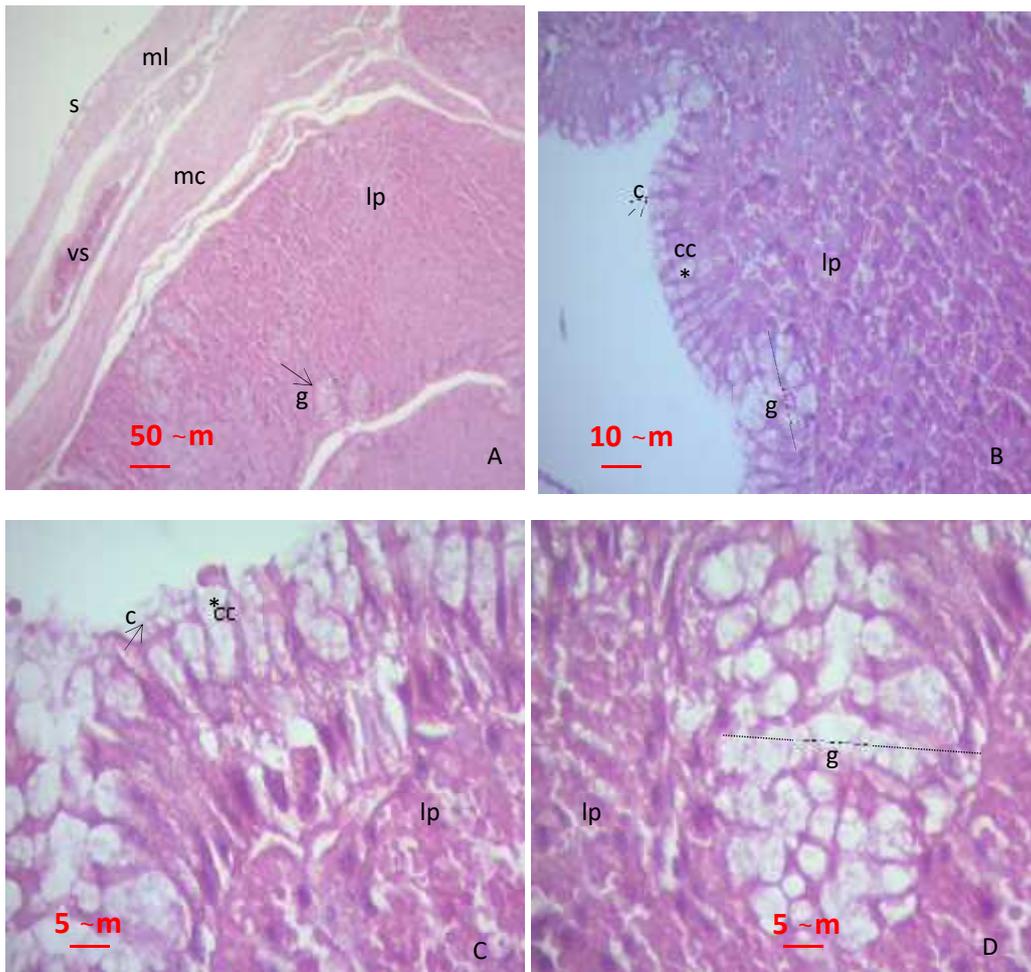


Figura. 35 Magnum de ponedoras: **A-** Se muestra la serosa (s), la capa muscular con fibras longitudinales (ml), fibras circulares (mc), vaso sanguíneo (vs), lamina propia (lp), glándula tubular (g) 100X-H-E. **B-** mucosa revestida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado(c), con células caliciformes (cc) y glándulas en la lámina propia (lp) 400X-H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas (c), células caliciformes (cc) sobre la lámina propia (lp) 1000X. **D-** Se visualiza una glándula tubular (g) sobre la lámina propia (lp). 1000X. H-E.

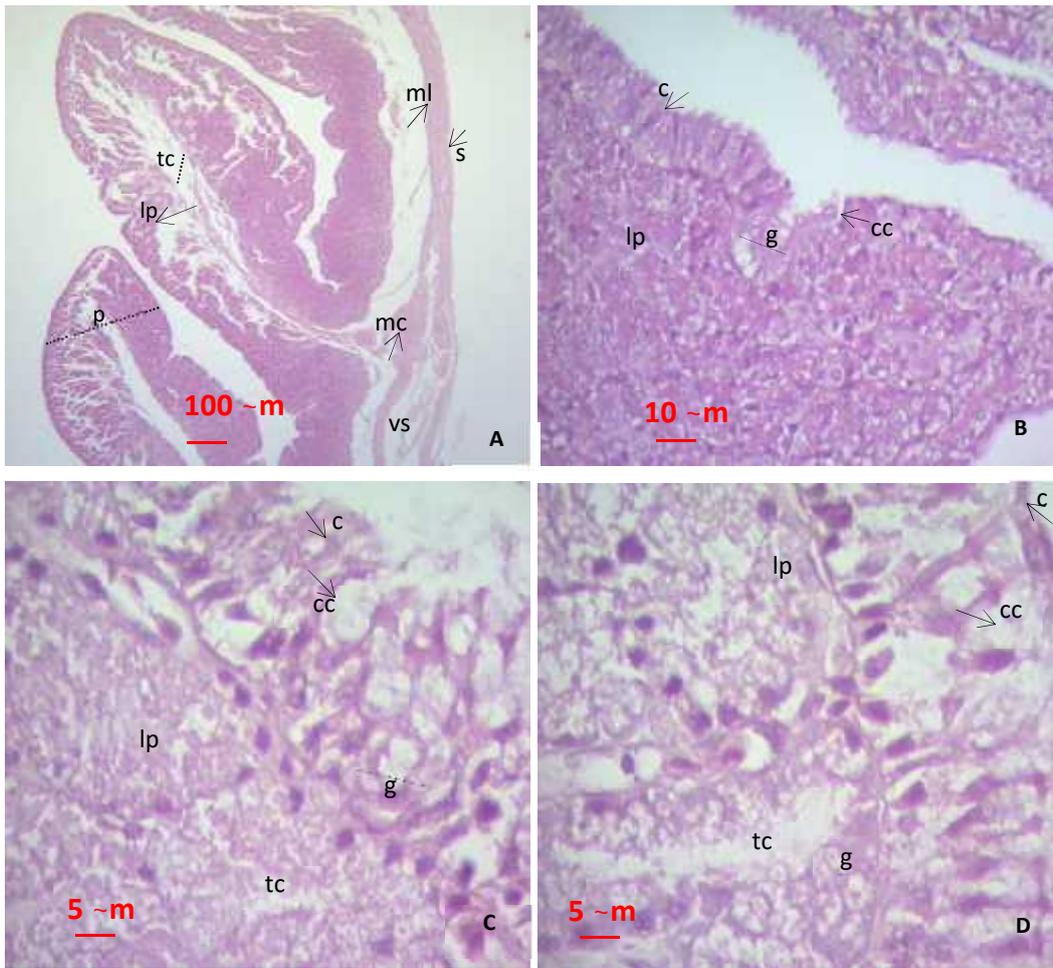


Figura 36. Magnum de gallinas cluecas: **A-** Se visualiza la serosa (s), atrofia de fibras musculares circulares (mc) y longitudinales (ml), presencia de vasos sanguíneos (vs), abundante tejido conectivo denso (tc) en la lámina propia (lp) de los pliegues atrofiados (p). H-E. 40X. **B-** Se visualiza las células ciliadas (c) y células caliciformes (cc) marcadamente atrofiadas, apoyadas en la lámina propia (lp), y glándulas tubulares atrofiadas (g). H-E. 400X. **C-** Mucosa revestida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (c), con células caliciformes (cc), glándula tubular (g) marcadamente atrofiadas, apoyadas en la lámina propia (lp) y abundante tejido conectivo denso (tc) denso. H-E. 1000x. **D-** Células cilíndricas ciliadas (c), células caliciformes (cc) y glándula tubular (g) marcadamente atrofiadas sobre la lámina propia (lp) con tejido conectivo difuso (tc). H-E. 1000X.

C: El Istmo

Es un segmento corto, su límite con el magnum está determinado por una faja de tejido de aproximadamente 1mm (zona traslúcida), los pliegues en esta zona son muy reducidos y se observan a penas en microscopía. En las gallinas cluecas tiene un peso promedio de $0.95\text{g}\pm 0.65\text{ g.}$; un largo de $5.21\text{cm}\pm 1.24\text{ cm}$; un diámetro de $0.76\pm 0.08\text{ cm}$; y un grosor de $1.34\pm 0.0\text{mm}$. Y en las gallinas ponedoras tiene un peso promedio de $6.81\text{g}\pm 0.97\text{g.}$; un largo de $11.86\text{cm}\pm 0.57\text{ cm}$; un diámetro de $1.57\text{cm}\pm 0.12\text{ cm}$; y un grosor de $2.77\text{mm}\pm 0.33\text{mm}$ diferencias altamente significativas ($P<0.01$). Los pliegues de la mucosa son longitudinales, de color rosa pálido y están menos acentuados que el magnum, tiene dos partes, el Istmo blanco e istmo rojo, ésta última es la más vascularizada y está cercana al útero; en las gallinas cluecas la parte blanca tiene un promedio de 3.8cm, y la roja de 1.41cm (Figura 32C) y en las gallinas ponedoras la parte blanca tienen un promedio de 9.6 cm y la parte roja un promedio de 2.26cm. (Figura 31C).

Histológicamente; en las gallinas ponedoras la mucosa del istmo es plegada y cubierta por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado con células caliciformes, soportado por la lámina propia de tejido conjuntivo laxo bien vascularizado, donde están situadas glándulas tubulares ramificadas. La capa muscular posee fibras longitudinales y circulares y es delimitada por la serosa, (Figura 37).

En las gallinas cluecas los pliegues se encuentran atrofiados, los cilios de las células cilíndricas están muy cortos, las células cilíndricas ciliadas están escasas y las glándulas tubulares están atrofiadas (Figura 38). Estos resultados concuerdan con las investigaciones en oviducto de perdiz (Moraes et al. 2007, 146-152), oviducto de codorniz (Moraes et al. 2010, 293-301) y bases teóricas sobre el oviducto de las aves (Sauveur 1992, 55-76). En las ponedoras, en el istmo el huevo se recubre de fibras proteicas cuyo entrelazado da lugar a las membranas testáceas o coquiliarias. El material secretado proviene de las glándulas tubulares que en contacto con el agua forman la red fibrosa muy densa. En el istmo rojo se segrega las fibras proteicas que constituyen la base (capa mamilar) de la matriz orgánica de la cáscara, éstas se entrelazan con las de la membrana externa, asegurando la solidez de la unión de la cáscara, también envuelve el núcleo mamilar proteico alrededor del cual empieza la cristalización del carbonato cálcico (Sauveur 1992, 55-76).

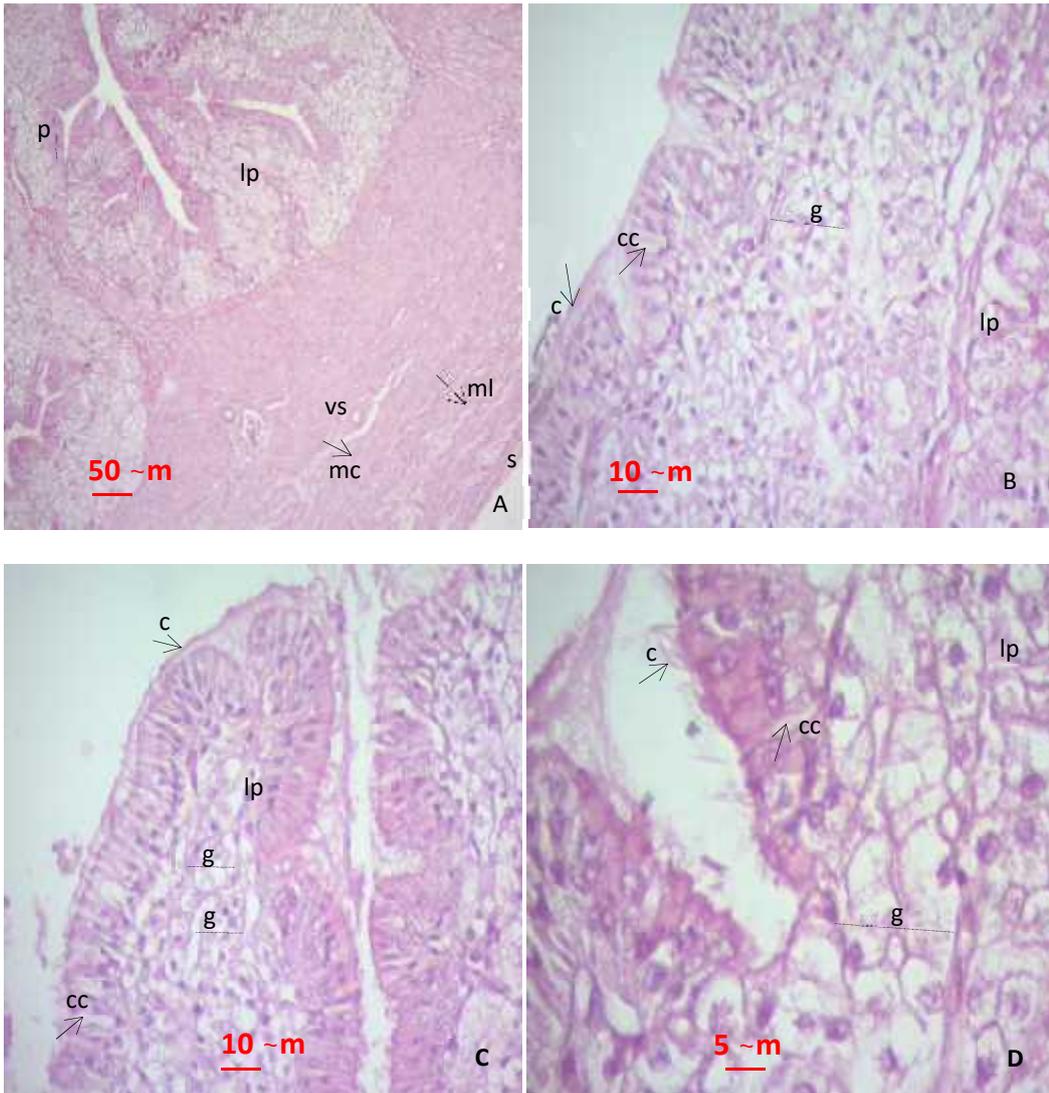


Figura 37. Istmio de ponedoras: **A-** Se muestra la serosa (s), la capa muscular con fibras longitudinales (ml), fibras circulares (mc), vaso sanguíneo (vs), lamina propia (lp), y pliegue (p) 100X-H-E. **B-** Mucosa revestida por epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado(c), con células caliciformes (cc) y glándulas tubulares (g) en la lámina propia (lp) 400X. H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas (c), células caliciformes (cc) y glándulas tubulares sobre la lámina propia (lp). 400X. H-E. **D-** Se visualiza células cilíndricas ciliadas con cilios muy alargados (c), con células caliciformes (cc) y muchas glándulas tubulares (g) en la lámina propia (lp). 1000X. H-E.

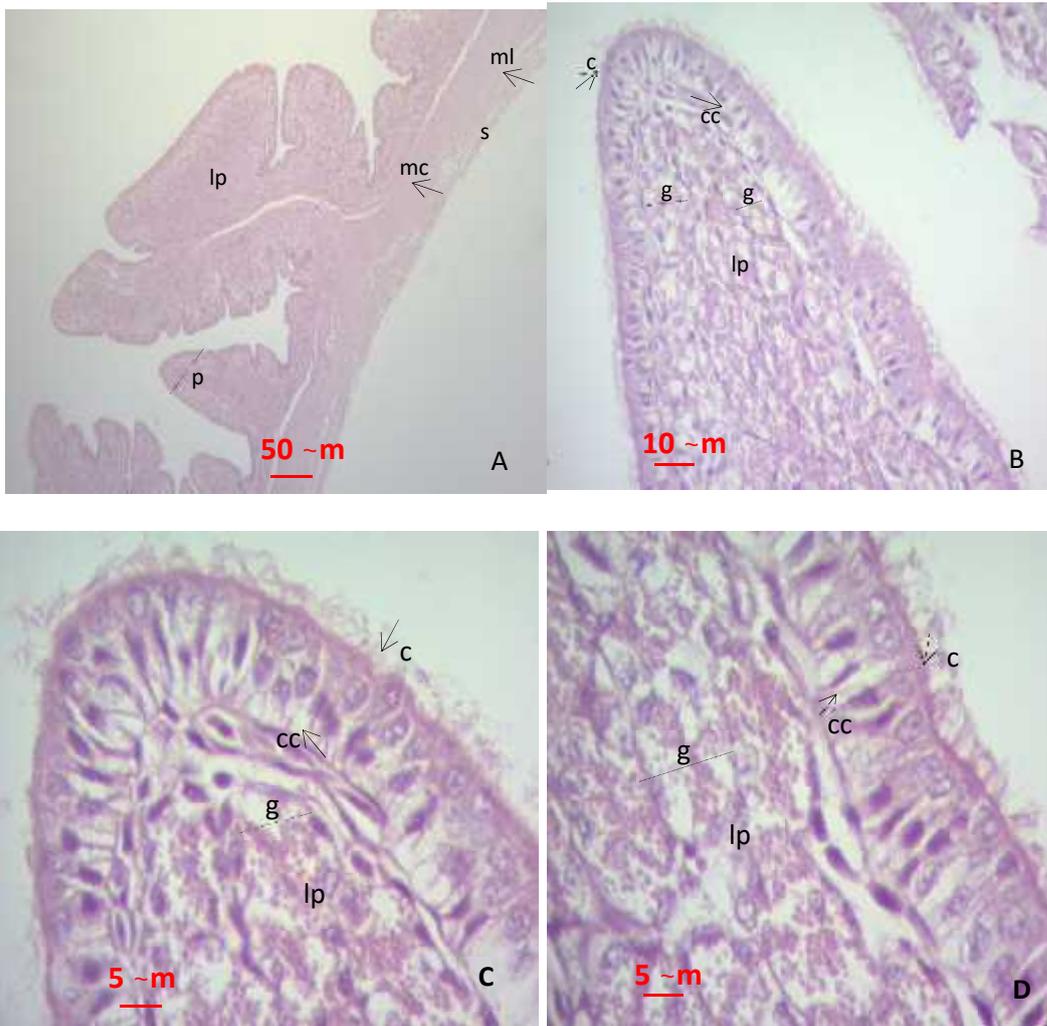


Figura 38. Isthmo de cluecas: **A-** Se muestra la serosa (s), la capa muscular con fibras longitudinales (ml), fibras circulares (mc), lamina propia (lp), y pliegue (p) 100X. H-E. **B-** Células cilíndricas ciliadas con cilios muy cortos (c), escasas células caliciformes (cc) y glándulas tubulares atrofiadas (g) en la lámina propia (lp) 400X-H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas con cilios muy cortos (c), células caliciformes (cc) y glándulas tubulares (g) están marcadamente atrofiadas sobre la lámina propia (lp) es evidente una marcada desorganización del tejido glandular 1000X. H-E. **D-** Se visualiza células cilíndricas ciliadas con cilios muy cortos (c), con escasas células caliciformes (cc) y muchas glándulas tubulares (g) que están atrofiadas sobre la lámina propia (lp). 1000X.H-E.

D: El Útero

Llamado también glándula coquiliaria, tiene forma de bolsa, se distingue una porción craneal que es más corta que la caudal, la mucosa tiene pliegues largos y estrechos de coloración rojizo-oscura evidenciando una alta concentración de vasos sanguíneos, con una capa muscular muy engrosada.

En las gallinas ponedoras, tiene un peso promedio de 15.33 ± 0.51 g; un largo de 4.80 ± 0.64 cm; un diámetro de 4.21 ± 0.14 cm y un grosor de 4.29 ± 0.2 mm. (Fig. 31D). En las gallinas cluecas tiene un peso promedio de 2.39 ± 1.73 g; un largo de 2.03 ± 0.43 cm; un diámetro de 2.28 ± 0.47 cm; y un grosor de 1.94 ± 0.01 mm. y las demás características denotan un útero completamente atrofiado (Fig. 32D).

Histológicamente la pared es revestida por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado, con células caliciformes y lleno de glándulas tubulares, estas células reposan sobre la lámina propia de tejido conjuntivo laxo muy vascularizado. Las células glandulares presentan un núcleo esférico y central y el citoplasma puede contener gránulos apicales. Las capas subyacentes son semejantes a las descritas para los otros segmentos (Fig. 39). En las gallinas cluecas se observan los pliegues marcadamente atrofiados y muy cortos, tejido conectivo muy difuso y las células ciliadas, células caliciformes y glándulas tubulares marcadamente atrofiadas (Fig. 40).

Las células ciliadas y caliciformes realizan el transporte de calcio; las células de las glándulas tubulares se encargan de la producción de iones de bicarbonato mayormente y en menor grado las células caliciformes; las células glandulares también secretan el sodio, todo esto para la formación de la cáscara del Huevo. Resultados concordantes con las investigaciones en oviducto de las aves (Moraes et al. 2007, 146-152; Moraes et al. 2010, 293-301; Sauveur 1992, 55-76).

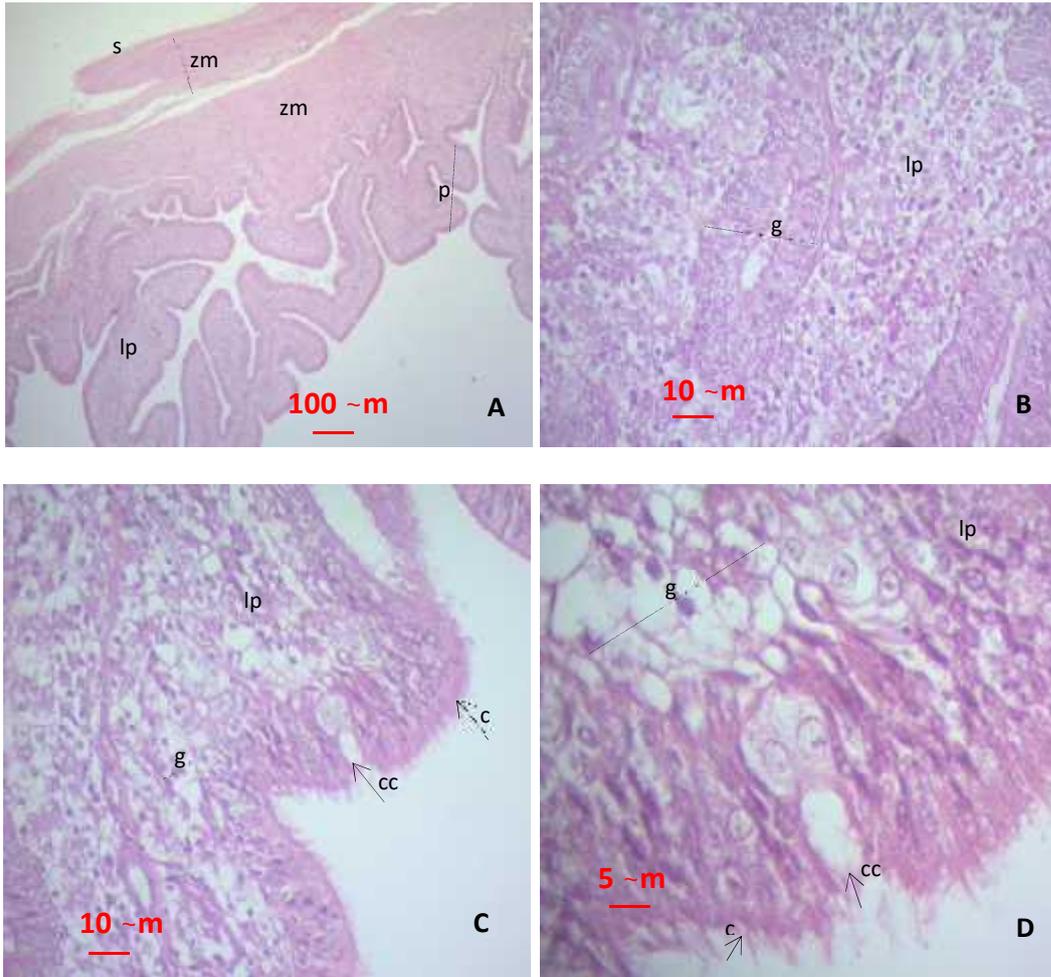


Figura 39. Útero de ponedoras: **A-** Se muestra la serosa (s), la zona muscular (zm), lamina propia (lp) y pliegue (p). 40X. H-E. **B-** Glándulas tubulares (g) en la lámina propia (lp) 400X. H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas con cilios (c), células caliciformes (cc) y glándula tubular (g) sobre la lámina propia (lp). 400X. H-E. **D-** Se visualiza células cilíndricas ciliadas (c), células caliciformes (cc) y glándula tubular (g) sobre la lámina propia (lp). 1000X. H-E.

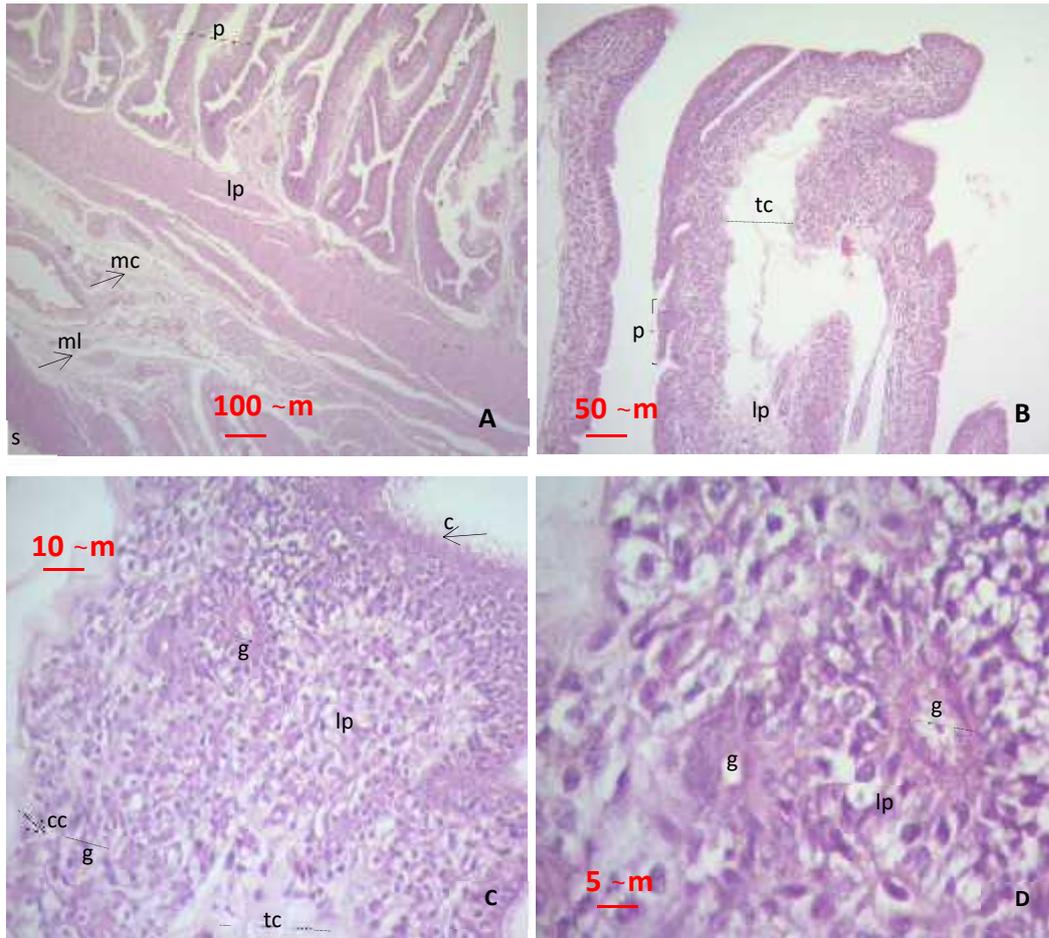


Figura 40. Útero de cluecas: **A-** Se muestra la serosa (s), la zona muscular evidenciándose las fibras longitudinales (ml), y fibras circulares (mc), la lámina propia (lp), y pliegues (p). 40X. H-E. **B-** Se visualiza pliegues muy cortos (p), tejido conectivo muy difuso (tc) en la lámina propia (lp). 100X. H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas (c), células caliciformes (cc) y glándula tubular (g) marcadamente atrofiadas con tejido conectivo difuso (tc) sobre la lámina propia (lp). 400X. H-E. **D-** Se visualiza glándulas tubulares (g) marcadamente atrofiadas sobre la lámina propia (lp). 1000X. H-E.

E.-La Vagina

Es un tubo muscular estrecho y curvo; está separada del útero por un estrechamiento llamado unión útero vaginal, tiene un trayecto acodado, su mucosa es blanquecina, presenta pliegues longitudinales y carece de glándulas secretoras; la región craneal contienen un esfínter compuesto de haces macizos de tejido conjuntivo y musculatura liza. Esta región también está constituida por los ligamientos ventral y dorsal del oviducto que fijan este segmento de la vagina a la pared de la cavidad abdominal que desemboca en la mitad izquierda de la cloaca. La musculatura de la vagina es gruesa y está implicada en la expulsión del huevo.

En las gallinas ponedoras tiene un peso promedio de 6.13 ± 0.71 g; un largo de 7.95 ± 1.02 cm; un diámetro de 0.93 ± 0.13 cm y un grosor de 2.46 ± 0.03 mm (Figura 31E); En las gallinas cluecas tiene un peso promedio de 1.59 ± 0.96 g; un largo de 3.71 ± 0.69 cm; un diámetro de 0.73 ± 0.04 cm y un grosor de $1.36 \text{ mm} \pm 0.08 \text{ mm}$, denotándose el marcado aspecto atrofiado (Figura 32E).

Histológicamente, en las gallinas ponedoras su mucosa es más gruesa que los segmentos anteriores y está cubierta por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado con células caliciformes sustentado por una lámina propia de tejido conjuntivo laxo bien vascularizado y una capa serosa (Figura 41) y en las gallinas cluecas; se observan los pliegues completamente aplanados y atrofiados, baja cantidad de las células cilíndricas ciliadas y las células caliciformes se encuentran marcadamente atrofiadas (Figura 42). Los resultados encontrados concuerdan con las investigaciones en oviducto de las aves (Moraes et al. 2007, 146-152; Moraes et al. 2010, 293-301; Sauveur 1992, 55-76).

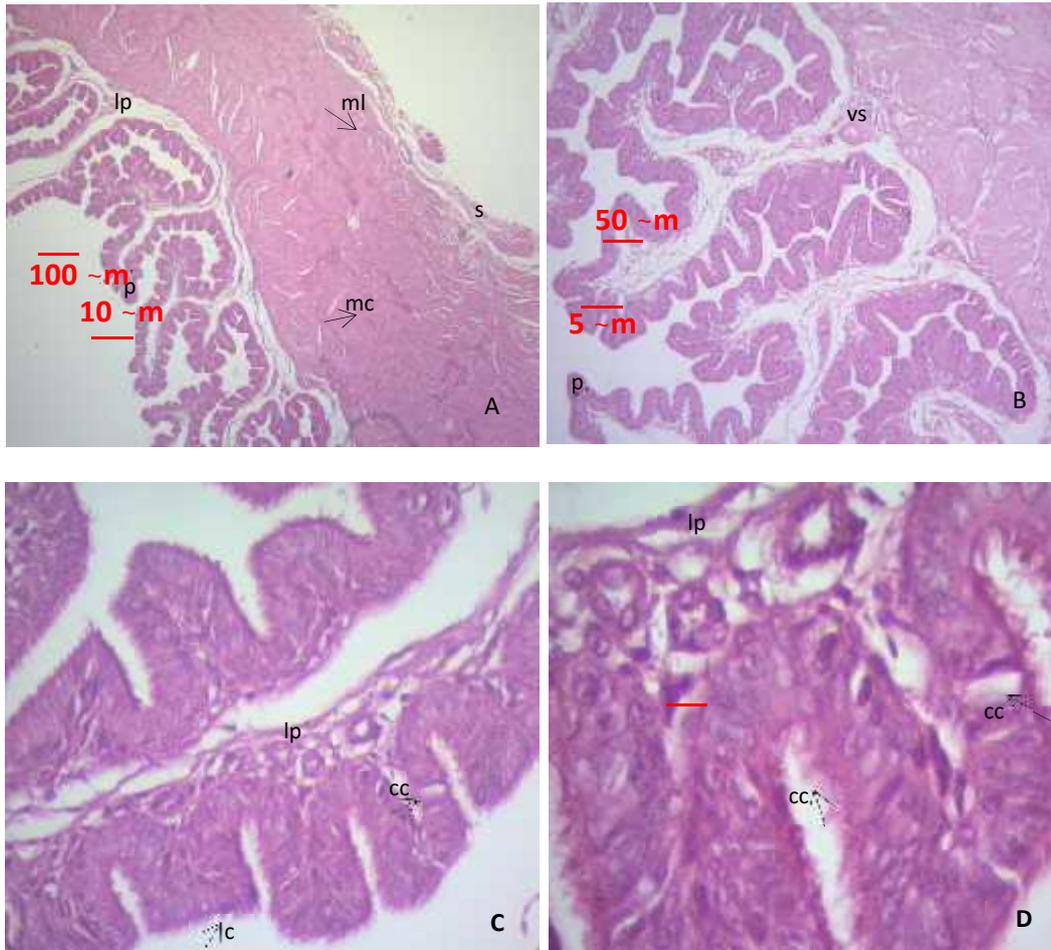


Figura 41. Vagina de ponedora: **A-** Se muestra la serosa (s), la zona muscular evidenciándose las fibras longitudinales (ml), y fibras circulares (mc), la lámina propia (lp), y pliegues (p). 40X. H-E. **B-** Se visualiza pliegues (p) vaso sanguíneo (vs). 100X. H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas (c) y células caliciformes (cc) sobre la lámina propia (lp). 400X. H-E. **D-** Se visualiza epitelio pseudoestratificado cilíndrico (c), células caliciformes (cc) sobre la lámina propia (lp). 1000X. H-E.

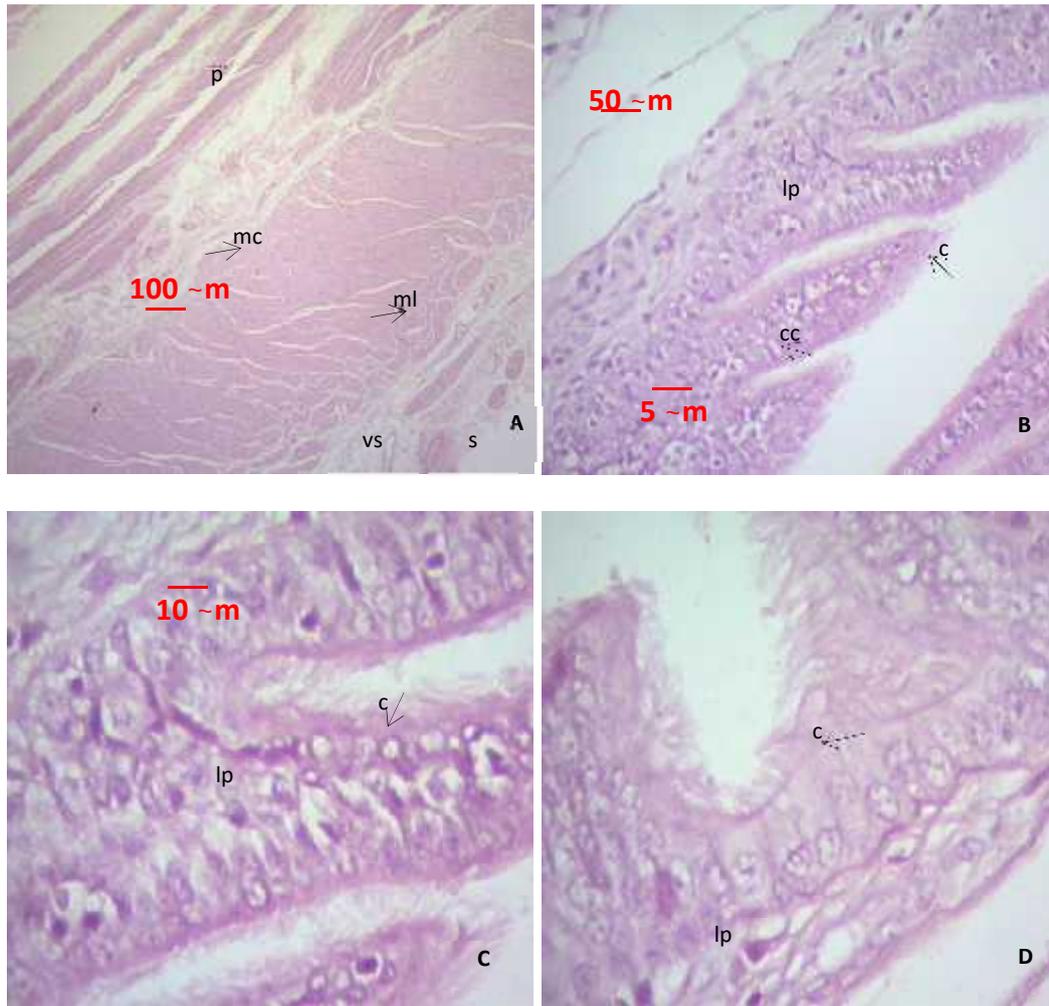


Figura 42. Vagina de cluecas: **A-** Se muestra la serosa (s), la zona muscular evidenciándose las fibras longitudinales (ml), y fibras circulares (mc), vasos sanguíneos, y pliegues aplanados y completamente atrofiados (p). 40X. H-E. **B-** Se visualiza células cilíndricas ciliadas con baja cantidad y tamaño de cilios (c) y con células caliciformes (cc) completamente atrofiadas que descansan en la lámina propia (lp). 100X. H-E. **C-** Células cilíndricas ciliadas (c) completamente atrofiadas sobre la lámina propia (lp). 400X. H-E. **D-** Se visualiza epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (c) con baja cantidad y tamaño de cilios y marcadamente atrofiados sobre la lámina propia (lp), no se observan células caliciformes (cc) pues están atrofiadas. 1000X. H-E.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- 1.- Los niveles promedios según las fases etarias de estrógenos, progesterona y prolactina de gallinas cluecas y ponedoras son de 69.16 ± 30.74 y 227.55 ± 40.46 pg/ml; 0.11 ± 0.04 y 1.5 ± 0.6 ng/ml; 35.9 ± 5.6 y 17.11 ± 3.24 ng/ml respectivamente; con diferencias altamente significativas ($P < 0.01$).
- 2.- Las características corporales externas en las gallinas cluecas y ponedoras tales como el peso corporal, el diámetro cloacal, la distancia entre el esternón y pubis, la distancia entre apófisis púbicas y la cresta en cuanto a su largo, grosor y altura durante la fase productiva mantienen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$).
- 3.- El peso, largo y grosor del estroma ovárico en gallinas cluecas es de 3.68 ± 2.04 g., 2.24 ± 0.44 cm., 2.02 ± 0.09 mm. y en ponedoras es de 6.51 ± 0.82 g., 2.79 ± 0.34 cm., 4.05 ± 0.10 mm así como el peso total del ovario es de 3.68 ± 2.04 g. y 42.37 ± 8.54 g. respectivamente con diferencias altamente significativas ($P < 0.01$).
- 4.- Las gallinas cluecas tienen en promedio 41.81 ± 15.44 folículos vitelogénicos blancos y las ponedoras, 291.07 ± 40.4 , diferencia altamente significativa ($P < 0.01$). Además las cluecas no presentan folículos vitelogénicos amarillos ni folículos postovulatorios.
- 5.- El peso promedio del Oviducto en gallinas cluecas y ponedoras es de 7.47 ± 5.15 g. y 60.33 ± 5.35 g. respectivamente, con diferencia altamente significativa ($P < 0.01$); el largo promedio en las gallinas cluecas y ponedoras es de 25.05 ± 2.65 cm. y 69.59 ± 4.82 cm. respectivamente con diferencia altamente significativa ($P < 0.01$).
- 6.- El estudio histológico demuestra que el estroma ovárico de las gallinas cluecas tiene gran cantidad de folículos con atresia lipoidal; mientras que en las gallinas ponedoras existe abundantes vasos sanguíneos en el tejido intersticial en la zona medular y en la zona cortical se visualizan gran cantidad de folículos primordiales y folículos en desarrollo.

7.- Histológicamente en el oviducto de las gallinas cluecas se visualiza la capa muscular con fibras longitudinales y circulares completamente atrofiados, así como la capa de tejido conjuntivo interno. Una mucosa con pliegues muy pequeños revestidos por un epitelio secretor cilíndrico ciliado con células caliciformes atrofiadas; y glándulas tubulares también atrofiadas en la lámina propia, la que tiene abundante tejido conectivo denso; mientras que en la ponedora presenta una histología normal.

5.2 Recomendaciones

1.-Seguir investigando sobre los factores que desencadenan la elevación de los niveles de prolactina en las gallinas cluecas durante toda la edad productiva.

2.-Investigar sobre la atresia folicular y la naturaleza de los factores que la originan, en gallinas cluecas.

3.-Investigar los factores que desencadenan la producción del polipéptido vaso intestinal (VIP), por ser una hormona que también influye en la liberación de la prolactina en gallinas cluecas.

CAPÍTULO VI

LISTA DE REFERENCIAS

1. Altamirano, Elsa, Mirian Bulfón y Noemí Bee de Speroni. 2009. Histología del ovario y ciclo reproductivo de *Columbina picui* (Temminck, 1813) (Aves: Columbidae) en Córdoba, Argentina; *Rev. Perú. Biol.* 16(1).
2. Berry, Wallace D. 2003. The Physiology of Induced Molting. *Journal of Poultry Science* 82. Alabama: Department of Poultry Science. Auburn University.
3. Berti de Gesto, Ana. 2012. Cómo descubrir la gallina que no está en postura. *Almanaque del Banco de Seguros del Estado*. www.bse.com.uy/almanaque/Almanaque%201988/.../0%20-%20061.pdf (consultada el 1 de octubre del 2012).
4. Bravo García, Martin. 2011. Manual de Procedimientos y Técnicas Histopatológicas; Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis. México.
5. Claver, Juan et al. 2008. Histological Seasonal Changes in Ovaries of Spotted Tinamous (*Nothura maculosa* Tinamidae, Temminck, 1815) Related to Gonadotrope Population. *Int. J. Morphol.*, 26 (2).
6. DIASource InmunoAssays S.A. 2011. E2-RIA-CT Kit *KIP0629*. *DIASource*.
7. DIASource InmunoAssays S.A. 2009. PROG-RIA-CT Kit *KIP1458*. *DIASource*.
8. Erdost, Hatice. 2005. Inmunohistochemical localization of FSH cells in the Pars Distalis of the Pituitary Gland in Five-Month-Old Laying Hens. *Turk J Vet Anim Sci* 29.
9. Gjorgovska, Natasha, Kiril Filev y Rossitza Konakchieva. 2008. Influence of induced molting on hormonal status of aged laying hens. *Krmiva* 50, Zagreb1.

10. Guemené, Daniel, Norio Kansaku y David Zadworny. 2002. Controlando la cluequés en pavas. *Rev. Avicultura profesional* vol 20, N° 7.
11. Gutiérrez, Germán. 1999. Hormonas y reproducción en las aves: Influencia de factores ambientales y sociales; *Revista Latinoamericana de Psicología*, vol.31, número 001.
12. Hangzhou Eastbiopharm CO., LTD. 2012. Chicken prolactin (PRL) ELISA Kit 96T. Operating Manual. Cat. No: CK-E60044.
13. Hy-Line International. 2002. Manejo de ponedoras Hy-Line para llegar a su potencial Genético. *Guía comercial de manejo Hy-Line variedad Brown 2002-2004*. <http://avicol.co/descargas2/BrownSpanish2002-2004.pdf> (consultada el 09 de mayo del 2010).
14. Hy-Line International. 2009. Manejo de ponedoras Hy-Line para llegar a su potencial Genético. *Guía comercial de manejo Hy-Line variedad Brown 2009- 2011*. <http://avicol.co/descargas2/hlb2009-2011.pdf> (consultada el 10 de mayo del 2010).
15. Jiang, R.S. et al. 2005. Association of Polymorphisms for Prolactin and Prolactin Receptor Genes with Broody Traits in Chickens. *Poultry Science* 84.
16. Khalil, Hassan et al. 2009. Comparative Changes in the Serum Concentrations of Inhibin-B, Prolactin, Gonadotropins and Steroid Hormones at different Reproductive States in Domestic Turkey Hens. *Egypt Journal of Reproduction and Development*, Vol 55, N. 5.
17. Klein-Hessling, Hermann. 2008. El manejo del comportamiento de Incubación y cluequés; *Avicultura profesional (Holanda)*, V 26(8).
18. Mans, Christoph y Michael W. Taylor. 2008. Update on Neuroendocrine Regulation and Medical Intervention of Reproduction in Birds. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, Volume 11, Issue 1. Canada: Elsevier Saunders.

19. Maron, Carina, Mirian Bulfon y Noemi Bee de Speroni. 2012. Aspectos histomorfométricos y cuantitativos del ovario de *Patagioenas maculosa* (Aves, Columbidae), *Rev. Perú. Biol.* 19(1).
20. Mattiello, Rosana. 2009. Patología del aparato Reproductor de las aves. *Aves Magacín*. Facultad de Ciencias Veterinarias, Argentina <http://avesmagacin.com.ar/articulo/patologias-del-aparato-reproductor-de-las-aves/> (consultada el 21 de Febrero 2010).
21. Moraes, Carime et al. 2007. Morfología e morfometria do oviduto de codornas *Nothura maculosa*. *Ci ncia Rural, Santa María*. V.37. N.1.
22. Moraes, Carime et al. 2010. Morfología e Histología do oviduto de marrecas *Ana boshas*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V.62, N.2.
23. Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos. 2012. Producción pecuaria e industria avícola, Ministerio de Agricultura-Perú.
24. Pollock, Christal y Susan E. Orosz. 2002. Avian reproductive anatomy, physiology and endocrinology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*; Vol.5, Issue 3. Manhattan, USA: Elsevier Science.
25. Porter, Tom et al. 1991. Ovarian Steroid Production in vitro during gonadal regression in the turkey. Changes associated with incubation behavior. *Biology of Reproduction* 45.
26. Quintana López, José. 2001. Efecto de la proteína cruda, energía metabolizable y consumo de alimento sobre la productividad, incubabilidad, contenido de lípidos en suero, huevo y hormonas sexuales de gallinas reproductoras pesadas. Tes. Doct., Universidad de Colima, México.
27. Reddy, I. J., C.G. David and S.S. Raju. 2006. Inter Sequence Pause Days, Egg Production, Steroid and Luteinizing Hormone in Domestic Hen (*Gallous domesticus*) Immunized Against cProlactin. *International Journal of Poultry Science* 5 (5).

28. Ricaurte Gallindo, Sandra. 2006. Importancia de un buen manejo de la reproducción en la avicultura. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040406.html> (Consultada el 23 de Marzo del 2010).
29. Robinson, Frank E. y Robert A. Renema. 1999. Principles of photoperiod management in female Broiler Breeders. *Cobb-Vantress*. Vol. 7, Number 1.
30. Rutz, Fernando et al. 2007. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, V.31, N.3.
31. Sauveur, Bernard. 1992. *Reproducción de las aves*. España: Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
32. Vásquez Sánchez, Gloria.2006. Modelo sistemático de administración rentable de una empresa de aves de postura en la provincia de Chiclayo departamento de Lambayeque. Tes. Maestría, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque-Perú.
33. Wojtysiak, Dorota et al. 2005. Steroid Hormones Concentration in the Postovulatory Follicles of the goose; *Biotechnology in Animal Husbandry* 21 (1-2).