

## **EFFECTO DE LA PRESENCIA DEL SEXO OPUESTO EN EL BIENESTAR ANIMAL Y EN VARIABLES ESPERMÁTICAS DE AVES DE PUESTA**

Dávila<sup>1</sup>, S. G., Torres<sup>1</sup>, O., García -Gil<sup>1</sup>, M., Campo<sup>1</sup>, J. L., Castaño<sup>2</sup>, C., Toledano-Díaz<sup>2</sup>, A. y Santiago-Moreno<sup>2</sup>, J.

<sup>1</sup>Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Ctra. Coruña, Km. 7,5. 28040 Madrid. <sup>2</sup>Dpto. Reproducción Animal, INIA. Ctra. Coruña, Km. 5,9. 28040 Madrid.  
sgdavila@inia.es

### **INTRODUCCIÓN**

Uno de los factores de gran importancia en el alojamiento de gallinas es la presencia del sexo opuesto. En la naturaleza la unidad social básica del antecesor de la gallina doméstica (*Gallus gallus*) consiste típicamente en un macho rodeado de varias hembras (3 a 5 hembras) (Collias y Collias, 1967). En programas de conservación *in vivo* la presencia del sexo opuesto es requerida, sin embargo no es necesaria para la etapa de cría y recría, producción de huevo, obtención de semen o mantenimiento de lotes de machos como futuros reproductores. Existen estudios que han observado que la presencia de sexo opuesto tiene un efecto en diferentes tipos de comportamiento y variables reproductivas. La presencia de machos acelera el inicio de la madurez sexual de la gallina, disminuye el canibalismo, la agresividad y el comportamiento antagonista, con influencia también en los niveles de miedo y comportamiento vigilante de las hembras (Ylander y Craig, 1980; Bshary y Lamprecht, 1994; Odén et al., 2000; Pizzari, 2003; Odén et al., 2005). Por otra parte, se ha observado que los gallos alojados en edades tempranas con el sexo opuesto muestran más éxito de apareamiento durante la edad adulta (Leonard et al., 1993). Aunque en aves no existen estudios de los efectos de la presencia de hembras en la calidad de esperma, si se ha observado en mamíferos (cabras) que la presencia de hembras produce diferencias en la cantidad y motilidad del eyaculado (Lacuesta et al., 2014), sin embargo en ciervos no se han observado estos efectos positivos (Villagrán y Ungerfeld, 2013). Estudios en peces han indicado que la presencia de hembras induce la producción de mayor número de espermatozoides (Liley et al., 2002) y más rápidos (Gasparini et al., 2009). El objetivo del estudio es analizar el efecto de la presencia de sexo opuesto en caracteres relacionados con el bienestar animal en las hembras y en variables espermáticas de los machos en razas autóctonas de gallinas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron un total de 5 razas de gallinas españolas y una población sintética (Campo y Orozco, 1986; Campo, 1998) del Programa de Conservación que se desarrollada en la granja experimental El Encín, perteneciente al Departamento de Mejora Genética Animal del INIA.

Experimento 1. El objetivo fue evaluar los efectos de la presencia de machos en caracteres de bienestar relacionados con miedo y estrés en hembras en la etapa de madurez sexual. Se utilizaron un total de 240 gallinas de cuatro razas autóctonas y una población sintética. A las 8 semanas de edad las aves fueron alojadas en grupos (n ~ 700) con una densidad de 6 aves/m<sup>2</sup>. Se utilizaron 2 grupos y 4 réplicas, el grupo tratamiento estaba formado por gallinas alojadas con presencia de machos en una proporción machos:hembras 1:10 y el grupo control formado por hembras sin presencia de machos. A la edad de 22 semanas se evaluaron un total de 120 gallinas de cada grupo (6 aves de cada población por réplica) para la duración de la inmovilidad muscular (indicador de miedo; Gallup, 1979), el cociente entre el número de heterófilos y linfocitos (indicador de estrés fisiológico; Gross y Siegel, 1983) y la asimetría fluctuante (indicador de estrés ambiental; Parsons, 1990) de diferentes caracteres morfológicos bilaterales. Los datos fueron analizados por análisis de varianza (Sokal y Rohlf, 1981) utilizando un modelo con el efecto de grupo y raza como efecto fijo, la réplica como efecto aleatorio, y las interacciones entre los distintos efectos. El efecto réplica y sus interacciones fueron incluidos en el residuo si no existían efectos significativos. Las diferencias significativas fueron analizadas mediante el test Student-Newman-Keuls (Snedecor y Cochran, 1980).

Experimento 2. El objetivo fue evaluar el efecto de la presencia de hembras en el alojamiento en las variables espermáticas de machos adultos (a partir de las 36 semanas). Se utilizaron machos de la raza Andaluza Franciscana que fueron alojados a las 22 semanas de edad en celdas con una densidad de 4 aves/m<sup>2</sup>. Se estudiaron 2 grupos, el grupo tratamiento (n= 55)

estaba formado por 11 machos alojados con gallinas en una proporción 1:5, y el grupo control (n=27) formado por gallos alojados sin presencia de gallinas. Durante los meses de marzo a mayo (12 semanas) se recogieron muestras de semen mediante la técnica del masaje descrita por Burrows y Quinn (1937). La recogida de muestras se efectuó una vez a la semana en 11 machos de cada grupo, a partir de las cuales se realizó un pool de semen por grupo. Las muestras se diluyeron 1:1 (vol:vol) con medio de conservación Lake-Ravie y se almacenaron a 5°C durante 45 minutos para su transporte al laboratorio. Se evaluó la concentración y diferentes variables de motilidad (Santiago-Moreno et al., 2012) utilizando el analizador de imagen CASA (Micoptic S.L.). El porcentaje de espermatozoides vivos fue determinado examinando la integridad de membrana plasmática mediante fluorescencia con yoduro de propidio (PI) y SYBR® 14 (Jeyendran et al., 1984; Soler et al., 2005). El efecto de la presencia de hembra en las variables espermáticas fue evaluado por análisis de varianza utilizando un modelo con el efecto de grupo como efecto fijo. La correlación ( $r_{xx} = \text{cov}_{xx} / (\text{var}_x \text{ and } \text{var}_x)^{0.5}$ ) entre las distintas variables espermáticas se realizó por análisis de covarianzas. En los dos experimentos se utilizó para el análisis de los datos el paquete estadístico SAS y el procedimiento GLM (SAS Institute, Cary, NC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento 1 no se observó un efecto significativo de la presencia de machos en la duración de la inmovilidad muscular (IM) de las hembras, tampoco fue significativo el efecto de la raza y su interacción. Este resultado indica que la presencia de machos en el alojamiento no está asociada con los niveles de miedo en las hembras. Sin embargo, Odén et al. (2005) si habían observado un disminución de los niveles de miedo en hembras de 34 semanas alojadas con machos en una proporción de 1:100, por lo que el efecto de la presencia del sexo opuesto en el miedo parece estar influenciado por la edad y el número de machos. Para el cociente entre heterófilos y linfocitos (HL) el efecto si fue significativo ( $P < 0.05$ ), siendo no significativa la interacción con la raza. Las hembras alojadas con machos presentaban mayores valores de HL (0,37) que las alojadas en ausencia de machos (0,27), presentando por tanto más estrés fisiológicos las gallinas alojadas en presencia del sexo opuesto. La asimetría fluctuante (AF) fue significativa ( $P < 0.05$ ) para la AF combinada de los cinco caracteres estudiados, presentando las hembras alojadas con gallos mayor AF (1,83 mm) que las alojadas en ausencia de gallos (1,27 mm). La interacción grupo y raza fue significativa para la AF, siendo las diferencias solo significativas en tres de las cinco razas. Los resultados indican que las hembras alojadas con machos desde las 8 semanas hasta las 22 semanas de edad tienen similares niveles de miedo y mayores niveles de estrés que las alojadas en ausencia de machos, no observándose efectos beneficiosos de la presencia del sexo opuesto a una edad temprana. Teniendo en cuenta que la experiencia social temprana puede tener efectos importantes en el comportamiento adulto, sería conveniente en las etapas de cría y recría no alojar a las hembras con machos antes de la etapa de madurez sexual. En el experimento 2 se observó que los gallos alojados con hembras no presentaban cambios en las variables cuantitativas (cantidad y concentración). Sin embargo, porcentajes significativamente más bajos de espermatozoides no móviles y de espermatozoides lentos fueron encontrados con la presencia de hembras (Tabla 1). Los machos alojados con hembras presentaban además variables de velocidad (VSL y VCL) significativamente mayor que los gallos alojados sin presencia de hembras, observándose una fuerte correlación entre estas dos variables ( $r = 0,87$ ). Las variables de velocidad espermática tienen una gran importancia en la fertilidad de las aves (Froman et al., 2002) y pueden ser muy útiles para la selección de donantes, siendo VSL crucial en escenarios de competencia espermática (Santiago-Moreno et al., 2014). En base a los resultados obtenidos es posible que la presencia de hembras pueda inducir cambios hormonales en los gallos (testosterona, LH) afectando a la velocidad lineal de los espermatozoides, hecho observado en mamíferos (González et al., 1988) donde la velocidad del espermatozoide es muy dependiente del estado hormonal. En peces se ha observado que los machos pueden ajustar su cantidad y calidad de esperma (VCL) en respuesta a la oportunidad de apareamientos, lo que podría ocurrir también en gallos con la presencia de hembras, aunque sin efecto en el número de espermatozoides. Los gallos podrían compensar esta falta de efecto en la cantidad por la mejora en la velocidad lineal del esperma (VSL), criterio utilizado para la selección de donantes (Blesbois et al., 2007).

Los resultados obtenidos indican que la presencia del sexo opuesto en las hembras antes de la madurez sexual no tiene efectos positivos en su bienestar, mientras que la presencia de hembras con gallos adultos mejora las variables de motilidad espermática.

**Tabla 1. Variables espermáticas en semen fresco (cuantitativas y cualitativas)**

Variables espermáticas	Presencia hembras	Ausencia hembras	CME <sup>3</sup>
Nº de espermatozoides (bill)	1,82 <sup>a</sup>	2,26 <sup>a</sup>	2,51
Concentración (bill / ml)	3,07 <sup>a</sup>	3,39 <sup>a</sup>	1,32
Volumen (bill / ml)	0,56 <sup>a</sup>	0,64 <sup>a</sup>	0,15
Esperma vivo (%)	72,80 <sup>a</sup>	68,80 <sup>a</sup>	63,90
Esperma inmóvil (%)	20,93 <sup>a</sup>	18,71 <sup>a</sup>	82,56
Motilidad no-progresiva (%)	<b>44,37<sup>b</sup></b>	<b>53,01<sup>a</sup></b>	64,01
Motilidad progresiva (%)	34,69 <sup>a</sup>	28,27 <sup>a</sup>	69,46
Motilidad Total (%)	79,07 <sup>a</sup>	81,29 <sup>a</sup>	82,56
Velocidad VSL <sup>1</sup> (µm / s)	<b>42,48<sup>a</sup></b>	<b>33,32<sup>b</sup></b>	112,61
Velocidad VCL <sup>2</sup> (µm / s)	<b>76,89<sup>a</sup></b>	<b>65,62<sup>b</sup></b>	168,22
Rápidos (> 50 µm / s) (%)	23,18 <sup>a</sup>	14,77 <sup>a</sup>	125,26
Medios (10 - 50 µm / s) (%)	35,20 <sup>a</sup>	35,03 <sup>a</sup>	202,72
Lentos (< 50 µm / s) (%)	<b>20,69<sup>b</sup></b>	<b>31,49<sup>a</sup></b>	130,47

Medias en la misma fila con diferente superíndice indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

<sup>1</sup> VSL: velocidad lineal; <sup>2</sup> VCL: velocidad curvilínea; <sup>3</sup> CME: cuadrado medio del error

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blesbois, E. et al. 2007. Poult. Sci. 86: 555-564.
- Bshary, R. & Lamprecht, J. 1994. Behaviour 128: 311-324.
- Burrows, W.H. & Quinn, J.P. et al. 1937. Poult. Sci. 16: 1924.
- Campo, J.L. 1998. Proc. 6<sup>th</sup> World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod. Pp. 155-158.
- Campo, J.L. & Orozco, F. 1986. Br. Poult. Sci. 27: 361-367.
- Collias, N.E & Collias, E.C. 1967. The Condor 69: 360-386.
- Froman, D.P. et al. 2002. Proc. R. Soc. Biol. Sci. 269: 607-612.
- Gallup, G.G. 1979. Anim. Behav. 27: 316-317.
- Gasparini, C. et al. 2009. Biol. Lett. 5: 792-794.
- Gonzalez, R. et al. 1988. Theriogenology, 30: 1075-1086.
- Gross, W.B. & Siegel, H.S. 1983. Avian Dis. 27: 972-979.
- Jeyendran, R. et al. 1984. J. Reprod. Fertil. 70: 219-228.
- Lacuesta, L. et al. 2014. Theriogenology, 83: 1-5.
- Leonard, M.L. et al. 1993. Appl. Anim. Behav. Sci. 37: 57-67.
- Liley, N.R. et al. 2002. Can. Fish. Aquat. Sci. 59: 144-152.
- Odén, K. et al. 2000. Appl. Anim. Behav. Sci. 67: 307-320.
- Odén, K. et al. 2005. Appl. Anim. Behav. Sci. 95: 89-102.
- Parsons, P.A. 1990. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 65: 131-145.
- Pizarri, T. 2003. Behav. Ecol. 14: 593-601.
- Santiago-Moreno, J. et al. 2012. Reprod. Dom. Anim. 47: 578-583.
- Santiago-Moreno, J. et al. 2014. Reprod. Dom. Anim. 49: 134-139.
- Snedecor, G.W. & Cochran, W.G. 1980. 7th ed. Iowa State Uni. Press.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1981. Biometry.
- Soler, A.J. et al. 2005. Theriogenology, 64: 1503-1517.
- Villagrán, M. & Ungerfeld, R. 2013. Anim. Reprod. Sci. 143: 85-90.
- Ylander, D.M. & Craig, J.V. 1980. Appl. Anim. Ethol. 6: 63-69.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado con el proyectos RZP2012-00001-00-00 .

#### EFFECT OF THE PRESENCE OF THE OPPOSITE SEX ON ANIMAL WELFARE AND ON SPERM VARIABLES IN BREEDS OF LAYERS

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to determine the effect of presence of males on three measurements of animal welfare related to fear and stress in females at 22 wk of age and the effect of the presence of hens on sperm variables of rosters at 36 wk of age, in breeds of layers. A total of 240 females and 24 pools of semen, produced by mixing semen from 11 males, which were reared with or without the presence of opposite sex, were used. The females in flocks containing males have similar fear levels as those in flocks without males, although they were more stressed. In this way, an early exposure to the opposite sex may be unfavourable. The presence of hens reared with rooster improves sperm quality, but not quantity. Sperm quality may therefore be adapted to the perceived opportunities of mating.

**Keywords:** presence of opposite sex, welfare, sperm variables, chicken