

EFFECTO DE LA FURAZOLIDONA SOBRE LAS FUNCIONES ESPERMATOGÉNICA Y ENDÓCRINA DE TESTÍCULOS DE PAVO (*Meleagris gallopavo*)

PERALTA, M. F.¹, MIAZZO, R.D.¹, VIVAS, A.B.²

RESUMEN

El objetivo fue determinar el efecto de furazolidona (0,02 g/100 g de alimento administrada durante 45 semanas), sobre la función espermatogénica y endócrina de testículos de pavo. Once pavos machos de 1 día de vida recibieron furazolidona en el alimento (0,02 % p/p), durante 45 semanas y 11 fueron controles. Se determinó la calidad seminal. Se midió el perfil sérico y la respuesta de testosterona (Te) postestímulo con buserelina. Se analizó la anátomo-histología testicular. Análisis estadístico: ANOVA, test de Wilcoxon y test t al 5 %. La concentración espermática fue menor ($p < 0,05$) y el número de anomalías espermáticas fue mayor en el grupo Tratado ($p < 0,05$). La amplitud y frecuencia de los pulsos basales de Te promedio fueron menores en el grupo Tratado ($p < 0,05$) y la respuesta a buserelina fue 4 veces menor ($p < 0,05$) y retrasada en 30 minutos. En los Tratados se observaron túbulos con degeneración y línea germinal retrasada. Conclusión: furazolidona, (0,02 % p/p durante 45 semanas), produce descenso en los niveles, frecuencia y amplitud de los pulsos basales y postestímulo con buserelina de Te, lo que se tradujo en alteraciones en la calidad seminal y espermatogénesis.

¹Dep. Producción y ²Anatomía Animal, Fac. Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta 36, Km 601 (5800), Río Cuarto, Córdoba. Argentina.
Email: mperalta@ayv.unrc.edu.ar.

Palabras clave: *Furazolidona, testosterona, espermatogénesis, Meleagris gallopavo.*

SUMMARY

The purpose was to determine the effects of furazolidone (Fz) (0,02 % weight/100 g of feed, during 45 weeks) on the testicular turkey function. Eleven male turkeys fed with Fz (0.02 % w/w) in the diet for 45 weeks and eleven as controls. The seminal quality was determined. The plasmatic testosterone (Te) levels and its response to busereline stimulus were measured. The testicular anatomy and histology were analyzed. The statistical analysis were: ANOVA, Wilcoxon and t test al 5 %. Sperm concentration was minor ($p < 0.05$) and the anormal form in spermatozoa was greater in the treated group. The mean plasmatic Te pulse levels and the amplitude were low in treated group (< 05). Also, in the same group, the Te response to Busereline stimulus was four times lower than in control group and delayed 30 minutes (< 05). In all treated groups, tubules with degeneration and delayed germinal line were observed. Conclusion: furazolidone decreases basal plasmatic testosterone levels and the busereline stimulated levels. It produces altered spermatogenesis and anormal seminal quality in turkeys treated with 0.02 % w/w, for a long period of time.

INTRODUCCIÓN

La furazolidona (Fz) es un quimioterápico del grupo de los nitrofuranos usado en avicultura como antiprotozoario y antibacteriano. Numerosas investigaciones han detectado que produce efectos tóxicos sobre el aparato reproductor y sobre algunas hormonas relacionadas con el mismo. Por ejemplo, en pollos púberes se reportó disminución de las variables histomorfométricas testiculares y retraso en la línea germinal, cuando se adicionó Fz en la dieta en dosis subterapéutica (0,04 % p/p, es decir 40 mg de Fz/100 g de alimento) durante 8 semanas (Peralta et al., 1996). En gallos adultos, que recibieron el nitrofurano a dosis desde 0,15-0,35 % p/p durante 5 semanas ó dosis de 0,04 % p/p durante 44 semanas, se notaron las mismas alteraciones testiculares (Andrabi et al., 1998 y Miazso, R. D., 1996). Inclusive en esta última expe-

riencia en gallos adultos, se notó un importante descenso en la calidad seminal (motilidad espermática en masa y vigor, número de anomalías espermáticas) de las aves que habían recibido este nitrofurano.

En testículos de pavos adultos tratados con Fz, en dosis de 0,04 % p/p durante 44 semanas, se advirtió la presencia de zonas con quistes y zonas de aspecto normal. En el estudio histológico de las zonas quísticas se detectaron túbulos con ausencia de línea germinal, tapizados por células de Sertoli, mientras que las zonas no quísticas presentaron retraso en la línea germinal (Peralta *et al.*, 2002).

Respecto al efecto de esta droga sobre los niveles hormonales, también se detectó descenso en los niveles basales de testosterona (Te) en pollos púberes que habían recibido Fz a dosis subterapéutica durante 4 semanas (Peralta *et al.*, 1996). Coincidentemente, en pollos sexualmente maduros se advirtió la disminución de los niveles basales de este esteroide, luego de haber recibido el quimioterápico en la dieta, en 0,15-0,35 % p/p, durante 5 semanas (Andrabi *et al.*, 1998). En otra experiencia (Miazzo *et al.*, 1995), también se detectó descenso de los niveles de Te en pollos sexualmente maduros, que habían recibido este nitrofurano desde el nacimiento a dosis subterapéuticas durante períodos de 44 semanas.

El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto de la furazolidona, administrada a dosis inferiores a la subterapéutica, es decir, 0,02 % peso/peso durante 45 semanas, sobre las funciones gametogénica y endócrina del testículo del pavo (*Meleagris gallopavo*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 22 pavos machos, línea Hybrid, de 1 día de edad, que fueron pesados, individualizados y distribuidos al azar en dos grupos: Tratados y Controles. Las aves fueron alojadas en dos corrales, de 8 x 8 m cada uno, en la Unidad de Cría Aviar de la Universidad Nacional de Río Cuarto, que reúne las condiciones am-

bientales y de manejo exigidas para este tipo de animales (Normas para la cría de animales de granja para investigación, 1996). El grupo Tratado (T) (n=11) recibió Fz (Lab. Nutrer, 98 % de pureza) en el alimento, desde el primer día de vida y durante 45 semanas, a una dosis de 0,02 % p/p (20 g Fz/100 kg alimento), mientras que el Control (C) (n=11) no la recibió. Las dietas fueron fabricadas en la planta piloto de alimentos balanceados de la Unidad de Cría Aviar y fueron administradas de acuerdo con los requerimientos nutricionales, según la edad de los animales (Cuadro 1). Tanto el agua como el alimento fueron provistas *ad libitum*, considerando

Cuadro 1. Composición del alimento balanceado en porcentaje (%) según la edad de los pavos

	Edad (semanas)		
	0-4	5-9	10-45
Maíz	36,59	55,74	70,24
Harina de soja	36,92	20,85	12,50
Poroto de soja	10,00	7,95	—
Afrechillo de trigo	7,90	10,70	16,80
Harina de carne (45)	—	—	7,60
Harina de pescado	7,00	—	—
Harina de hueso	3,50	3,20	2,10
Corrector vit.mineral*	1,15	1,15	0,95
Sal	0,20	0,20	0,20
Conchilla	0,06	0,20	3,15
Metionina	0,12	0,03	0,06
Análisis proximal:			
Proteína Bruta (%)	28,00	26,50	20,00
Energía metab.(Kcal/kg)	2.802	2.798	2.851
Lisina (%)	1,77	1,59	1,12
Metionina + Cistina (%)	1,07	0,95	0,73
Calcio (%)	1,28	1,21	1,00
Fósforo disponible (%)	0,64	0,60	0,50

* Microingredientes del Núcleo vitamínico Mineral:

Minerales(ppm): Yodo:1,5; Manganeso:120,0; Hierro:80,0; Zinc:120,0; Cobre:10,5; Selenio:0,30.

Vitaminas: A:12000 UI/kg, D₃:4500 UI/kg, E:45 UI/kg, K:2,5 mg/kg; B₁:3,0 mg/kg,

B₂:15,0 mg/kg; B₆:5,0 mg/kg; B₁₂:0,04 mg/kg; Biotina:0,3 mg/kg; Niacina:100,0 mg/kg; Colina:600 mg/kg.

la curva de crecimiento de estas aves. Los pavos recibieron, durante las primeras 24 hs de vida luz continua y posteriormente se fue reduciendo una hora por día hasta lograr un fotoperíodo de 14 hs luz:10 hs oscuridad (14:10).

Estudio de la calidad seminal: luego de un período de entrenamiento de cuatro semanas, a las 35 semanas de vida, a todas las aves del grupo T y todas las del grupo C se les realizó la extracción del semen por el método de masaje abdominal (Burrows, W.; Quinn, J., 1935). Se realizaron cinco extracciones seminales una vez por semana, durante 5 semanas. En cada evaluación seminal se analizaron las siguientes variables:

- Volumen: se determinó usando una jeringa hipodérmica de 1 ml, calibrada al centésimo.

- Motilidad espermática en masa (%): se determinó agregando una gota de semen fresco sobre un portaobjetos que se encontraba en una platina térmica. Esta se ubicó sobre un microscopio, analizando las muestras de semen a 100 x.

- Motilidad espermática individual (vigor): se determinó agregando una gota de semen fresco y una gota del diluyente (Moya A. *et al.*, 1988), sobre un portaobjetos situado en una platina térmica, a 28 ± 2 °C. Las muestras se analizaron usando un microscopio Zeiss, a 400 x.

- Concentración (%): el conteo de espermatozoides se llevó a cabo en un hemocitómetro, diluyendo las muestras 1:200 en solución tampón-formol salino. Para la determinación del número de espermatozoides se contaron 5 cuadrados de la cámara, obteniéndose los valores de cada muestra usando la siguiente fórmula:

N° de espermatozoides/ml: n° total de espermatozoides $\times 10^6$.

- Morfología: se utilizó un microscopio Zeiss, equipado con contraste de fases, observando a 400 x, analizando aproximadamente 200 espermatozoides por muestra. Para el análisis se diluyó una gota de semen en solución tampón-formol salino, determinándose los porcentajes de anomalía de cabeza y cola (Márquez, B. y Ogasawara, F., 1975 y Thurston, R. *et al.*, 1975).

Niveles plasmáticos de testosterona: A las 40 semanas de vida y de tratamiento, a 11 aves del lote T y 11 del C se les midieron los niveles de Te. Para ello, se extrajo sangre de la vena del ala, cada 20 minutos, durante 2 hs, período que incluye un ciclo de secreción, es decir, episodio de secreciones hormonales de 120 minutos donde se registran uno ó dos pulsos por encima de niveles basales durante veinte minutos aproximadamente, seguido de un descenso hormonal más gradual. Dicho muestreo comenzó a las 18 y finalizó a las 20 hs, momento en que los niveles hormonales están por encima de 2 ng/ml, para facilitar la detección hormonal (Bacon *et al.*, 1992).

Para cuantificar los niveles plasmáticos de Te, se centrifugaron las muestras de sangre y el plasma obtenido fue utilizado para dosar el esteroide por radioinmunoanálisis, por el procedimiento de competición por doble anticuerpo (DPC, Testosterona Total, Los Angeles, Estados Unidos). Todas las muestras se analizaron por duplicado. El coeficiente de variación interensayo fue del 10% y el intraensayo del 8 %.

Secreción de testosterona post estímulo con buserelina: a las 43 semanas de vida y de tratamiento, a las aves del lote T y las del lote C, se les midió los niveles plasmáticos de Te. pre y post estímulo con un análogo sintético de la GnRH (Buserelina, Hoechst), ó solvente de buserelina. Se extrajo una muestra de sangre al tiempo 0 (T_0), luego se inyectó buserelina, vía I.V. (1 nmol/kg de peso vivo) (n=6 T y n=6 C) ó solvente de buserelina, por la misma vía para el grupo control correspondiente (n=5 en T y n= 5 en C) y se extrajeron muestras a los 30 (T_{30}), 60 (T_{60}) y 90 (T_{90}) minutos post inyección.

La metodología para la cuantificación hormonal fue mencionada anteriormente.

Variables testiculares macro y microscópicas: Cuando finalizaron las 45 semanas de vida y de tratamiento, tanto los pavos del grupo T como los del grupo C fueron sacrificados por sangría a blanco y se les extrajeron ambos testículos, de acuerdo a las normas establecidas por el Comité de Bienestar Animal de la Universi-

dad Nacional de Río Cuarto, 1996. Para realizar el análisis histológico, las muestras de testículo fueron fijadas en Bouin y posteriormente fueron teñidas con hematoxilina-eosina, de acuerdo con la técnica convencional. En las secciones histológicas de cada testículo se analizó el estado del epitelio germinal, células de Leydig y de Sertoli.

Diseño experimental: Los datos de la calidad seminal fueron analizados de la siguiente manera: para motilidad espermática en masa y anomalías espermáticas se aplicó un análisis de varianza de dos factores (factor 1: tratamiento, con dos niveles: Control y Fz, factor 2: tiempo, con 5 niveles, repetido), previa transformación de los datos en arcosen. El mismo tipo de análisis se realizó para volumen y concentración seminal, sin transformación de los datos. Por su lado, motilidad espermática individual se analizó mediante un test de Wilcoxon para dos muestras independientes, comparando tratamientos (Control versus Fz).

Los datos del perfil de secreción de Te, debido a la variación entre cada animal, fueron analizados aplicando un test t de diferencias de medias, trabajando con los promedios de los datos por animal, obviando el tiempo. Para los niveles de Te luego del estímulo con buserelina, se aplicó un arreglo factorial sobre un diseño completamente aleatorizado (factor 1: tratamiento, con dos niveles: Controles y Fz, factor 2: con o sin Buserelina y factor 3: tiempo, con cuatro niveles: tiempo 1, tiempo 2, tiempo 3 y tiempo 4, repetido). Además, la variable amplitud del perfil de secreción, se definió como la diferencia entre el nivel basal y el máximo valor hormonal, se analizó usando un test de diferencia de medias (test t) (S.A.S, 1996).

Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de la calidad seminal:

Volumen seminal: el volumen de semen promedio de los eyaculados del grupo T fue menor que en el grupo C, durante las

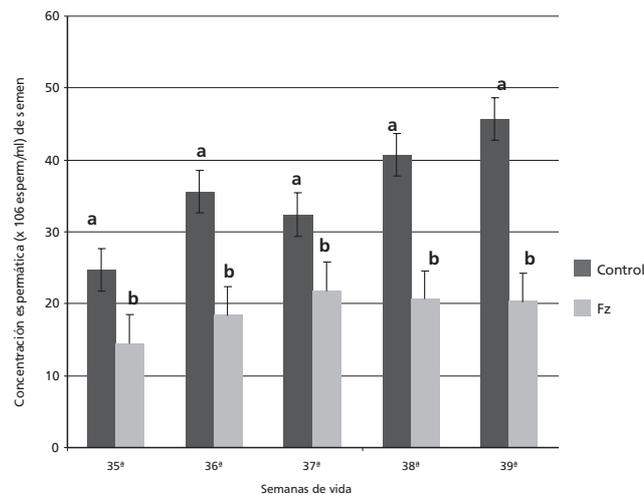
5 extracciones realizadas ($X \pm SE$: $1,164 \pm 0,67$ ml para T y $1,57 \pm 0,57$ ml para C), diferencias que no fueron significativas.

Motilidad espermática en masa: aunque los valores promedio de esta variable fueron ligeramente menores en las aves tratadas respecto a las controles, las diferencias no fueron significativas ($X \pm SE$: 78 ± 10 % para T versus 91 ± 7 % para C).

Motilidad espermática individual: los valores promedio de la motilidad espermática individual mostraron igual tendencia que la motilidad espermática en masa, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($X \pm SE$: $1,76 \pm 0,65$ para T versus $2,51 \pm 0,32$ para C).

Concentración espermática: la concentración espermática del semen del grupo de aves T fue significativamente menor ($p < 0,05$) que el grupo C durante las 5 extracciones realizadas (Figura 1).

Morfología espermática: tanto el % de anomalías de cabeza como de cola de los espermatozoides del semen del grupo T fue

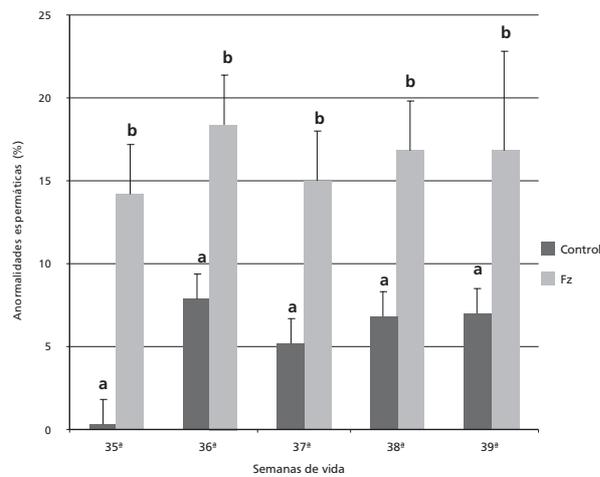


a, b: letras distintas indican diferencias estadísticamente diferentes, $p < 0,05$.

Figura 1. Concentración espermática de semen de pavos ($x 10^6$ ml) desde la 35 a la 39 semana de vida tratados con furazolidona (0,02 % p/p) ($n=11$) y Controles ($n=11$).

significativamente mayor que el grupo de pavos C ($p < 0,05$) (Figura 2).

La disminución en la concentración espermática y el aumento en el porcentaje de anomalías espermáticas, tanto de cabeza como de cola, del semen de los pavos tratados con Fz concuerda



a, b: letras distintas indican diferencia significativa, $p < 0,05$.

Figura 2. Anormalidades espermáticas de semen de pavos (%) de 35 a 39 semanas de vida tratados con furazolidona (0,02 % p/p) (n=11) y Controles (n=11)

con experiencias anteriores de nuestro grupo de trabajo, en gallos sexualmente maduros que habían recibido la adición de este nitrofurano en la dieta, a dosis superior a la utilizada en esta experiencia, durante 44 semanas (Miazzo, R. D., 1996)

Niveles plasmáticos de testosterona y respuesta de esta hormona post estímulo con busarelina:

Debido a la gran dispersión que presentaban los datos en el grupo control, se debió dividir a las aves en niveles hormonales

altos, medios y bajos, mientras que las aves del lote tratado sólo presentaron niveles de Te bajos (Figura 3).

La amplitud media de los pulsos de Te plasmática fue inferior en el lote T ($0,20 \pm 0,08$ ng/ml) respecto del C ($2,10 \pm 0,23$ ng/ml para niveles de Te altos, $0,8 \pm 0,1$ para niveles de Te medios y $0,25 \pm 0,09$ para niveles de Te bajos), siendo estadísticamente diferente la amplitud media del grupo alto y medio nivel de Te ($p < 0,05$). Coincidentemente, la frecuencia de los pulsos de Te en el grupo T fue menor que en los C, presentándose cada 40 minutos en vez de cada 20 minutos.

La notable disminución en los niveles plasmáticos de Te y en la amplitud de los pulsos de este esteroide provocados por la Fz, coincide con observaciones realizadas en pollos adultos, que ha-

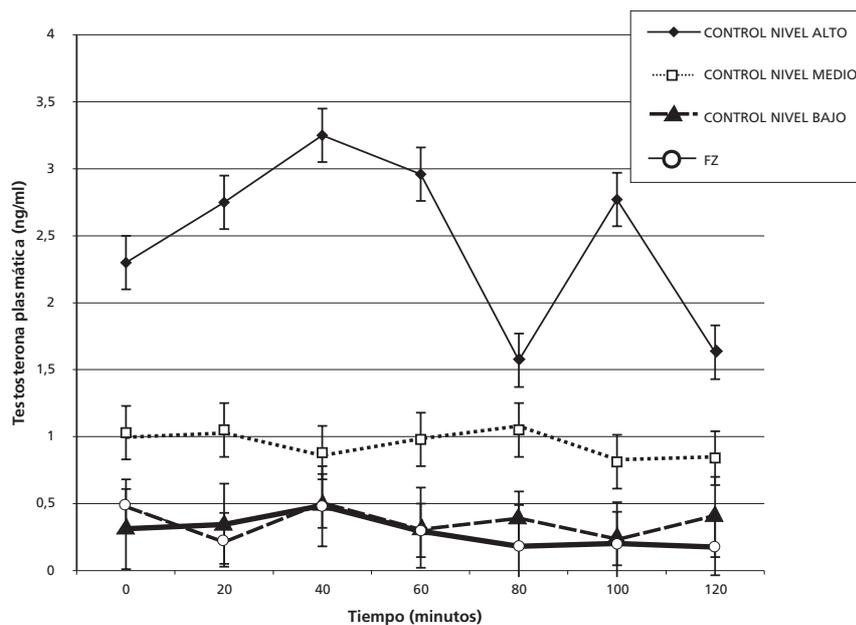
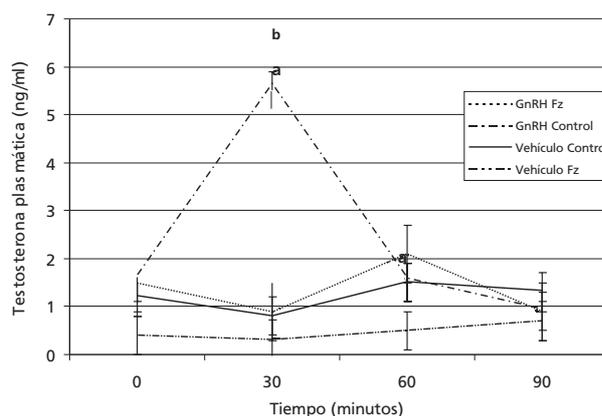


Figura 3. Niveles plasmáticos de testosterona promedio (ng/ml) en pavos de 40 semanas de vida tratados con furazolidona (0,02 % p/p) (n=11) y Controles (n=11), tomados a intervalos de 20 minutos, durante 120 minutos.

bían recibido la droga en el alimento en una dosis que era el doble a la utilizada en este experimento durante 44 semanas (Miazzo *et al.*, 1995; Peralta *et al.*, 1996)

La respuesta de la secreción de Te al estímulo con buserelina en los pavos T fue de menor amplitud ($p < 0,05$) y retrasada en el tiempo ($p < 0,05$) (Figura 4). La inyección de vehículo de buserelina permitió afirmar la observación registrada anteriormente en el perfil de secreción de Te, donde se notó una escasa amplitud en los pulsos de secreción de esta hormona y retraso en la frecuencia de secreción de esos pulsos en el lote T.

Igualmente, esta disminución en la respuesta de Te al estímulo con el análogo de GnRH y el retraso en el tiempo coinciden con observaciones realizadas por nuestro grupo de trabajo en po-



a $p < 0,05$, diferencia significativa que corresponde a la variable nivel hormonal.
b $p < 0,05$, diferencia significativa que corresponde al tiempo transcurrido desde que se estimuló al ave con buserelina y la presentación del pico hormonal

Figura 4. Niveles plasmáticos de testosterona promedio (ng/ml) en respuesta al estímulo con un análogo de la GnRH (Buserelina, Hoechst, dosis: 1 nmol/kg de peso vivo) ó solución fisiológica en pavos de 43 semanas de vida tratados con furazolidona (0,02 % p/p) ($n=11$, 6 recibieron buserelina y 5 solución fisiológica) y Controles ($n=11$, 6 recibieron buserelina y 5 solución fisiológica).

llos sexualmente maduros, luego de recibir este nitrofurano en el alimento a dosis mayores a las de esta experiencia, durante períodos prolongados. (Miazso *et al.*, 1995).

Como se preveía, la Fz no sólo modificó los niveles basales de Te, sino que también afectó alguna porción del eje hipófiso gonadal, a juzgar por la escasa respuesta en la liberación de este esteroide y el retraso tan marcado en el tiempo de liberación del mismo. Observaciones posteriores de nuestro grupo de trabajo en pavos de 20 semanas de vida, tratados con Fz a dosis de 0,04 % p/p, detectaron descenso tanto en los niveles séricos de LH como Te cuando se los comparaba con los controles correspondientes, valores que fueron estadísticamente significativos. Además, en el mismo experimento se analizó el número de receptores testiculares de LH y su capacidad de unión a esta gonadotropina y se encontraron valores significativamente menores en el grupo tratado respecto a los controles para ambas variables. También se midió la respuesta biológica de las células de Leydig luego de la administración exógena de LH aviar y en el grupo T se detectó una respuesta de 50 % inferior respecto a los C, diferencia estadísticamente significativa (Peralta, M. F., 1999). Si bien la dosis utilizada en esta experiencia es la mitad de la mencionada en los experimentos con los receptores de LH y el bioensayo de las células de Leydig, posiblemente el daño que genera este nitrofurano sea el mismo. Así, afectaría entonces la respuesta al factor liberador de gonadotropinas, generando una disminución en los niveles de LH plasmáticos. Además, a nivel testicular la furazolidona produciría una disminución en la respuesta del receptor de LH, lo que generaría disminución en los niveles de Te secretados por las células de Leydig.

Variables testiculares macroscópicas y microscópicas:

En el lote de las aves T, se notó un 50% de testículos con quistes focalizados en el polo superior del órgano, con un contenido acuoso y de aparición unilateral, con mayor incidencia en el testículo izquierdo.

Esas alteraciones registradas en los niveles hormonales de Te, tuvieron como consecuencia la aparición de patologías

macroscópicas, aunque sólo se notaron en una porción de las gónadas, y no en todo el órgano. Estas observaciones patológicas concuerdan con las descubiertas por otros investigadores que trabajaron con gallos, pavos y patos que habían recibido Fz a distintas dosis y tiempos de administración. (Khan *et al.*, 1995, Peralta, M. F., 1999 y Webb y Van Vleet, 1990).

En el análisis histológico de la zona quística testicular de los pavos T, se observaron túbulos hipoplásicos, con unas pocas células de Sertoli y espermatogonias y ausencia del resto de la línea germinal. Próximos a estos túbulos con degeneración germinal y no germinal, las células de Leydig se presentaron con características de células secretoras. Por su parte, en la zona testicular de aspecto normal, se observaron distintos grados de degeneración germinal. Los túbulos menos afectados presentaron abundantes espermatoцитos I y espermátides, evidenciándose retraso en la línea germinal, ya que los pavos controles tuvieron abundantes espermatozoides. Los túbulos con mayor grado de degeneración presentaron espermatoцитos I hiperplásicos, con células picnóticas y macrófagos próximos a ellos, además, numerosas vacuolas lipídicas en el interior de todas las células de la línea germinal, excepto las espermatogonias. (Figuras 5 y 6). Tanto en los túbulos con degeneración como en los túbulos de apariencia normal las células de Leydig se presentaron normales. Posiblemente, la ausencia de modificaciones registradas en estas células se deba a que no se ha realizado una tinción específica para medir la funcionalidad de la misma, que, como se mencionó anteriormente, está seriamente afectada por la furazolidona (Peralta, M. F., 1999).

Como se esperaba luego de un descenso de los niveles y en la amplitud del pulso de una de las hormonas fundamentales en la espermatogénesis, la testosterona, se detectó un retraso en la línea germinal, a nivel de espermatoцитo I. Parecería que este tipo celular es uno de los blancos de la toxicidad del nitrofurano, a juzgar por las patologías observadas a ese nivel y por estudios tanto microscópicos como ultramicroscópicos realizados por nuestro grupo de trabajo tanto en pollos como en pavos, que habían recibido Fz en la dieta, a distintas dosis y tiempos de administra-

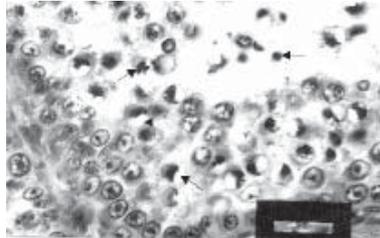


Figura 5. Imagen microscópica de testículo de pavo de 45 semanas de vida, tratado con furazolidona (0,02 % p/p, es decir 0,02 g de furazolidona/100 g de alimento). Numerosas vacuolas lipídicas y células picnóticas dentro de la línea germinal desordenada (400 x).

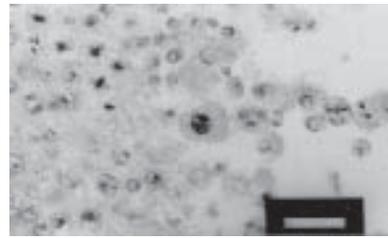


Figura 6. Imagen microscópica de testículo de pavo de 45 semanas de vida, control. Espermatogénesis normal. (400 x).

ción (Peralta, M. F., 1999; Peralta *et al.*, 2002; Miazzi, R. D., 1996). Nuestros hallazgos coinciden con los de otros investigadores quienes notaron alteraciones semejantes en patos y pollos que habían recibido la adición de Fz en sus dietas, si bien ellos utilizaron dosis y tiempo de administración diferentes al de esta investigación (Khan *et al.*, 1995; Webb y Van Vleet, 1990, 1991)

CONCLUSIONES

La furazolidona, administrada a dosis de 0,02 % peso/peso en el alimento de pavos machos, durante 45 semanas, produjo disminución tanto en los niveles basales como en la amplitud y frecuencia del pulso basal de Testosterona plasmática y el post estimulado con un análogo sintético de la GnRH. (Buserelina).

Esto provocó retraso en la espermatogénesis y alteraciones en la calidad seminal, con degeneraciones severas en la línea germinal de los túbulos seminíferos de los testículos de las aves tratadas durante 45 semanas.

BIBLIOGRAFÍA

ANDRABI, S.; AHMAD, M.; SHAHAB, M. 1998. Furazolidone treatment suppresses pubertal testosterone secretion in male broiler breeder. *Vet. Hum. Toxicol.* 40 (6): 321-325.

BACON, W. ; PROUDMAN, J. ; FOSTER, D. ; RENNER, P. 1992. Pattern of secretion of Luteinizing Hormone and Testosterone in the sexually mature males Turkey. *Gen. Comp. Endocrinol.* 84: 447-460.

BURROWS, W. ; QUINN, J. 1935. The collectionn of spermatozoa from the domestic fowl and turkeys. *Poultry Sci.* 47: 19-24.

KHAN, M.; ZAMAN, Q.; ISLAM, N. ; MUHAMMAD, G. 1995. Furazolidone toxicosis in young broiler chicks: morphometric and pathological observations on heart and testes. *Vet. Hum. Toxicol.* 37 (4): 314-318.

MARQUEZ, B.; OGASAWARA, F. 1975. Scanning electron microscope studies of turkey semen. *Poultry Sci.* 54: 1139-1143.

MIAZZO, R. D.; PERALTA, M. F.; VIVAS, A. B.; BOSCH, R.; PICCO, M. 1995. Descenso de los niveles plasmáticos de testosterona en machos Leghorn (*Gallus domesticus*) tratados con furazolidona. *Rev. Arg. Prod. Animal* 15 (3-4): 1064-1066.

MIAZZO, R. D. 1996. Acción de la furazolidona sobre la ganancia de peso y la conversión alimenticia y algunos parámetros reproductivos en *Gallus domesticus* macho. Tesis Master Science. P. 88. Centro de Altos Estudios Agronómicos Instituto Agronómico Mediterráneo. Zaragoza, España.

MOYA, A.; CAPOTE, M.; DUVERGER, O.; AGUADO, E. 1988. Selección de pavos reproductores mediante la evaluación espermática de los eyaculados. *Revista Cub. Cienc. Vet.* 19 (1): 29-38.

PERALTA, M. F.; VIVAS, A.; MIAZZO, R.; BOSCH, R. 1996. Efecto de la furazolidona sobre testículo de pollo prepúber (*Gallus domesticus*). Avances Prod. Anim. 21(1-2): 190-195

PERALTA, M. F. 1999. Efecto de la furazolidona sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal en pavos machos (*Meleagris gallopavo*). Tesis Magister en Cs. Agropecuarias y Veterinarias, mención Reproducción Animal. P. 120, Río Cuarto, Córdoba.

PERALTA, M. F.; MIAZZO, R. D.; KONCURAT, M. A.; VIVAS, A.B. 2002. Estudio anátomo-histopatológico y ultraestructural de testículos de pavos (*Meleagris gallopavo*) que recibieron furazolidona en sus dietas. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 10 (2): 77-80.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE, INC. 1996. SAS/STAT guide for personal computers. SAS Institute Inc, Cary, Nc.

THURSTON, R. HESS, R., BIELLIER, H., ADLINGER, H. ; SOLORZANO, R. 1975. Ultraestructural studies of semen abnormalities and herpesvirus associated with cultured testicular cells from domestic turkeys. J. Reprod. Fertil. 45: 235-241.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO. 1996. Normas para la cría de animales para experimentación. Resol. del CS. Nº 508/96.

WEBB, D.; VAN VLEET, J. 1990. Cystic testicular degeneration in furazolidone toxicosis of sexually immature ducks. Avian Dis. 34:693-700.

WEBB, D.; VAN VLEET, J. 1991. Ultraestructural alterations in furazolidone induced cystic testicular degeneration in ducklings. Avian Dis. 35:107-114.