

## INFLUENCIA DEL FOTOPERIODO NATURAL SOBRE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN EL GATO DOMÉSTICO (*Felis silvestris catus*)

### EFFECT OF NATURAL PHOTOPERIOD ON SPERM MORPHOLOGY IN DOMESTIC CAT (*Felis silvestris catus*)

Romina NUÑEZ FAVRE<sup>1,2</sup>, María Candela BONAURA<sup>1,2</sup>; María Florencia GARCÍA<sup>1</sup>; María Cecilia STORNELLI<sup>1</sup>, Rodolfo Luzbel DE LA SOTA<sup>1,2</sup>; María Alejandra STORNELLI<sup>1\*</sup>

1-Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. 2- CONICET.

#### RESUMEN.

El objetivo de este trabajo es evaluar la influencia del fotoperiodo sobre la morfología espermática en el gato doméstico. Se utilizaron 43 gatos mestizos orquiectomizados durante las últimas dos semanas de cada estación para evidenciar el efecto del fotoperiodo sobre la morfología espermática. Los espermatozoides epididimales fueron recuperados mediante la técnica de *cutting*. Para la evaluación morfológica, se utilizó tinción 15<sup>®</sup> (Biopur) y se clasificaron las anomalías según su localización. Los gatos castrados en ascenso lumínico presentaron un mayor porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales comparados con los castrados en descenso lumínico ( $45,95 \pm 2,5$  vs.  $35,95 \pm 3,4$ ;  $P < 0,02$ ). Así mismo durante el descenso lumínico pudo observarse un aumento significativo de anomalías localizadas en la región de la cabeza en comparación con las observadas durante el ascenso lumínico ( $17,27 \pm 1,94$  vs.  $10,73 \pm 1,04$ ;  $P < 0,05$ ). Estos resultados muestran que la morfología espermática presenta variaciones estacionales en relación al fotoperiodo.

**Palabras claves:** gato, espermatozoides, morfología espermática.

#### ABSTRACT.

The aim of this study is to assess epididymal sperm morphology in cats under natural photoperiod. Mixed breed tomcats ( $n=43$ ) that underwent bilateral orchietomy at a municipal public pet shelter were used in the study. Only mature toms castrated in the two last weeks of each season were included in this study. Sperm samples were obtained by cutting the cauda epididymis and stained with tinción 15<sup>®</sup> (Biopur). Toms castrated during increasing light season had higher normal sperm morphology compared to toms castrated during decreasing light ( $45,95 \pm 2,5$  vs.  $35,95 \pm 3,4$ ;  $P < 0,02$ ). Likewise, a higher percentage of head sperm abnormalities were observed during decreasing light season compared with increasing light period ( $17,27 \pm 1,94$  vs.  $10,73 \pm 1,04$ ;  $P < 0,05$ ). In conclusion, natural photoperiod induces seasonal changes in sperm morphology.

**Keywords:** cat, sperm, sperm morphology.

Recibido abril 30, 2015 - Aceptado agosto 19, 2015

\* Correspondencia de autor: María Alejandra Stornelli. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Calle 60 y 118 s/n (CP 1900). La Plata, Buenos Aires, Argentina. Tel (54) (0221) 4236663/64. Int 455. e-mail: [astornel@fcv.unlp.edu.ar](mailto:astornel@fcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

El estudio de la cantidad y tipo de anomalías espermáticas es un indicador importante de la capacidad fecundante del semen en animales domésticos. En algunas especies como los bovinos y caninos el porcentaje mínimo de espermatozoides morfológicamente normales en un eyaculado de buena calidad se encuentra bien definido. Sin embargo en otras especies, como en los felinos, este parámetro aún no ha sido definido, probablemente debido a la gran variabilidad individual y estacional que presenta esta especie en la producción espermática y por consiguiente en la calidad de semen. Algunos autores han encontrado alrededor de 40% de espermatozoides morfológicamente normales en gatos mestizos, mientras que otros sugieren que el porcentaje sería mayor al 60% (1, 2). Si bien 10 años atrás aún no se había documentado la producción espermática estacional en el gato doméstico, hoy en día es bien conocida la estacionalidad reproductiva del macho felino y su relación con el fotoperiodo (1, 3, 4, 5). Se ha observado que durante las épocas del año que poseen mayor cantidad de horas luz diaria el semen es de mejor calidad (4, 5). Este hecho hace que la estimación de la calidad de semen deba ser referida a la época del año y al fotoperiodo actuante, de otra manera la calidad de semen de los animales no podría ser comparada y evaluada a fin de obtener los parámetros seminales normales del gato doméstico.

El objetivo de este trabajo es evaluar la influencia del fotoperiodo sobre la morfología espermática en el gato doméstico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron gatos (n=43) mestizos de pelo corto, clínicamente sanos, cuyas edades oscilaban entre 1 y 4

años de edad y con un peso entre 2 y 5 kg en un diseño completamente aleatorizado. Los gatos utilizados formaban parte de un plan de control urbano de la reproducción organizado por la Municipalidad de La Plata y Almirante Brown. Sólo se incluyeron en el estudio los animales orquiectomizados durante las últimas dos semanas de cada estación para evidenciar el efecto del fotoperiodo sobre la morfología espermática. Las muestras obtenidas se agruparon en relación al fotoperiodo en el momento de la cirugía. Los gatos castrados en invierno y primavera fueron incluidos en el grupo ascenso lumínico (AL) y los gatos castrados en verano y otoño fueron incluidos en el grupo descenso lumínico (DL).

Los gatos fueron anestesiados con ketamina-xylazina y sometidos a orquiectomía bilateral. Inmediatamente después de finalizada la cirugía, cada par de testículos se colocó en un frasco con solución fisiológica atemperada a 37°C y transportados refrigerados a 15°C al laboratorio. El epidídimo de cada testículo fue seccionado cuidadosamente y se realizó la recuperación espermática de la cola del órgano mediante la técnica de *cutting* sobre platina térmica (6). Para la evaluación morfológica, una gota de espermatozoides epididimales se extendió sobre portaobjetos pre-calentado y se tiñó utilizando tinción 15® (Biopur S.R.L. Argentina). Posteriormente, se contaron 100 células por muestra con objetivo de inmersión. Las morfoanomalías se clasificaron según su localización (cabeza, pieza intermedia y cola) (7).

## Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante ANOVA con PROC MIX de SAS®. La localización de las anomalías de gatos castrados en días con AL (de 9h 51' a 14h 27') fue comparada con las obtenidas de gatos castrados en días con DL (de 14h 27' a 9h 51').

**RESULTADOS**

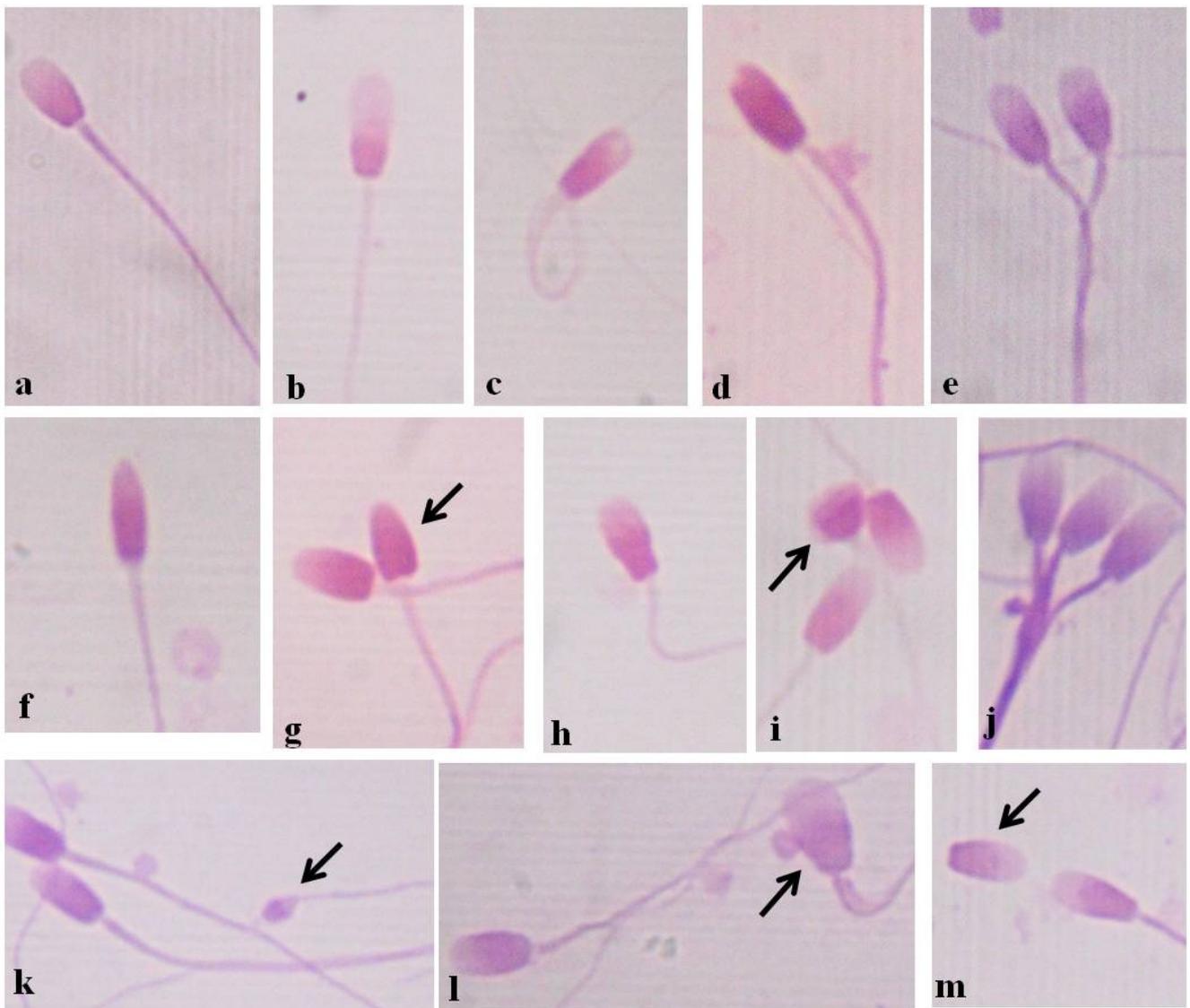
El estudio mediante microscopía óptica permitió observar alteraciones en:

- acrosoma: quistes, hinchamientos y defectos,
- cabeza: macro y microcefalia, cabezas de forma

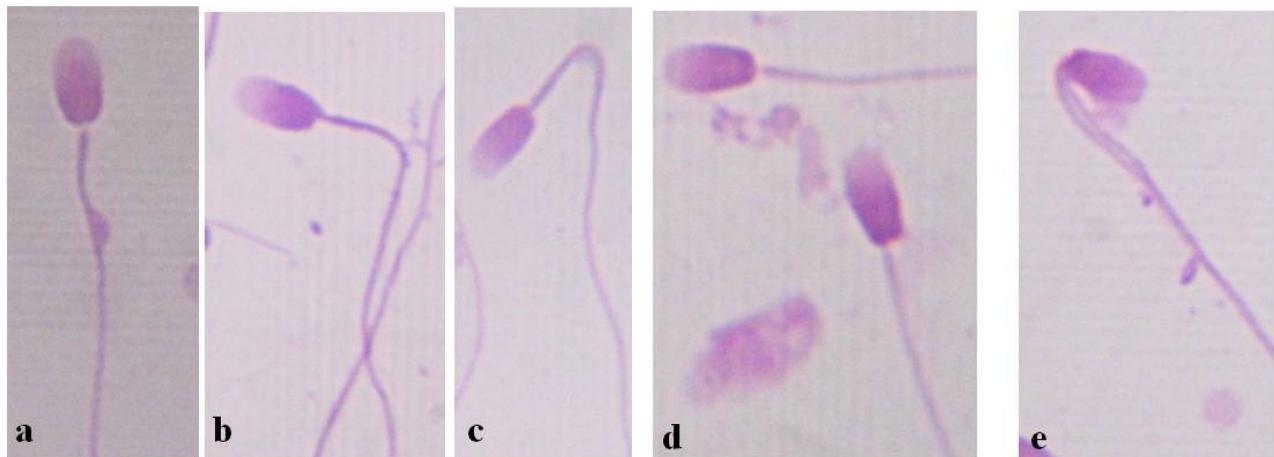
irregular, globosas, piriformes, alargadas, dobles y triples (Fig. 1),

-pieza intermedia: doblada, gotas citoplasmáticas, dobles e inserción excéntrica (Fig. 2),

-cola: dobladas, enrolladas, defecto Dag (Fig. 3).



**Figura 1.** Anormalidades espermáticas localizadas en la región de la cabeza del espermatozoide (Tinción 15, Biopur®). a) espermatozoide con cabeza normal, b) acrosoma hinchado, c) quiste acrosomal, d) defecto de acrosoma, e) cabeza doble, f) cabeza alargada, g, h, i) cabeza irregular (flecha), j) cabeza triple, k) microcefalia (flecha), l) macrocefalia (flecha), m) cabeza suelta (flecha).



**Figura 2.** Anormalidades localizadas en la pieza intermedia del espermatozoide. a) gota citoplasmática distal, b) pieza intermedia doblada, c) pieza intermedia doblada con restos de citoplasma, d) inserción excéntrica de la cola, e) pieza intermedia doble.



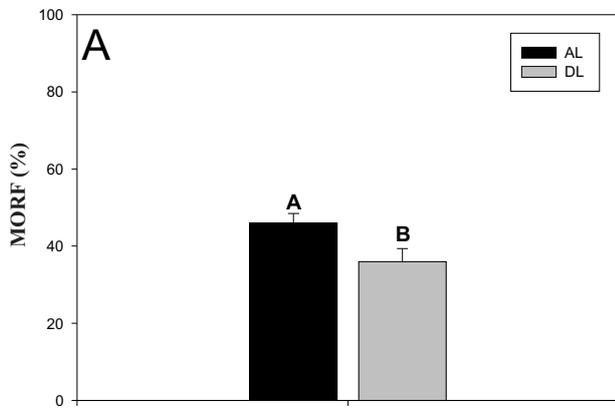
**Figura 3.** Anormalidades localizadas en la cola del espermatozoide. a, b) cola doblada, c, d, e) colas enrolladas f) defecto Dag.

Los animales castrados en AL presentaron un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales significativamente superior a los gatos castrados en DL ( $45,95 \pm 2,5$  vs.  $35,95 \pm 3,4$ ;  $P < 0,02$ ) (Fig. 4).

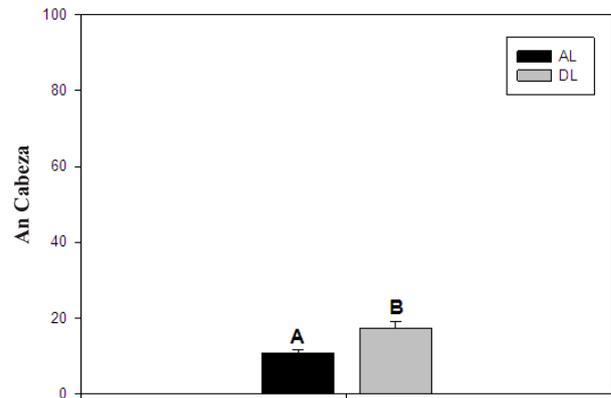
El análisis de las anormalidades espermáticas reveló diferencias significativas en las alteraciones localizadas

en la cabeza cuando se comparó AL vs DL ( $10,73 \pm 1,04$  vs  $17,27 \pm 1,94$ ;  $P < 0,05$ . Fig. 5).

Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas en las alteraciones presentes en la pieza intermedia ni en la cola ( $16,12 \pm 1,28$  vs  $15,13 \pm 2,46$ ;  $11,13 \pm 2,81$  vs  $16,50 \pm 2,14$  respectivamente;  $P > 0,05$ ).



**Figura 4.** Variaciones estacionales de la morfología espermática. Valores indicados en  $LSM \pm SE$ . Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).



**Figura 5.** Variaciones estacionales de las anomalías localizadas en la región de la cabeza del espermatozoide. Valores indicados en  $LSM \pm SE$ . Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra que en el gato doméstico la producción espermática se mantiene constante a través del año evidenciando variaciones estacionales en la morfología espermática. Si bien nuestros resultados se encuentran dentro del rango de anomalías observadas por Axner y col. (entre el 8 y el 13% de anomalías en la cabeza y entre el 1 y el 20% de anomalías en la cola), muestran algunas diferencias (8). Estas diferencias pueden deberse a la no inclusión de la influencia del fotoperiodo en el análisis de los resultados obtenidos por Axner y col. Las morfoanomalías observadas por Axner y col. en la cola del epidídimo (cabezas piriformes, irregulares, no desarrolladas y cabezas con diferencia de tamaño, quistes acrosomales y defectos en la forma del acrosoma) fueron las mismas observadas por nosotros. Sin embargo, nuestro trabajo reveló diferencias en el porcentaje del tipo de morfoanomalía observada según el fotoperiodo estudiado. Así durante el descenso lumínico se observaron acrosomas hinchados, quistes acrosomales, alteraciones del tamaño cefálico (macro y

microcefalias), cabezas alargadas, irregulares y sueltas en porcentajes significativamente superiores a los observados en ascenso lumínico.

Varios años más tarde Axner y col (5) estudiaron la influencia del fotoperiodo sobre la calidad de semen en felinos observando que durante la época reproductiva se evidenciaba un porcentaje significativamente superior de espermatozoides morfológicamente normales al igual que lo observado en nuestro trabajo. Así mismo Blottner y col (1) encontraron una mayor proporción de espermatozoides morfológicamente normales durante la primavera (época reproductiva) comparado con el otoño-invierno ( $49,6 \pm 4$  vs.  $30,0 \pm 2,5$ ;  $p < 0,001$ ) confirmando la influencia del fotoperiodo observada por Axner y col (5) y concordando con nuestras observaciones. Nuestros resultados fueron similares a los de Blottner y col por cuanto hemos encontrado un porcentaje similar de espermatozoides morfológicamente normales en los periodos estudiados. Si bien en nuestro trabajo y el de Blottner y col el número de morfoanomalías fue superior en la época del año con descenso lumínico (temporada no reproductiva)

nosotros encontramos también diferencias en el porcentaje del tipo de morfoanomalía observada, dato no observado en el estudio de Blottner y col (1).

En conclusión, estos resultados muestran que la morfología espermática presenta variaciones estacionales en relación al fotoperiodo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blottner S, Jewgenow K (2007) Moderate seasonality in testis function of domestic cat. *Reprod Domest Anim* 42: 536-540.
2. Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Van Dyk A, Ebedes H, Brand DJ (1983) Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol Reprod* 29: 1019-1025.
3. Stornelli MA, Reyna JC, Stornelli MC, Nunez Favre R, Savignone CA, Tittarelli CM, de la Sota RL (2009) Seasonal changes in testicular cell morphology in domestic male cats (*Felis catus*). *Reprod Domest Anim* 44: 287-290.
4. Nuñez Favre R, Bonaure M, Tittarelli C, Mansilla-Hermann D, de la Sota R, Stornelli M (2012) Effect of Natural Photoperiod on Epididymal Sperm Quality and Testosterone Serum Concentration in Domestic Cat (*Felis silvestris catus*). *Reprod Domest Anim* 47: 232-234.
5. Axner E, Linde Forsberg C (2007) Sperm morphology in the domestic cat, and its relation with fertility: a retrospective study. *Reprod Domest Anim* 42: 282-291.
6. Tittarelli C, Savignone CA, Arnaudin E, Stornelli MC, Stornelli MA, de la Sota RL (2006) Effect of storage media and storage time on survival of spermatozoa recovered from canine and feline epididymides. *Theriogenology* 66: 1637-1640.
7. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS (2001) Semen Collection and Evaluation in the Cat. En: *Canine and Feline Theriogenology*, Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS (eds) Philadelphia, W. B. Saunders Company, Philadelphia, New York, pp. 508- 520.
8. Axner E, Linde-Forsberg C, Einarsson S (1999) Morphology and motility of spermatozoa from different regions of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology* 52: 767-778.