

DESCRIPCION DE ALGUNAS CARACTERISTICAS SEMINALES EN CANINOS DE RAZA OVEJERO ALEMAN

Luis Tello C. (MV), Mónica De los Reyes S. (MV),
Arturo Bernal S. (MV, MS).

DESCRIPTION OF SOME SEMINAL PARAMETERS IN GERMAN SHEPERD DOG

With the purpose, to estimate some seminal parameters related to age, 100 ejaculates from 25 healthy German Sheperd dogs ranging from 1 to 5 years old were studied. The semen samples were collected once monthly in an artificial vagina during late autumn and early winter. Immediately after collection each ejaculate was evaluate by routinary methods.

The following general means (\pm SD) were obtained: volume 22.91 ± 14.47 ml; pH 7.04 ± 0.28 ; motility $65 \pm 29.91\%$; sperm concentration $87.45 \pm 65.15 \times 10^6$ spermatozoa per ml; spermatozoa per ejaculate $1.53 \pm 1.02 \times 10^9$ and total sperm abnormalities $7.20 \pm 3.70\%$. Most of the samples had a white shiny color (95%) and watery aspect (99%). Only total sperm per ejaculate showed significant differences between age groups ($p < 0.05$).

La fertilidad en la especie canina obedece a factores que involucran tanto a la hembra como al macho; sin embargo, debido a la baja frecuencia de celos por ser la perra monoestrica estacional y la mayor dificultad en obtener repeticiones de servicios, existe la equivocada tendencia de responsabilizar a la hembra cada vez que los índices reproductivos no alcanzan los valores esperados. No obstante, el macho tiene un rol importante en la fertilidad de esta especie, más aún, si se considera que al igual que en otros animales domésticos, un reproductor debe cubrir a varias hembras.

Uno de los factores más importantes para lograr una adecuada fertilidad es la correcta elección de los reproductores, puesto que serán ellos quienes aporten a su progenie las características deseadas para la raza (Johnson, 1980). Es por ello que se hace necesario establecer un patrón de clasificación de reproductores que pueda proporcionar las mayores garantías posibles de una preñez con crías sanas y viables.

Dentro de los patrones para la determinación potencial de la fertilidad, quizás el de mayor utilidad en los machos sea el análisis seminal, ya que permite diferenciar formas normales de anor-

males y grados de alteración que puedan llevar a un menoscabo de la fertilidad e incluso a la esterilidad. Sin embargo, la gran mayoría de los estudios basados en la composición seminal de los perros, han sido practicados en el extranjero en la raza Beagle, por su condición de raza de laboratorio, siendo las investigaciones en las demás razas escasas e incompletas.

Los objetivos de la presente investigación fueron determinar algunas características seminales mediante el espermiograma convencional en perros de raza Ovejero Alemán en Chile y establecer las diferencias en estas características debidas a la edad del reproductor.

MATERIAL Y METODOS

Durante el período otoño-invierno se utilizaron 25 ejemplares caninos de la raza Ovejero Alemán, clínicamente sanos, los cuales se clasificaron según su edad en cinco grupos de uno a cinco años, utilizando cinco animales por grupo. Para la recolección del material seminal se utilizó una perra en celo, efectuándose las extracciones mediante una vagina artificial con una temperatura interna de 40°C. Previamente se realizaron estimulaciones manuales a los machos según la técnica descrita por Seager y Platz, 1977.

Cada reproductor fue sometido a una extracción mensual durante cuatro meses consecutivos, obteniéndose por tanto 20 eyaculados por grupo.

Cada uno de los eyaculados se evaluó inmediatamente luego de la recolección, determinándose las siguientes características:

- Aspecto: Se clasificó de 0 a 5 en términos de fluidez y densidad en: 0. Acuoso; 1. Coloidal; 2. Semigelatinoso; 3. Denso; 4. Flóculo sólido; 5. Otro aspecto.
- Color: Se evaluó según la siguiente escala: 1. Blanco brillante; 2. Blanco lechoso; 3. Blanco amarillento; 4. Grisáceo; 5. Otro color.
- Volumen: Fue medido en la copa de recolección graduada en centímetros cúbicos.
- pH: Se midió mediante un papel indicador universal.
- Motilidad Progresiva: Se estimó por la observación de una gota de semen con aumento mayor (ocular 16x, objetivo 40x), al microscopio óptico, con platina térmica a 37°C, expresándolo como porcentaje.
- Anormalidades Espermáticas: Se utilizó la técnica de dilución en glutaraldehído descrita por De los Reyes (1983), contabilizándose 200 espermatozoos y agrupando las anormalidades como porcentajes en: Acrosoma y cabeza, Tracto intermedio, Cola, Totales.
- Concentración espermática: Se utilizó para estos fines la cámara de recuento de Neubauer, diluyendo el semen en una proporción de 1:100, según la técnica descrita por Díaz y Arancibia (1971). El resultado se expresó en millones de espermatozoides por ml y espermatozoides totales por eyaculado.

El procesamiento estadístico de los datos para las variables cuantitativas, consideró el empleo de valores promedios y desviaciones típicas. Además

se procedió a un estudio de correlaciones simples entre algunas características del espermograma convencional.

Las características expresadas como porcentaje (motilidad progresiva, motilidad de masa y anormalidades espermáticas), fueron previamente transformadas según la fórmula de C.I. Bliss: ángulo = $\arccos \sqrt{\frac{\%}{100}}$. Igualmente los valores para la concentración espermática por centímetro cúbico y por eyaculado se transformaron a raíz cuadrada (Sokal y Rohlf, 1969). Las comparaciones estadísticas se realizaron por análisis de varianza usando el método de los mínimos cuadrados (Sokal y Rohlf, 1969). Para el análisis de las variables cualitativas se empleó el método para modelos lineales.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores promedio totales para las características cuantitativas del semen se resumen en el cuadro 1.

Se obtuvo un valor promedio de 22,91 ml de volumen seminal, lo que supera los promedios reportados por otros autores (Larsen, 1980; Smith, 1983 y Amann, 1986). Las diferencias encontradas con la bibliografía citada podrían deberse fundamentalmente al efecto de la raza estudiada, ya que los valores señalados corresponden a la raza Beagle, como también al método de recolección empleado por estos autores, el cual fue la masturbación o la electroeyaculación. Es interesante destacar que la recolección mediante vagina artificial, utilizada en este trabajo, se asemejaría a la obtención de un volumen de eyaculado similar a lo esperado en una monta natural, lo que probablemente haya permitido evaluar en su real magnitud los volúmenes

CUADRO 1

VALORES PROMEDIO Y DESVIACION TIPICA
DE LAS VARIABLES CUANTITATIVAS EN EL SEMEN
DE CANES OVEJERO ALEMAN. (N = 100)

Características	Promedio	Desviación típica
Volumen (ml)	22,91	14,47
pH	7,04	0,28
Motilidad progresiva (%)	65,00	29,91
Concentración (10 ⁶) espermatozoides/ml	87,45	65,15
Número total de espermatozoides por eyaculado (10 ⁹)	1,53	1,02
Anormalidades espermáticas:		
Cabeza y acrosoma (%)	1,2	1,0
Cuello y tracto intermedio (%)	1,1	1,0
Cola (%)	4,9	1,5
Totales (%)	7,2	3,7

obtenidos en los eyaculados de esta raza de perros, ya que la fracción prostática, marcadamente voluminosa, es eyaculada durante el cierre coital y requiere de mayor tiempo para su extracción.

El pH fue una de las variables del espermio-grama que presentó una mayor estabilidad a lo largo del estudio. El valor promedio encontrado para el total de las muestras fue de 7,04, el que se ajusta a lo reportado por Bartlett (1962) y por McDonald (1981), como valor esperable para el semen canino. Asimismo, el promedio registrado se encuentra dentro del rango de pH descrito en otras especies domésticas; a nivel nacional se reportan valores de 6,9; 7,7; 7,6; 6,8 para el toro (Hansel y McEntee, 1981), conejo (Jarpa, 1983), potro (De los Reyes, 1983) y chivato (Bown, 1986), respectivamente.

En el valor del pH del eyaculado influye marcadamente el pH neutro del fluido prostático, el que prácticamente representa el 90% del volumen seminal total; también es importante señalar que la composición del semen en el perro revela tenores muy bajos de ácido cítrico y fructosa debido, según Brushi y Cols. (1979) y Abreu y Cols. (1980) a la ausencia de las vesículas seminales y las glándulas bulbouretrales, lo que tendería a alcalinizar el pH.

La motilidad espermática evaluada en el presente estudio alcanzó un valor de 65%, lo que es similar a lo descrito por Heywood y Sortw (1971) y James y Cols. (1979); pero levemente inferior a lo mencionado por Tha y Cols. (1983), y Smith y Larsen (1983). Estos porcentajes de motilidad progresiva son más bajos al compararlos con los reportados para otros animales como el caprino, para quien Bown (1986) describe valores de 93,8% y para el cerdo con 80% (Larson, 1986). Cabe señalar la existencia de factores inhibidores del movimiento espermático, reconocidos en otras especies como el hombre (Gorus y Cols., 1982) y el potro (Rodríguez, 1986), pero desconocidos en el perro.

La concentración espermática promedio registrada en este trabajo fue de $87,45 \times 10^6$ espermatozoos por ml, cifra que es similar a lo descrito por otros autores (Larsen, 1980; Smith y Larsen, 1983, y Amann, 1986). Sin embargo, el promedio del número total de espermatozoides por eyaculado es considerablemente mayor a lo reportado por la literatura; estas diferencias se deberían a los elevados volúmenes alcanzados en este trabajo más que a la densidad espermática.

Los valores obtenidos tanto para concentración espermática por ml como para espermatozoides totales eyaculados, ubican al perro en cifras inferiores a las obtenidas por Heyne (1979) para el potro, Jainudeen (1986) para el búfalo, Bown (1986) para el chivato y Larsen (1986) para el

verraco; siendo superior a lo descrito por Jarpa (1983) para el conejo.

Por otra parte, se observó una correlación positiva y significativa ($P \leq 0,05$) entre concentración espermática y motilidad ($r = 0,26$) y espermatozoides totales y motilidad ($r = 0,43$); lo que es interesante desde un punto de vista biológico, pues implica que los eyaculados con un mayor número de células espermáticas debieran poseer mejores motilidades, lo que aseguraría potencialmente una mejor fertilidad. Esta observación es similar a lo descrito en otras especies como el conejo y el chivato (Jarpa, 1983; Bown, 1986), donde también se encuentran correlaciones significativas entre estas dos características del espermio-grama convencional.

En relación a la morfología espermática, considerando el porcentaje de anomalías totales obtenidas, este es inferior a lo reportado por Bartlett (1962), Fahning (1971), Smith y Larsen (1983) siendo similar a lo informado por James y Cols. (1979).

Del total de teratoespermios (7,2%), la mayor incidencia se debió a las anomalías de cola, las que representaron un 68%; mientras que las anomalías de cabeza-acrosoma y cuello-tracto intermedio, representaron un 16,7% y 15,3%, respectivamente, del total. Estos resultados se contraponen a lo descrito por otros autores (Bartlett, 1962, y Fahning, 1971), quienes describen una mayor proporción de alteraciones del cuello y tracto intermedio y un menor porcentaje a nivel de la cola, mencionando valores de anomalías totales superiores al 30%.

Las diferencias entre los valores obtenidos en este estudio y los reportados por la bibliografía extranjera, pueden deberse al efecto genético de la raza, como también a un mejor manejo sanitario con mayor control sobre patologías infecto-contagiosas que cursen con cuadros febriles, ya que de las alteraciones morfológicas encontradas, las más frecuentes fueron las colas enrolladas, lo que pudo originarse en procesos febriles o infecciosos inespecíficos que no dieron sintomatología clínica.

No se obtuvo una correlación significativa entre las anomalías espermáticas totales y la motilidad progresiva, las que sí se asocian biológicamente, pues una cinética normal de las células espermáticas requiere una conformación estructural acorde a esta motilidad. Una posible explicación sería la baja cantidad de formas anormales encontradas en este trabajo y la elevada variabilidad individual respecto a la motilidad de los espermatozoides.

La problemática de establecer un sistema de calificación objetiva para las variables de tipo cualitativo (aspecto y color del eyaculado), se trató de disminuir al efectuar todas las observacio-

nes y valoraciones por una misma persona, estableciéndose un sistema especial de evaluación para

estas características. Los valores promedio para ambas variables se presentan en el cuadro 2.

CUADRO 2
VALORES PARA LAS CARACTERISTICAS SEMINALES CUALITATIVAS EN SEMEN DE CANES OVEJERO ALEMÁN (EXPRESADO EN PORCENTAJE)

Características	T I P O				
	Acuoso	Coloidal	Semigelatinoso	Flóculo sólido	Otro
Aspecto	99,0	1,0	—	—	—
Color	Blanco brillante 95,0	Blanco lechoso 3,0	Amarillento —	Grisáceo —	Otro 2,0

El aspecto del semen fue en el 99% de las muestras de tipo acuoso, asociado fuertemente al volumen, lo que, según Hansel y McEntee (1981), se debería a la gran cantidad de agua presente en la composición seminal del perro (96%), en comparación al eyaculado de otras especies.

En cuanto al color, el 95% fue del tipo blanco brillante y un 3% color blanco lechoso; ambas tonalidades son las predominantes en el semen de la mayoría de las especies de mamíferos.

En el cuadro 3 se presenta el promedio de las características seminales cuantitativas según grupos de edad.

Al analizar el efecto de la edad del reproductor sobre las distintas variables del espermiograma rutinario, solamente se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en el número total de espermatozoides por eyaculado,

donde los animales de 4 años presentaron el promedio más bajo, lo que se debió en gran parte al hecho de existir en este grupo un individuo con características de azoospermia, pese a estar clínicamente sano.

A lo largo del estudio se observó una marcada variabilidad individual en las características del espermiograma convencional, confirmando lo reportado por investigadores en el extranjero en tal sentido para la especie canina como asimismo para otras especies domésticas (Larsen, 1980; Smith y Larsen, 1983).

Por ser este trabajo la primera investigación realizada en el país sobre las características seminales del macho canino, otorga una base importante para futuras investigaciones en esta área, como también valores de referencia para una mejor selección de reproductores Ovejero Alemán en Chile.

CUADRO 3
VALORES PROMEDIO Y DESVIACION TIPICA DE LAS CARACTERISTICAS SEMINALES CUANTITATIVAS SEGUN GRUPOS DE EDAD

Característica	E D A D (AÑOS)					Signif. Estadística
	1 n = 25	2 n = 25	3 n = 25	4 n = 25	5 n = 25	
Volumen (ml)	26,78 ± 13,37	27,65 ± 20,53	21,10 ± 8,09	14,60 ± 6,22	22,72 ± 15,70	N.S.
pH	7,13 ± 0,24	7,00 ± 0,20	7,04 ± 0,35	6,96 ± 0,40	7,08 ± 0,19	N.S.
Motilidad prog. (%)	63,89 ± 35,30	68,00 ± 25,67	72,75 ± 15,43	49,67 ± 37,10	66,94 ± 32,50	N.S.
Concentración (10 ⁶ esp./ml)	89,28 ± 66,23	121,15 ± 96,51	84,35 ± 80,97	44,40 ± 30,81	86,94 ± 57,30	N.S.
Nº Total de espermatozoides por eyaculado (10 ⁶ esp.)	1769,77 ± 683,70 b	1897,05 ± 1323,95 b	1120,70 ± 660,95 b	639,20 ± 660,15 a	2106,05 ± 1778,98 b	*
Anormalidades espermáticas (%)						
Cabeza y acrosoma	0,89 ± 0,68	1,40 ± 0,94	1,45 ± 1,0	1,33 ± 1,03	1,06 ± 1,06	N.S.
Cuello y Tracto Intermedio	1,17 ± 1,15	1,10 ± 1,10	1,00 ± 0,92	1,00 ± 0,93	1,17 ± 1,08	N.S.
Cola	5,06 ± 1,75	4,75 ± 1,14	8,80 ± 5,89	2,87 ± 1,23	2,50 ± 1,98	N.S.
Totales	7,12 ± 3,58	7,25 ± 3,18	11,25 ± 7,81	5,2 ± 3,19	4,73 ± 4,12	N.S.

* Letras distintas indican diferencias significativas entre edades ($P < 0,05$).

RESUMEN

Con la finalidad de estimar algunos parámetros seminales y sus variaciones de acuerdo a la edad del reproductor, se estudiaron 100 eyaculados de 25 ejemplares de raza Ovejero Alemán, cuyas edades fluctuaban de 1 a 5 años. Las muestras de semen se extrajeron mediante vagina artificial, una vez al mes durante el período otoño-invierno. Luego de la recolección cada eyaculado fue evaluado inmediatamente a través de métodos rutinarios. Se obtuvieron los siguientes promedios generales (\pm D.S.): volumen $22,91 \pm 14,47$ ml; pH $7,04 \pm 0,28$; motilidad $65 \pm 29,9\%$, concentración espermática $87,45 \pm 65,15 \times 10^6$ espermatozoides por ml; espermatozoides totales por eyaculado $1,53 \pm 1,02 \times 10^9$ y anomalías totales $7,70 \pm 3,70\%$. La mayoría de las muestras presentaron color blanco brillante (95%) de tipo acuoso (99%). Solamente la cantidad total de espermatozoides por eyaculado mostró diferencias significativas entre las distintas edades ($P < 0,05$).

REFERENCIAS

- ABREU, J.J.; J.H. BRUSHI, R.M. VIEIRA. Physical, morphological and biochemical aspects of the German shepherd dog semen. *In: 9º Congr. Int. Rep. Anim. e I.A.*, Madrid, 1980, pp. 302-305.
- AMANN, R.P. Reproductive physiology and endocrinology of the dog. *In: Morrow D. A. Current therapy in theriogenology*, Philadelphia, Saunders, 1986. pp. 532-538.
- BARTLETT, D.J. Studies on dog semen. Morphological characteristics. *J. Reprod. Fertil.* 3: 173-186, 1962.
- BARTLETT, D.J. Studies on dog semen. Biochemical characteristics. *J. Reprod. Fertil.* 3: 190-203, 1962.
- BOWN, V.A. Evaluación de las características seminales del caprino criollo a través de métodos convencionales y la prueba de penetración espermática en gel de poliacrilamida, en semen fresco y descongelado. Tesis. Santiago, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, 1986.
- BRUSHI, J.; M. CAMPOS MENDEZ, J. DE ABREU. Teores de ácido cítrico, frutose, proteína total e seu fracionamento eletroforético na semen da cao "Pastor alemão" normal. *Arq. Esc. Vet. U. Fed. Minas Gerais* 31: 13-17, 1979.
- CRABO, B.G. Factors affecting spermatogenesis and boar fertility. *In: Morrow, D.A. Current therapy in theriogenology* Philadelphia, Saunders, 1986 pp. 975-978.
- DE LOS REYES, M.I. Estudio comparativo de semen de potro obtenido en extracciones sucesivas y sometido a congelación. Tesis. Santiago, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, 1983.
- DIAZ, Q.H.; C. ARANCIBIA. Calificación de la fertilidad potencial de los animales domésticos. Santiago, Chile, 1971, pp. 71-8.
- FAHNING, D. Breeding soundness examination of the dog. *In: Kirk, R.W. Current Vet. Ther.* 4: 742-747, 1971.
- GORUS, F.; R. FINSY; D. PIPELEERS. Effects of temperature, nutrients, calcium and cAMP on motility of human spermatozoa. *Am. J. Physiol.* 242: 75-79, 1982.
- HANSEL, W.; K. McENTEE. Procesos reproductores masculinos. *In: Dukes, H. Swenson, M. Fisiología de los animales domésticos*. 4ª ed. México. Aguilar, 1981, pp. 1649-1696.
- HEYNE, E.C. Variaciones mensuales de algunas características del semen de potro. Tesis. Santiago, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, 1979.
- HEYWOOD, R.; R.J. SORTWELL. Semen evaluation in the Beagle dog. *J. Small Animal. Pract.* 12: 343-346, 1971.
- JAINUDEEN, M.R. Reproduction in the Water Buffalo. *In: Morrow D.A. Current therapy in theriogenology*. Philadelphia, Saunder 1986, pp. 443-446.
- JAMES, R.; R. HEYWOOD, S. A. STREET. Biochemical observations on Beagle dog semen. *Vet. Rec.* 104: 480-482, 1979.
- JOHNSON, D. Genetics counseling in small animal practice. *In: Morrow D. A. Current therapy in theriogenology*. Philadelphia, Saunder, 1980, pp. 575-578.
- JARPA, M.M. Características seminales en el conejo y su relación con la fertilidad real. Tesis. Santiago, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, 1983.
- LARSEN, R.E. Infertility in the male dog. *In: Morrow, D.A. Current therapy in theriogenology*, Philadelphia, Saunder, 1980, pp. 646-653.
- LARSSON, K. Evaluation of boar semen. *In: Morrow, D.A. Current therapy in theriogenology*, Philadelphia, Saunder, 1986, pp. 972-974.
- MACDONALD, L.E. Tipos de reproducción en perros. *In: MacDonald, L.E. Reproducción y endocrinología veterinaria*. 2ª ed. México, 1981, pp. 387-397.
- RODRIGUEZ, H.H. Maduración espermática y nuevos parámetros de evaluación seminal en el potro. Tesis. Santiago, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, 1986.
- RUBIO, M.A. Maduración espermática y evaluación de la capacidad fertilizante del espermatozoide de macho cabrío criollo. Tesis. Santiago, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile, 1986.
- SEAGER, S.W.; C.C. PLATZ. Collection and evaluation of canine semen. *Small Vet. Clin. North Am.* 7: 765-773, 1977.
- SETCHELL, B.P. Male reproductive organs and semen. *In: Cole, H.H. y Cupps, P.T. Reproduction in domestic animals*. 3 rd. ed. New York, Academic Press, 1977, pp. 230-254.
- SMITH, F.D.; R.E. LARSEN. The infertile stud dog. *In: Kirk R.W. Current Vet. Ther.* 8: 962-964, 1983.
- SOKAL, R.R.; J.F. ROHLF. Biometry. San Francisco, Freeman, 1969, pp. 385-387.
- STABENFELDT, G.H.; V.M. SHILLE. Reproduction in the dog and cat. *In: Cole, H.H. y Cupps, P.T. Reproduction in domestic mammals*. 3a. ed. New York, Academic Press, 1977, pp. 499-524.
- TAHA, M.; D. NOAKES, E. ALLEN. The effect of season of the year on the characteristics and composition of dog semen. *J. Small Anim. Pract.* 22: 177-184, 1981.
- TAHA, M.; D. NOAKES, E. ALLEN. The effect of the frequency of ejaculation on seminal characteristics and libido in the Beagle dog. *J. Small Anim. Pract.* 24: 309-315, 1983.

Recibido en marzo de 1988, aprobado en junio de 1988.