

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**ARTHUR PEIXOTO MEDEIROS**

**PERFIL SEMINAL DE CÃES DA RAÇA *AUSTRALIAN CATTLE DOG***

**UBERLÂNDIA-MG**

**2018**

ARTHUR PEIXOTO MEDEIROS

**PERFIL SEMINAL DE CÃES DA RAÇA *AUSTRALIAN CATTLE DOG***

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de Médico Veterinário, no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

**Orientador:** Profa. Dra. Teresinha Inês Assumpção

UBERLÂNDIA-MG

2018

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me conduzido até aqui, me dando força e sabedoria para superar os obstáculos impostos por este trabalho. Houveram momentos que sentia minhas forças acabarem, entretanto minha vontade e paixão pelo projeto sobressaíram.

Aos meus pais, por me apoiarem e me ampararem nesta caminhada, não somente na realização deste estudo, mas também por me permitirem criar animais dessa raça tão fantástica que é o *Australian Cattle Dog*. Em especial a minha mãe que esteve junto comigo, fazendo meus cafés nas madrugadas para que eu pudesse me manter acordado e focado na realização das pesquisas.

Ao meu irmão Vithor, meu fiel escudeiro e também amante da raça que me apoiou em todos as fases do projeto, desde a coleta do sêmen até a elaboração do Abstract, por exemplo (risos).

Em especial aos meus “dogs” Baronesa Beatriz, Guerreira Garibalda, Freud Frederico e Charlotte Cristina que sem sombra de dúvidas foram motivo da paixão descoberta por esta magnífica raça e inspiração, e por serem minha válvula de escape para o stress, sempre com aqueles deliciosos “lambeijos” e carinhos.

Agradeço também aos meus companheiros de conduta que de forma direta e indireta contribuíram para a concretização deste projeto, entre eles: Matheus, Iago, Yago, Amanda, Gustavo, Lucas, Rodrigo, Cleiton, Clodoaldo, Fausto, Polliana, Eduardo, Andrey, Elbson, Elso, Jefferson e tantos outros.

Aos criadores e proprietários fica aqui o meu muito obrigado por viabilizarem a realização deste estudo, confiando a mim seus animais, em especial ao amigo e criador Vantuídes Faria, um grande companheiro que por sinal me presenteou com o primeiro exemplar da raça (Guerreira Garibalda).

À equipe do Laboratório de Reprodução Animal UFU, em especial ao professor Gustavo e a técnica de laboratório Graciele por viabilizarem a coleta e análise do material para o estudo.

À minha admirável orientadora Professora Dra Terezinha Inês Assumpção que mesmo com tantos compromissos acadêmicos não mediu esforços para me orientar, aconselhar, redirecionar neste projeto. A você Dra Terezinha meus sinceros agradecimentos, você sempre será minha melhor referência profissional, “quando eu crescer, se eu crescer, quero ser igual a você”.

## RESUMO

O *Australian Cattle Dog* (ACD) deve ser um cão forte, resistente e ágil suficiente para desempenhar o seu papel de pastoreio, e objetivo deste estudo foi avaliar o perfil seminal da raça canina *Australian Cattle Dog* e suas possíveis especificidades, para contribuir com a avaliação de sua fertilidade e com o melhoramento genético da raça, agregando assim, por exemplo, valor econômico nos animais avaliados. Foram utilizados 12 cães com idade de 1,6 a 6 anos e a coleta do sêmen foi feita pela técnica de estimulação manual. As análises físicas e morfológicas do sêmen foram realizadas pelas técnicas de rotina preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. A média de idade foi de  $37,85 \pm 5,79$  meses, peso médio de  $23,08 \pm 0,78$  kilos, motilidade espermática média de  $82,81 \pm 4,40\%$ , média de vigor  $3,09 \pm 0,34$ , e concentração espermática de  $499,31 \pm 208,93$  milhões de espermatozoides/ml de média e defeitos totais com média de  $25,41 \pm 4,34\%$ . As análises de correlações de Pearson mostraram correlações altas entre peso x idade ( $r = 0,66$ ), motilidade x vigor ( $r = 0,86$ ), defeitos menores x idade ( $r = 0,58$ ) e defeitos menores x defeitos totais dos espermatozoides ( $r = 0,80$ ). Os cães da raça *Australian Cattle Dog* deste estudo demonstraram um bom potencial de produção e qualidade de seus espermatozoides.

**PALAVRAS-CHAVES:** reprodução, canídeos, andrologia.

## **ABSTRACT**

The Australian Cattle Dog (ACD) should be a strong, sturdy and agile dog to play its shepherding role, and the aim of this study was to evaluate the seminal profile of the canine breed Australian Cattle Dog and their possible specificities in order to contribute to the breed's fertility evaluation and genetic improvement, thus adding, for example, economic value in the evaluated animals. There were used a total of 12 male dogs with age ranging from 1,6 to 6 years old and their semen was collected via manual stimulation. Physical and morphological analyzes were performed through routine techniques recommended by the Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. The average age was  $37,85 \pm 5,79$  months, average weight was  $23,08 \pm 0,78$  kilograms, average sperm motility was  $82,81 \pm 4,4$  %, average vigor  $3,09 \pm 0,34$ , average concentration was  $499,31 \pm 208,93$  million of spermatozoa/ml and average total defects was  $25,41 \pm 4,34$ %. Pearson correlation analysis has shown high correlations between weight vs age ( $r = 0,66$ ), motility vs vigor ( $r = 0,86$ ), minor defects vs age ( $r = 0,58$ ) and minor defects vs total spermatozoa defects ( $r = 0,8$ ). Dogs from the Australian Cattle Dog breed demonstrated a good potential in terms of spermatozoa production and quality.

**KEYS-WORDS:** reproduction, canids, andrology.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	7
2.1 A domesticação dos cães .....	7
2.2 Australian Cattle Dog .....	7
2.3 Métodos de coleta de sêmen em Cães .....	9
2.4 Exame Andrológico.....	11
2.5 Espermiograma .....	11
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
3.1 Animais .....	14
3.2 Coleta, preparação e análise das amostras .....	14
3.3 Análise estatística .....	15
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	15
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	21
REFERÊNCIAS .....	21

## 1 INTRODUÇÃO

Os cães estão presentes na vida da maioria das pessoas e desempenham papel importante na sociedade. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015) cerca de 44,3% das residências brasileiras possuem ao menos um cão e estimaram em 52,2 milhões animais, mostrando assim a importância destes animais de companhia nas famílias modernas. O setor de pets tem mostrado aumento expressivo a cada ano e totalizou 18,9 bilhões de reais em 2016 (ABINPET, 2017) mostrando que este setor é um negócio extremamente lucrativo.

Os cães são usados para inúmeras atividades, seja companhia, como cães-guias, na segurança e também para o trabalho no campo. Existem raças especializadas para a condução de gado conhecidos como cães pastores e os que desempenham papel de proteção de rebanhos chamados de cães de gado (CRUZ, 2007). As principais raças presentes no Brasil que desempenham o papel de pastorear, conduzir ou cercar o gado são os Border Collie, Pastor da Mantiqueira, Ovelheiro Gaúcho e o *Australian Cattle Dog*.

O *Australian Cattle Dog* (ACD), também conhecido como Boiadeiro Australiano, Blue Heeler e Red Heeler (devido às variações de pelagem azulada e avermelhada) tem sua origem na Austrália e é produto de vários cruzamentos, tendo como as principais raças base: Welsh Heelers, Kelpie Australiano, Collie, Dálmatas e o Dingo. De acordo com Kennel Club do Triângulo (2018), atualmente só no Triângulo Mineiro há três canis especializados na criação do Boiadeiro Australiano, com ênfase na avaliação em pista dos animais, analisando biotipo, temperamento e movimentação, deixando um pouco de lado o critério de trabalho de pastoreio em si, quesito mais significativamente avaliado no passado para julgamento dos exemplares da raça.

A reprodução dos animais é outra questão que os criadores devem atentar no melhoramento genético da raça, visando melhoraria dos índices reprodutivos de seu plantel, aumento da fertilidade e número de filhotes vivos por ninhada, aumento na rentabilidade e lucratividade da atividade, onde a raça está em fase de valorização comercial e aumento no número de vendas, e no controle de doenças indesejáveis como a brucelose canina que causa aborto no terço final da gestação. Em cães machos a brucelose provoca alterações espermáticas severas como: acrossomas deformados, cauda fortemente enrolada, defeitos de peça intermediária e cabeças isoladas (LAGE et al., 2005).

Na seleção de cães para a reprodução é indicado o exame andrológico a fim de selecionar reprodutores de alta qualidade, avaliar a capacidade de reproduzir antes da cópula, armazenar material genético, diagnóstico de infertilidades e suas causas, e também quando se tem a intenção de utilizar a biotecnologia de inseminação artificial. O exame andrológico inicia com a identificação do animal e de seu proprietário, após isto se realiza a anamnese do cão, em seguida o exame físico geral, posteriormente o exame físico reprodutivo específico e a coleta e análise do sêmen, além também da avaliação de libido do mesmo (CBRA, 2013).

Devido às poucas informações na literatura acerca de exames andrológicos específicos da raça canina *Australian Cattle Dog* e de seus parâmetros físicos e morfológicos do sêmen, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil seminal dos animais e as possíveis especificidades da raça, contribuindo na avaliação de sua fertilidade, e no melhoramento genético da raça, produzindo cães cada vez mais eficientes, saudáveis e aptos a pastoreiar rebanhos em propriedades rurais, e de forma indireta acarretará no aumento do valor econômico de exemplares da raça.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A domesticação dos cães**

Os primeiros registros da domesticação de cães foram relatados na região que hoje representa os países Iraque, Jordânia, Líbano e Síria (SILVA, 2011). Segundo Velden (2009), os indígenas sul-americanos tiveram extrema dificuldade em domesticar os canídeos sul-americanos, cujo o gênero é *Duscysion*, distribuídos em onze diferentes espécies, devido principalmente seus comportamentos de roubar alimento e de vagar pelas florestas, fazendo assim com que os índios optassem pelos animais do gênero *Canis*, provenientes da Europa.

Está cientificamente comprovado que o cão doméstico (*Canis familiares*) tem como seu ancestral o lobo cinzento holártico (*Canis lupus*). Esta descoberta foi possível a partir de 1950, através de estudos de vocalização, comportamento e morfologia de cães. Antes acreditava-se que devido à grande variedade de raças caninas, as origens das mesmas eram distintas, seja de lobos, chagal ou de cruzamento entre espécies caníneas silvestres. Através de pesquisas arqueológicas e genéticas, estima-se que os cães domésticos diferenciaram de seus ascendentes lobos cinzas a aproximadamente 145.000 anos atrás e foram domesticados pelo homem por volta de 10.000 a 15.000 anos (ZAINE, 2015).

## 2.2 Australian Cattle Dog

A necessidade de ajuda no pastoreio de gado nas extensas áreas rurais da Austrália fez com que os colonos buscassem desenvolver um animal capacitado para a lida no campo, tolerante as altas temperaturas locais e também resistentes a prolongados períodos de trabalho exaustivo. Tudo iniciou por volta de 1800, onde fazendeiros utilizavam cães denominados de "Smithfields" para cercar e conduzir o gado selvagem, entretanto, esses cães tinham traços que desagradavam os proprietários, latiam de forma excessiva, o que prejudicava na condução dos bovinos e não eram tolerantes ao extremo calor das extensas áreas. A partir de 1830, inúmeros acasalamentos experimentais foram sendo realizados com o intuito de criar o cão ideal para pastoreio. Um cruzamento com um Dingo (cão nativo da Austrália) resultou em um animal mais quieto, rápido e melhor do que os Smithfields, porém herdaram o comportamento do Dingo de morder e mastigar severamente o gado quando não estavam sob supervisão do tropeiro, o que prejudicava a comercialização destes animais atacados. Outros muitos cruzamentos foram sendo realizados, misturando Bull Terriers, Welsh Herders, cães Cangurus, poodles russos, mas nada que atendessem de forma satisfatória a qualidade de pastorear adequadamente o gado (SCHWARTZ, 2004).

Mesmo com o insucesso nos acasalamentos anteriormente citados, os fazendeiros não desistiram do ideal de produzir um cão especialista na condução de rebanhos bovino. No ano de 1840, Thomas Hall realizou experimentalmente o cruzamento de um cão Welsh Heeler com Dingo, denominados Hall's Heelers, cães rápidos e quietos no trabalho que somente beliscavam os calcanhares dos bovinos. Estes animais adquiriram o desejável comportamento do Dingo de aproximar e beliscar o calcanhar do animal e logo em seguida projetar seu corpo no chão, a fim de evitar os coices do animal conduzido. O cruzamento parecia o ideal, pois originava animais tolerantes ao clima quente das terras australianas, capazes de conduzir o rebanho a longas distâncias, a qualquer hora e a qualquer lugar. Posteriormente os irmãos Bagust adquiriram filhotes Hall's Heelers e introduziram mais duas raças. Primeiro acasalaram uma cadela Blue Merle com Dálmata, com intuito de aperfeiçoar a capacidade de trabalho com cavalos e fortalecer o aspecto de devoção ao dono, com isto substituíram a pelagem merle azul para o azul esmaltado nos filhotes (uma das duas cores padronizadas no Boiadeiro Australiano). Em seguida introduziram sangue Kelpie Australiano objetivando reforçar as características de excelente pastoreio e inteligência, além da facilidade em ser controlados, produzindo um cão semelhante ao Dingo nas cores vermelho ou azul esmaltado (SCHWARTZ, 2004).

No ano de 1893, Robert Kaleski iniciou a criação e reprodução de cães *Australian Cattle Dog*, apresentou a raça em exposições de cães em 1897 e escreveu o padrão para a raça em 1902, submetendo o mesmo para o "Cattle and Sheep Dog Club of Australian" e "Kennel Club of South Wales" com aprovação no ano seguinte (SCHWARTZ, 2004).

Segundo a Confederação Brasileira de Cinofilia (CBKC, 2018), o *Australian Cattle Dog* deve ser um cão compacto, resistente, forte e apto a realizar as atividades de sua responsabilidade. O animal deve ser extremamente ágil, forte e resistente e para isso deve demonstrar condicionamento de musculatura rígida, potência, porém equilibrado, nunca tendendo a rusticidade ou a fragilidade. O boiadeiro australiano deve ser ligeiramente mais comprido do que alto em suas medidas, os machos devem ter de 46 a 51 cm de altura de cernelha e as fêmeas de 43 a 48 cm. Os cães devem apresentar os dois testículos descidos e alojados adequadamente na bolsa escrotal e de tamanho normal. Animais clinicamente doentes, afuncionais e inaptos a realização de pastoreio deveriam ser vetados a reprodução.

## **2.3 Métodos de coleta de sêmen em Cães**

### **2.3.1 Manipulação Digital ou Manipulação Peniana**

A Manipulação Digital é o método de eleição quando se objetiva a obtenção de amostra de sêmen em cães. Antes de iniciar a estimulação, alguns fatores devem ser analisados para uma completa ereção e também ejaculação de sêmen de qualidade. A presença de cadela em estro, por exemplo, contribui na excitação do macho, porém não é fator indispensável para obtenção de amostra de sêmen. Dor e medo impedem a ereção total e consequente ejaculação (KUTZLER, 2005).

Segundo KUTZLER (2005), o primeiro passo é massagear vigorosamente o pênis do animal através do prepúcio, a partir do momento que observa a ereção parcial do pênis, retrai-se o prepúcio caudalmente ao bulbo cavernoso e realizasse pressão moderada sobre o pênis nesta região, com auxílio dos dedos indicador e polegar, cessando os movimentos iniciais essenciais para ingurgitação, pois isso é desnecessário e pode interromper a ereção. Ocorrendo a ereção completa, os cães tendem a ter o comportamento de elevar uma de suas pernas sobre a braço do coletor, o que é permitido desde que rotacione o pênis caudalmente em 180°. O manipulador deve manter a pressão sobre o pênis durante todo esse processo até a completa ejaculação do animal. Este comportamento não provoca incômodo no animal e só é possível graças a

capacidade elástica do pênis entre sua porção final e início do bulbo cavernoso, o que evita a detumescência peniana, que não permitiria a ejaculação. Animais que no início do processo ingurgitam excessivamente o bulbo e não permitem a passagem do prepúcio pelo mesmo, se faz necessário interromper a estimulação e aguardar por alguns minutos para que haja a involução da ereção parcial, deixando o animal relaxar e retornar a massagem estimulante posteriormente.

Cardoso et al. (2016) afirmam que pode ainda mimetizar a presença de uma cadela em estro com o macho, através de congelamento de swabs com secreção de fêmeas no cio, ou com ferormônio sintético metil-p-benzoato, que são esfregados na região perianal de qualquer fêmea quando realiza-se a coleta no macho ou somente aproxima-se os mesmos na narina do cão, excitando o mesmo.

### **2.3.2 Eletroejaculação**

A eletroejaculação baseia na promoção de estímulos elétricos de baixa intensidade sob as terminações nervosas responsáveis pelo trato reprodutivo do macho. O cão deve estar em jejum de 12 a 24 horas, anestesiado com, por exemplo, quetamina até atingir o plano I do estágio 3 anestésico preferencialmente, por proporcionar ainda ao animal capacidade de respirar de forma regular e automática. Com auxílio de lubrificante introduz a sonda no reto do animal projetando a mesma na região ventral para que entre em contato o mais próximo da próstata do cão, feito isso se iniciam as ondas elétricas que variam sua frequência conforme o animal até que colete o ejaculado com tubo graduado próximo a glândula do pênis (CAZES, 2006). Esta técnica é menos utilizada e pode acarretar em contaminação por urina devido a ejaculação retrógrada (SIQUEIRA et al., 2016).

### **2.3.3 Coleta de espermatozoides epididimários**

A obtenção de espermatozoides diretamente da cauda do epidídimo e ducto deferente consiste em uma técnica importante para reserva genética de animais que vieram a óbito ou portadores de afecções com impotência *coeundi*, já que os espermatozoides epididimários são viáveis e possuem capacidade fecundante (MOTA FILHO; SILVA, 2012). Antes de realizar a coleta de células espermáticas oriundas do epidídimo do cão é necessária muita atenção no transporte e conservação deste órgão para o sucesso na captação de espermatozoides viáveis à reprodução ou para estudos de suas características estruturais. Amostras de epidídimos conservados sob

temperatura refrigerada (4°C) por 6, 12 e 24 horas não apresentaram diferenças quanto a morfologia e viabilidade espermática, entretanto, as amostras submetidas a temperatura ambiente tiveram queda progressiva em sua motilidade (NICHII et al., 2013).

Devido ao tamanho do epidídimo do cão, quatro técnicas foram desenvolvidas para coleta de espermatozoides deste órgão, sendo elas: flutuação, lavagem, fatiamento e aspiração. A técnica de lavagem consiste na adição de solução salina no epidídimo, através do ducto deferente, tendo este líquido colhido na extremidade oposta, proporcionando maior captação de células espermáticas (OLIVEIRA, 2017), porém a dificuldade é a reduzida espessura do órgão. Já a aspiração, a coleta dos espermatozoides é feita diretamente na cauda do epidídimo com o auxílio de uma agulha acoplada a uma seringa (NICHII et al., 2013), todavia não é possível em animais de pequeno porte pelo reduzido tamanho da cauda do epidídimo.

Na técnica de Fatiamento realiza cortes na cauda do epidídimo, pressiona este tecido para expulsão dos espermatozoides, que serão coletados com auxílio de pipeta automática posteriormente. Na Flutuação, a cauda do epidídimo é fatiada, imergida em solução gelatinosa e após deslocamento dos espermatozoides para esse meio, realiza-se a filtração dos espermatozoides (NICHII et al., 2013). Tanto na flutuação quanto no fatiamento é necessário a dissecação dos vasos sanguíneos adjacentes ao epidídimo para que não haja contaminação das amostras com sangue (NICHII et al., 2013).

## **2.4 Exame Andrológico**

O exame andrológico tem como intuito avaliar a capacidade reprodutiva de determinado macho destinado a reprodução. Este exame deve ser feito de forma criteriosa, analisando desde o estado de saúde geral do animal, os órgãos reprodutivos do mesmo, a genética (evitando doenças hereditárias, por exemplo), além é claro da realização de teste de libido e de capacidade de copular e a análise do sêmen. Esta ferramenta proporciona inúmeras avaliações, sendo algumas delas: indicar início da puberdade, avaliação do sêmen para congelamento, capacidade de fertilizar, seleção e venda de reprodutores, etc. (MORANI; RODRIGUES; RONCOLETTA, 2018).

## **2.5 Espermiograma**

A análise do sêmen é utilizada com intuito de diagnosticar possíveis alterações estruturais e/ou funcionais dos espermatozoides, avaliando motilidade, concentração e morfologia espermática entre outras (SANTOS, 2007). Macroscopicamente avalia-se odor, cor, pH, aspecto e volume, enquanto que na microscopia analisa motilidade, vigor e concentração e a morfologia dos espermatozoides.

### **2.5.1 Volume**

O ejaculado canino é dividido em três porções em sequência: a primeira basicamente de líquido prostático com volume variando de 0,5 a 5 ml; a segunda de origem testicular rica em espermatozoides com volume de 1,0 a 4,0 ml; a terceira composta por secreção prostática, capaz de representar volume de até 20 ml (SOUZA, 2017). O volume varia entre indivíduos em função de raça, porte, frequência de coleta e idade.

### **2.5.2 Aspecto e Odor**

O aspecto viscoso do sêmen canino é devido à concentração espermática e o seu odor é de caráter *sui generis* (SIQUEIRA et al., 2016), sendo que o cheiro característico é em função da proteína espermina.

### **2.5.3 Cor**

A segunda porção do sêmen, rica em espermatozoides, possui sua cor branco opalescente. Os casos mais comuns de coloração alterada são: sêmen com aspecto claro indicando baixa ou ausência de espermatozoides (azoospermia); sêmen com coloração avermelhada mostrando a presença de sangue e representando lesão de pênis ou doença prostática; sêmen amarronzado característico de doença prostática; sêmen de cor amarela por contaminação urinária e sêmen esverdeado por alteração infecciosa (SIQUEIRA et al., 2016).

### **2.5.4 Motilidade e vigor espermático**

A Motilidade espermática representa o percentual de espermatozoides em movimentação no meio. Ainda que não comprovada totalmente a relação entre motilidade e capacidade fecundante, a maioria dos pesquisadores utilizam da motilidade como fator indispensável na avaliação do sêmen (SANTOS, 2012). Visando a qualidade seminal, a motilidade de uma

amostra canina deve ser superior a 70% *in natura*, imediatamente após a coleta, sob temperatura de 37°C (ACIPRESTE, 2006).

Há dois métodos de avaliação de motilidade espermática, que são por microscopia óptica que tem como desvantagem a ocorrência de subjetividade nas análises e pelo método de análise computadorizada (CASA) criada para corrigir justamente a subjetividade na avaliação microscópica e padronização na avaliação das amostras seminais, porém para Silva (2005), ambas as formas de avaliação apresentam resultados semelhantes.

Em conjunto com a motilidade avalia-se o vigor espermático. O vigor consiste em analisar a intensidade de movimentação dos espermatozoides e usa-se como referência a escala de 1-5 (tabela 1), preconizando o mínimo aceitável de vigor 3 para espermatozoides caninos (CBRA, 2013).

Tabela 1- Escala de Vigor de sêmen canino.

<b>ESCORE</b>	<b>DEFINIÇÃO</b>
<b>1</b>	Exclusivamente oscilatório
<b>2</b>	Lento
<b>3</b>	Intermediário
<b>4</b>	Progressivo retilíneo rápido
<b>5</b>	Progressivo retilíneo muito rápido

Fonte: CBRA (2013).

### 2.5.5 Morfologia espermática

Avaliar e mensurar morfológicamente os espermatozoides normais e anormais de uma amostra é outro parâmetro indispensável para averiguar a fertilidade de cães. Silva (2012), observou que animais com no mínimo 60% de células espermáticas normais apresentaram mais de 60% de fertilidade, enquanto que cães com mais de 40% de células anormais obtiveram média de fertilidade de 13%, demonstrando alta correlação entre a morfologia dos espermatozoides e fertilidade dos cães.

Um dos métodos utilizados para avaliar morfologia espermática é a coloração de lâminas de sêmen com eosina-nigrosina, examinadas no microscópio óptico no aumento de 1000x, analisando no mínimo 200 células e classificando as mesmas em normais ou anormais (defeitos

primários ou secundários), cujo o mínimo aceitável é 70% de espermatozoides normais (CBRA, 2013).

A morfologia dos espermatozoides pode ser classificada em alterações morfológicas espermáticas primárias aquelas com/ alteração na produção testicular, secundárias as anormalidades celulares que aparecem durante a maturação no epidídimo e as de caráter iatrogênico (manipulação do sêmen) (RODRIGUES, 2009). Também podem ser classificadas em defeitos maiores ou menores, estabelecidos por Bloom em 1972. Dentre os defeitos maiores estão: cabeça subdesenvolvida, cabeça isolada anormal, cabeça de contorno anormal, cabeça estreita na base, cabeça piriforme, cabeça pequena anormal, cabeça com *pouch formation*, gota proximal na peça intermediária, outros defeitos de peça intermediária (fibrilação, edema, pseudogota, entre outros), peça intermediária rudimentar, cauda fortemente dobrada e por último as formas teratológicas. Já os defeitos menores mais comuns são cabeça delgada, cabeça gigante, cabeça curta larga e pequena normal, cabeça isolada normal, defeitos de implantação, cauda dobrada, gota distal, cauda enrolada na porção terminal (GALINKIN, 2014).

### **2.5.6 Concentração**

O ideal para avaliar a concentração de sêmen é coletando somente a segunda fração, rica em espermatozoides, evitando assim maior diluição quando coletado em conjunto com as frações de líquido prostático. A unidade padrão para mensurar a concentração espermática é o número de espermatozoides presentes por milímetro de sêmen. No cão a concentração de sêmen normalmente encontrada é em torno de  $247 \pm 9,9 \cdot 10^6$  espermatozoides/ml (SIQUEIRA et al., 2016). Esta avaliação pode ser feita por meio de espectrofotometria ou por microscopia óptica utilizando a câmara de Neubauer (CBRA, 2013).

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Animais**

Foram utilizados 12 cães da raça *Australian Cattle Dog*, com idade variada de 1,6 a 6 anos, provenientes das cidades de Uberlândia-MG, Araguari-MG, Ipameri-GO e da zona rural de Campo Alegre de Goiás-GO. Os animais eram alojados das mais diversas formas, desde baias, quintais e propriedades rurais, com alimentação variada, sendo fornecido ração *Super-premium*

à alimentação natural exclusiva de arroz, por exemplo, dependendo do local de habitação, com água *ad libitum*.

## **3.2 Coleta, preparação e análise das amostras**

### **3.2.1 Coleta do ejaculado**

Antes da coleta era realizada a identificação, anamnese, seguido de exame físico geral e posterior avaliação dos órgãos reprodutores dos animais. A coleta do sêmen foi feita por meio da técnica de estimulação manual. Após a limpeza do prepúcio com gaze foi coletado o ejaculado do animal, desprezando somente a primeira fração constituída basicamente por líquido prostático. Utilizando luvas de procedimento, foi abordado o animal pela lateral na altura do flanco, com massagem do prepúcio do cão na altura do bulbo peniano até que o animal atingisse a ereção, retraindo ou não o prepúcio caudalmente ao bulbo. Em seguida foi feita uma compressão do bulbo com moderada pressão e de maneira pulsátil. O ejaculado foi coletado com o auxílio de frasco aquecido (tipo Becker) de 50 ml, evitando o contato direto entre o pênis e o material de coleta.

Todo o material utilizado foi aquecido a 37<sup>0</sup>C utilizando placa aquecedora. Em seguida à coleta, duas alíquotas do sêmen foram preparadas em solução de formol salina tamponada na proporção de 1:50 para avaliação de concentração e morfologia espermática (CBRA, 2013).

### **3.2.2 Análises físicas e morfológicas do sêmen**

As análises das amostras seminais, tanto físicas quanto morfológicas, seguiram as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) e ocorreram parte no local de coleta e parte no laboratório de reprodução animal da Universidade Federal de Uberlândia. Logo após a coleta, para estimar a motilidade e vigor espermático, uma gota de sêmen foi colocada sobre a lâmina de vidro e recoberta por lamínula, previamente aquecidas e avaliadas por microscopia óptica no aumento de 40x. Quanto a motilidade progressiva, o parâmetro empregado foi de avaliação de 0-100% de espermatozoides móveis, enquanto para vigor optou pela classificação de 1-5.

No laboratório foi avaliada a concentração de espermatozoides/ml de sêmen com o auxílio da câmara de Neubauer, onde foram contados os dois sítios da câmara, efetuado a média e posterior cálculo final (GALINKIN, 2014). Para avaliação de alterações morfológicas foi utilizado o método de lâmina corada, que consiste na realização de esfregaço delgado com uma gota de

sêmen mais uma gota de corante rosa bengala, avaliado no aumento de 1000x sob imersão no microscópio óptico, contando 200 células e classificando cada tipo de patologia (CBRA, 2013).

### 3.3 Análise estatística

Foram calculadas as médias de todas as variáveis analisadas que foram expressas em média e erro padrão da média (média  $\pm$  EPM). As variáveis quantitativas (idade, peso, vigor, concentração, patologia espermática) foram correlacionadas pelo método de Pearson. Os dados obtidos foram processados pelos pacotes estatísticos SAS (2000). Foi considerada como diferença significativa entre as variáveis testadas o  $P < 0,05$  e tendência  $P < 0,10$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As idades dos cães pertencentes a raça *Australian Cattle Dog* variaram de 1,6 a 6 anos. A tabela 2 mostra os resultados das médias obtidas de motilidade, vigor, concentração, idade do animal e alterações morfológicas totais dos espermatozoides.

Tabela 2- Análises físicas e morfológicas de sêmen dos cães da raça *Australian Cattle Dog* de acordo com a idade e peso do animal.

Parâmetro	Média $\pm$ EP
Idade (meses)	37,85 $\pm$ 5,79
Peso (kilos)	23,08 $\pm$ 0,78
Motilidade (%)	82,81 $\pm$ 4,40
Vigor (1-5)	3,09 $\pm$ 0,34
Concentração (milhões)	499,31 $\pm$ 208,93
Defeitos totais (%)	25,41 $\pm$ 4,34

Os resultados de motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática obtidos no espermiograma de cães da raça *Australian Cattle Dog* foram dentro do preconizado pelo CBRA (2013).

A motilidade progressiva dos espermatozoides teve média final de 82,81  $\pm$  4,40%, enquanto o vigor atingiu a média de 3,09  $\pm$  0,34. A porcentagem média de motilidade progressiva dos cães *Australian Cattle Dog* foi superior aos 70% mínimos estipulados pelo CBRA (2013), sendo neste quesito aprovados à reprodução. De acordo com Luppi (2006), cães da raça Golden

Retriever sadios apresentaram 91,1% de motilidade, demonstrando que estes animais obtiveram motilidade espermática média maior do que os cães da raça ACD desta pesquisa ( $82,81 \pm 4,40\%$ ). Já Lima, Santana e Fernandes (2017) encontraram em cão da raça shihtzu com testículos normais uma média de 84,5% de motilidade progressiva em 4 (quatro) coletas, valor muito próximo do que a média dos cães do presente estudo. Resultado semelhante ao desta pesquisa também foi obtido por Galinkin (2014) em 57 cães de 18 diferentes raças obtendo média de motilidade espermática de 80%.

No que diz respeito a vigor, o valor médio final encontrado nesse grupo de cães Boiadeiro Australiano foi de  $3,09 \pm 0,34$ , sendo igual ao mínimo recomendado pelo CBRA (2013) que é de 3,0. Segundo Chacur et al. (2017), o vigor médio encontrado em amostras de sêmen fresco de cinco cães da raça Bulldog Francês foi de  $4 \pm 0,6$ , valor semelhante ao relatado por Pignataro (2015), onde em 12 cães sendo 6 deles cães da raça Pastor Alemão a média final e desvio padrão foi de  $4 \pm 0,5$ , concluindo que em ambas pesquisas os resultados foram superiores aos valores encontrados para cães ACD analisados neste estudo. Martins (2005) verificou um vigor médio em cães nas raças em conjunto Golden Retriever, Blood Hound, Springer Spaniel de  $4,09 \pm 0,52$  a  $4,21 \pm 0,35$  demonstrando superioridade em relação ao vigor médio dos cães da raça *Australian Cattle Dog* ( $3,09 \pm 0,34$ ) coletados neste estudo, provavelmente essa inferioridade pode ser decorrente de nutrição inadequada ou fator genético, por exemplo.

A concentração neste estudo variou de  $0,25 \times 10^6$  a  $2160,9 \times 10^6$  espermatozoides/ml, com média de  $499,31 \pm 208,93$  espermatozoides/ml, resultado este que está de acordo com Santana (2012) que relata que a concentração mínima deve ser em torno de 200 milhões de células espermáticas/ml nos cães.

Nesta pesquisa observamos uma grande variação da concentração do sêmen nos animais, o que era esperado pois foi realizada a coleta apenas de uma amostra do sêmen e não do total de sêmen produzido pelo animal, além de observarmos algumas amostras muito diluídas e outras com volume muito baixo. Vale ressaltar que não foi coletado ejaculado previamente ao exame andrológico, que pode ser indicado visando maior precisão na avaliação de concentração espermática do indivíduo. Para CBRA (CBRA, 2013) é desejável de 20 a 300 milhões de espermatozoides/ml de concentração espermática, valores estes inferiores à média dos cães *Australian Cattle Dog* deste estudo, onde encontramos média de  $499,31 \pm 208,93$  espermatozoides/ml, demonstrando o potencial de produção de espermatozoides destes animais, já Madeira (2007) verificou uma média de concentração espermática de  $1473,00 \pm$

735,80 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/ml em cães das raças Boxer, Rottweiler, Labrador, Cane Corso, Bullmastif, American Pit Bull Terrier, Whippet, sendo este valor dentro do intervalo de concentração dos cães ACD desta pesquisa. Dados semelhantes também foram obtidos por Rincon (2015), onde em 18 cães da raça Pastor Belga Mallinois verificou a concentração espermática média de 662,11 ± 399,29 milhões de espermatozoides/ml.

A tabela 3 mostra as médias obtidas das diversas patologias espermáticas observadas nos animais. Já a figura 1 mostra o total de defeitos maiores, menores e totais do sêmen dos animais.

Tabela 3. Média e Erro Padrão da Média das alterações morfológicas no sêmen dos animais dos cães *Australian Cattle Dog*.

<b>Tipo de Defeito</b>	<b>Média ±EPM%</b>
Acrossoma	0,09 ± 0,09
Gota citoplasmática proximal	0,37 ± 0,15
Subdesenvolvido	0,04 ± 0,04
Cabeça isolada patológica	0 ± 0
Cabeça estreita na base	0,12 ± 0,06
Cabeça piriforme	0,04 ± 0,04
Cabeça pequena anormal	0,16 ± 0,09
Cabeça com contorno anormal	0,25 ± 0,20
Cabeça com “pouch formation”	0 ± 0
Formas teratológicas	0,08 ± 0,05
P.I. “sacarrolha”(corkscrew)	0 ± 0
Pseudogota	0 ± 0
Outros defeitos de P.I.	0,16 ± 0,09
Cauda fort. dobrada/enrolada	3,87 ± 0,92
<b>Total defeitos Maiores</b>	<b>5,54 ± 0,95</b>
Acrossoma desprendido	0,33 ± 0,33
Gota citoplasmática distal	3,54 ± 2,34
Cabeça delgada	0,20 ± 0,20
Cabeça gigante	0,08 ± 0,05
Cabeça pequena normal	0 ± 0
Cabeça isolada normal	0,45 ± 0,20
Abaxial/ Retroaxial	0,41 ± 0,16
Cauda dobrada	10,29 ± 2,43
Cauda enrolada	5,04 ± 2,50
<b>Total Defeitos Menores</b>	<b>17,29 ± 4,05</b>

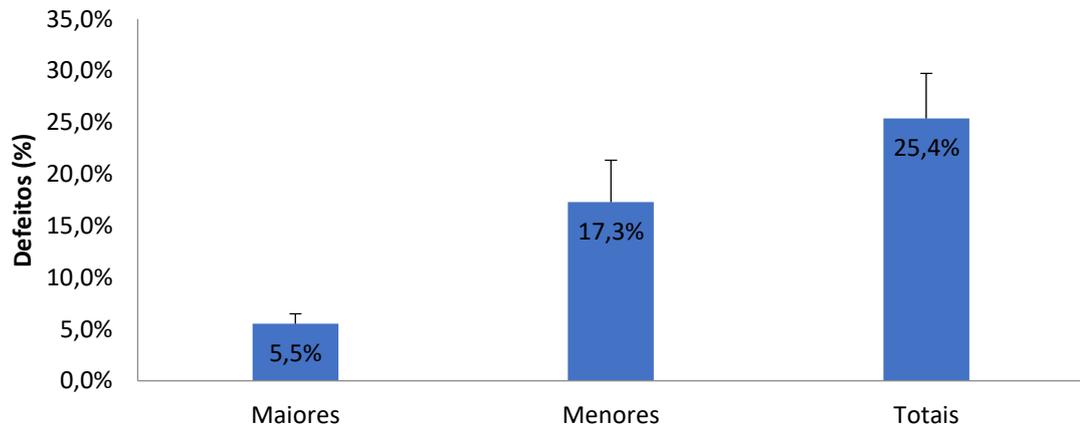


Figura 1. Total de defeitos maiores, menores e totais dos espermatozoides no sêmen dos cães *Australian Cattle Dog*.

As alterações da morfologia espermática mostraram média de  $25,41 \pm 4,34$  % com uma variação de 9,5 a 58% de espermatozoides anormais, tendo a maior incidência de espermatozoides com cauda dobrada ( $10,29 \pm 2,43$ %). A CBRA (2013) preconiza  $\geq 70$ % de células espermáticas normais e no presente estudo foi encontrado média de  $25,41 \pm 4,34$  % de espermatozoides anormais, valor abaixo dos valores máximos preconizados, aprovando os animais para a reprodução. Uchoa et al. (2002) encontraram média de  $12,7 \pm 5,8$  % de alterações morfológicas em espermatozoides em cães nas raças Pastor Alemão, Boxer, Samoieda, Starfordshire Terriers e Rottweiler, valores abaixo do encontrado neste estudo, enquanto que Luppi (2006) encontrou no cão da raça Golden Retriever um total de 19,3% de defeitos totais, sendo 11,3% de defeitos menores e 8% de defeitos maiores, valores estes diferentes deste estudo em cães da raça *Australian Cattle Dog* que foram de  $5,54 \pm 0,95$  % de defeitos maiores e  $17,29 \pm 4,05$  % de defeitos menores. Também Silva (2012) em cães da raça Fila Brasileiro observou média de  $4,3 \pm 2,4$ % de defeitos maiores e  $10,1 \pm 2,9$ % de defeitos menores, sendo mais próximos ao verificado nesta pesquisa.

Nesta pesquisa as médias prevaletentes dentre as patologias maiores e menores dos espermatozoides foram cauda fortemente dobrada/enrolada (média de  $3,87 \pm 0,92$  %) e cauda dobrada (média de  $10,29 \pm 2,43$  %), assemelhando ao achado por Lima, Santana e Fernandes (2017) que encontraram em cão da raça shihtzu esta mesma predominância de patologias.

Dos 12 animais amostrados, nove animais (75%) tiveram seus defeitos espermáticos totais  $\leq 30\%$ , sendo então aprovados, neste quesito, no exame andrológico. Resultado bem diferente deste estudo foi obtido por Galinkin (2014) onde do total de 52 animais testados apenas 27 (52%) foram aprovados nos parâmetros gerais recomendados pelo CBRA.

Em nosso estudo além destes 12 animais, tivemos dois animais que apresentaram elevada patologia espermática (52% e 46,5%), com relevância de defeitos de cauda (cauda dobrada e cauda fortemente dobrada/enrolada). Estes animais haviam recebido tratamento medicamentoso anterior, entre 10 e 15 dias, respectivamente, de Ivermectina e antibiótico (penicilina). É sabido que ambos medicamentos podem causar problemas de fertilidade, tanto na espermatogênese quanto na maturação epididimária. Weiss (2016) relatou um caso em cão da raça Pastor Alemão com degeneração testicular pelo uso contínuo de “Doramectina”, pertencente a mesma classe da Ivermectina, onde o animal apresentou quadro de azoospermia, diferente do animal do presente estudo onde foi administrado somente uma aplicação de ivermectina e o animal apresentou elevado número de células anormais (52%), vigor 0 e motilidade 0%.

As análises de correlações de Pearson mostraram correlações altas entre peso x idade ( $r= 0,66$ ;  $p= 0,01$ ), motilidade X vigor ( $r= 0,86$ ;  $p= 0,0005$ ), defeitos menores X idade ( $r= 0,58$ ;  $p= 0,04$ ) e defeitos menores X defeitos totais dos espermatozoides ( $r= 0,80$ ;  $p= 0,001$ ). Não foram observadas correlações entre as demais características.

A figura 3 mostra a tendência de crescimento da motilidade com a idade do animal, sendo que na análise estatística o  $r= 0,54$ , com  $p= 0,08$ .

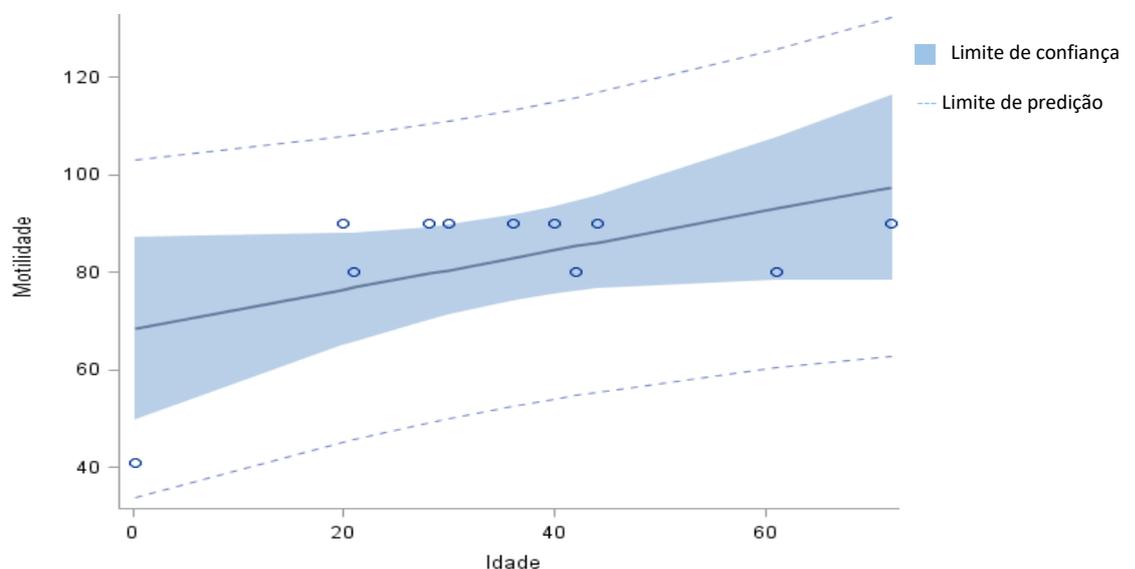


Figura 2 – Tendência de motilidade em relação a idade em cães *Australian Cattle Dog*.

## 5 CONCLUSÃO

As características físicas e morfológicas do sêmen dos cães *Australian Cattle Dog* deste estudo mostraram-se dentro dos padrões recomendados para a espécie.

As patologias espermáticas do sêmen mais encontradas foram as de cauda dos espermatozoides, principalmente caudas dobradas e fortemente enroladas.

Existem correlações altas entre peso x idade, motilidade X vigor, defeitos menores X idade e defeitos menores X defeitos totais dos espermatozoides.

Podemos inferir que, os cães *Australian Cattle Dog* desta pesquisa, demonstram um bom potencial de produção de espermatozoides e possivelmente uma boa fertilidade.

## REFERÊNCIAS

ABINPET-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Faturamento 2016 setor pet aumenta 4,9% e fecha em R\$ 18,9 bilhões, revela ABINPET.** [S.l.], 2017. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/site/faturamento-2016-do-setor-pet-aumenta-49-e-fecha-em-r-189-bilhoes-revela-abinpet/>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

ACIPRESTE, A.C. **Criopreservação de Sêmen Canino, Utilizando Associações de Crioprotetores e Dois Protocolos de Descongelamento.** 2006. 59p. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5072>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

BARTH, A.D.; OKO, R.J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa.** Ames, IA: Iowa State University, 1989. 285p.

CARDOSO, R.C.S.; SILVA, T.F.P.; LIMA, A.K.F.; SILVA, A.R.; SILVA, L.D.M. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução de Cães e Gatos. In: FIGUEIREDO, J.; FREITAS, V.; GONÇALVES, P.; **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal.** 2. ed. São Paulo: Roca, 2016. p.182.

CAZES, L.B. **Avaliação da Eficiência de Métodos de Recuperação de Gameta Masculino em Cão Doméstico (*Canis familiares*).** 2006. 68p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2006. Disponível em:

<[http://uenf.br/Uenf/Downloads/PGANIMAL\\_3898\\_1170357065.pdf](http://uenf.br/Uenf/Downloads/PGANIMAL_3898_1170357065.pdf)>. Acesso em: 10 jun. 2018.

CBRA-Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3a ed. Belo Horizonte, 2013.

CBKC-Confederação Brasileira de Cinofilia. **Padrão Oficial da Raça Australian Cattle Dog**. [S.l.], 2018. Disponível em: <[http://cbkc.org/application/views/docs/padroes/padrao-raca\\_1.pdf](http://cbkc.org/application/views/docs/padroes/padrao-raca_1.pdf)>. Acesso em: 6 jun. 2018.

CHACUR, M.G.M.; SOUZA, M.G.R.; SOUZA, C.D.; CREMASCO, C.P. Influência da adição de vitamina E em meios diluentes na qualidade do sêmen fresco diluído, refrigerado e congelado em cães da raça Bulldog Francês. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.45, 2017.

CRUZ, C.M.O. **As Raças Portuguesas de Cães de Gado e Cão de Pastoreio ~ Aspectos Morfológicos e Comportamentais**. 2007. 189p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2007. Disponível: <[http://www.carnivoreconservation.org/files/thesis/oliveiracruz\\_2007\\_msc.pdf](http://www.carnivoreconservation.org/files/thesis/oliveiracruz_2007_msc.pdf)>. Acesso em: 12 mar. 2018.

GALINKIN, J. **Avaliação de Sêmen e Medidas Testiculares de Cães de Raça Pura**. 2014. 31p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2014. Disponível em: <[http://bdm.unb.br/bitstream/10483/8737/1/2014\\_JoanaGalinkin.pdf](http://bdm.unb.br/bitstream/10483/8737/1/2014_JoanaGalinkin.pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2018.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasileiros têm 52 milhões de cães e 22 milhões de gatos, aponta IBGE. **G1**, São Paulo, 2 jun. 2015. Disponível em: <<http://g1.globo.com/natureza/noticia/2015/06/brasileiros-tem-52-milhoes-de-caes-e-22-milhoes-de-gatos-aponta-ibge.html>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

KENNEL CLUB DO TRIÂNGULO. **Criadores da raça Australian cattle dog**. Uberlândia, [2017 ou 2018]. Disponível em: <<http://site.ketriangulo.com.br/criadores/23/>>. Acesso em: 1 jun. 2018.

KUTZLER, M.A. Semen collection in the dog. **Theriogenology**, Corvallis, v.64, ago. 2005.

LAGE, A.P.; ALVES, T.M.; STYNEN, A.P.R.; MIRANDA, K.L.; COTTORELLO, A.C.P.; MINHARRO, S. Diagnóstico da Brucelose Canina: dificuldades e estratégias. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.29, n.3/4, jul./dez. 2005.

LIMA, S.G.; SANTANA, A.M.S.; FERNANDES, E.S. Avaliação Andrológica de Cães da Raça Shih-tzu: Criptorquida (Unilateral) e Cão com Testículos Normais. **UNIDESC—Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro-Oeste**. [S.L], [2017]. Disponível em: <[http://www.unidesc.edu.br/nip/wp-content/uploads/2017/05/Alessandra-Mendes-dos-S.-de-Santana\\_Shisley-Gon%C3%A7alves-de-Lima\\_MEDICINAVETERIN%C3%81RIA.pdf](http://www.unidesc.edu.br/nip/wp-content/uploads/2017/05/Alessandra-Mendes-dos-S.-de-Santana_Shisley-Gon%C3%A7alves-de-Lima_MEDICINAVETERIN%C3%81RIA.pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2018.

LUPPI, M.M.C.P. **Avaliação andrológica de cães da raça *Golden Retriever* sadios e afetados pela distrofia muscular**. 2006. 109p. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Doméstico e Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10132/tde-12042007-171453/en.php>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

MADEIRA, V.L.H. **Criopreservação do sêmen canino com um diluidor à base de água de coco na forma de pó (ACP - 106®): efeito do tempo de equilíbrio e da taxa de descongelamento**. 2007. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2007. Disponível em: <[http://www.uece.br/ppgev/dmdocuments/victor\\_madeira.pdf](http://www.uece.br/ppgev/dmdocuments/victor_madeira.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2018.

MARTINS, M.I.M. **Efeito da Sazonalidade sobre a Função Testicular de Cães**. 2005. 121p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu, Botucatu, 2005. Disponível : <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/105960/martins\\_mim\\_dr\\_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/105960/martins_mim_dr_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso em: 12 nov. 2018.

MORANI, E.S.C.; RODRIGUES, L.H.; RONCOLETTA, M. Exame Andrológico. **Manual de Reprodução nas Espécies Domésticas- Avaliação e Empregabilidade do sêmen**. 1. ed. São Paulo: MedVet, 2018. p. 17.

MORANI, E.S.C.; RODRIGUES, L.H.; RONCOLETTA, M. Parâmetros Adicionais ao Exame Andrológico. **Manual de Reprodução nas Espécies Domésticas- Avaliação e Empregabilidade do sêmen**. 1. ed. São Paulo: MedVet, 2018. p. 23.

MOTA FILHO, A.C.; SILVA, L.D.M. Recuperação e conservação de espermatozoides epididimários de mamíferos. **Acta Veterinária Brasileira**, v.6, n.1, p.1-8, 2012.

MOURA, A.L.N. **Congelamento de Espermatozoides Epididimários em Cães**. 2017. 20p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. Disponível: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/21459/3/CongelamentoEpid%C3%ADdimoC%20aes.pdf>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

NICHI, M.; VANNUCCHI, C.I.; SILVA, L.C.G.; REGAZZI, F.M.; VEIGA, G.A.L.; LÚCIO, C.F.; AGRIMANI, D.S.R. Biotécnicas reprodutivas com o emprego de espermatozoides epididimários em cães. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.37, n.4, out/dez. 2013.

OLIVEIRA, L.L.A. **Morfologia Espermática nas Diferentes Porções do Trato Reprodutivo de Cães**. 2017. 20p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

PIGNATARO, T.A. **Refrigeração do sêmen canino com diferentes diluentes e temperaturas de armazenamento**. 2015. 20p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2015. Disponível em: <[http://www.bdm.unb.br/bitstream/10483/11432/1/2015\\_TatianaAlmeidaPignataro.pdf](http://www.bdm.unb.br/bitstream/10483/11432/1/2015_TatianaAlmeidaPignataro.pdf)>. Acesso em: 13 nov. 2018.

RINCON, O.E.R. **Determinación del Efecto de Dos Protocolos de Criopreservación sobre la Viabilidad de la Célula Espermática Canina para la raza Pastor Belga Mallinois**. 2015, 81p. Maestría en Ciencias Veterinarias - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, Colômbia, 2015. Disponível em: <[http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/18364/76122206\\_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/18364/76122206_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso em: 13 nov. 2018.

RODRIGUES, V. **Avaliação Andrológica e Ultrassonográfica de Testículos e Próstatas de Cães (*Canis familiaris* – Linnaeus, 1758) da Raça Beagle, alimentados com Três Rações Comerciais de Qualidades Diferentes**. 2009. 50p. Tese (Doutor em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/cir/d/2854.pdf>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

SANTANA, J.P.S. **Inseminação Artificial Canina Utilizando Sêmen Fresco**. 2012. 38p. Trabalho (Disciplina de reprodução animal) – Pós-Graduação em Clínica médica e cirúrgica de pequenos animais, Centro Universitário da Grande Dourados, Dourados, 2012. Disponível: <[https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37829316/Inseminacao\\_Artificial.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1542116271&Signature=%2FUSHZmSf95L2QtdMsrFn2Rdoh2E%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DIA\\_Cadelas.pdf](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37829316/Inseminacao_Artificial.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1542116271&Signature=%2FUSHZmSf95L2QtdMsrFn2Rdoh2E%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DIA_Cadelas.pdf)>. Acesso em: 13 nov. 2018.

SANTOS, C.S. **Inseminação Artificial: A Fertilidade do Sêmen Canino Congelado, comparado a do Sêmen Fresco: Estudo Retrospectivo**. 2012. 21p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/67857/000872484.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

SANTOS, I.P. **Avaliação dos Efeitos da Urina, Osmolaridade, pH e Ureia Sobre o Espermatozoide Canino**. 2007. 51p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2007. Disponível em: <[http://uenf.br/Uenf/Downloads/PGANIMAL\\_3898\\_1213820281.pdf](http://uenf.br/Uenf/Downloads/PGANIMAL_3898_1213820281.pdf)>. Acesso em: 11 jun. 2018.

SAS – Statistical Analysis System, versão 8.0 para Windows, SAS Institute, Cary, NC., 2000, EUA.

SCHWARTZ, C. **Australian Cattle Dog**. [S.l.: s.n.],2004. ISBN 13: 978-1-59378-368-6. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=t8IJBgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA3&dq=Australian+cattle+dog&ots=49QNZENJkg&sig=VAtFoxpZLYtNSjoROgJQRBsuzPY#v=onepage&q&f=false>>. Acesso em: 6 jun. 2018.

SIQUEIRA, A.; CARDOSO, R.C.S.; GOSMES, E.T.; SANTOS, J.F.P.; Andrologia e criopreservação de sêmen em cães. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.40, n.4, 2016.

SILVA, A.R. **Criopreservação Do Sêmen Canino Diluído Em Tris: Avaliação Morfológica, Funcional E De Suas Interações Com Oocistos Homólogos**. 2005. 146p. Tese (Doutor em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2005. Disponível em: <[http://pct.capes.gov.br/teses/2005/919205\\_5.PDF](http://pct.capes.gov.br/teses/2005/919205_5.PDF)>. Acesso em: 11 jun. 2018.

SILVA, A.S.F. **Caracterização Genética, Andrológica e Congelabilidade do Sêmen em Cães da Raça Fila Brasileiro**. 2012. 84p. Tese (Doutor em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012. Disponível em: <[http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS-978GAH/tese\\_corrigida\\_para\\_colegiado\\_\\_\\_04jan\\_2012\\_sem\\_config\\_xerox.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS-978GAH/tese_corrigida_para_colegiado___04jan_2012_sem_config_xerox.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 13 nov. 2018.

SILVA, D.P. **Canis familiaris: Aspectos da Domesticação (Origem, Conceitos, Hipóteses)**. 2011. 45p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2011. Disponível em: <[http://bdm.unb.br/bitstream/10483/3053/1/2011\\_DaniloPereiradaSilva.pdf](http://bdm.unb.br/bitstream/10483/3053/1/2011_DaniloPereiradaSilva.pdf)>. Acesso em: 22 mai. 2018.

SOUZA, F.F. Critérios para Exame Andrológico em Cães. In: II Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal, 2017, Uberlândia. **Anais...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2017, p. 23-24. Disponível em: [www.embrapa.br/pantanal/publicacoes](http://www.embrapa.br/pantanal/publicacoes). Acesso em: 22 mai. 2018.

UCHOA, D.C.; CARDOSO, R.C.S.; SILVA, A.R.; SILVA, L.D.M. Criopreservação de sêmen canino com um diluidor a base de água de coco. **Redalyc**. Santa Maria, v.32, n.4, p. 657-661, 2002.

VELDEN, F.F.V. Sobre cães e índios: domesticidade, classificação zoológica e relação humano-animal entre os Karitiana. **Scientific Electronic Library Online**. [S.l.], jul. 2009.

WEISS, R.R.; BERTOL, M.A.F.; ABREU, A.C.M.R.; SELLA, R.C.; ZIELINSKI, B.L.; COSTA, B.N. Relato de Caso: Degeneração Testicular em Cão pelo Uso de Doramectina. **Veterinária e Zootecnia**. p. 78-82, Março 2016.

ZAINE, I. **Sensibilidade as Dicas Sociais Humanas e Comportamentos Emergentes em Cães Domésticos (*Canis familiaris*)**. 2015. 187p. Tese (Doutor em Psicologia) – Psicologia do Centro de Educação e Ciências Humanas da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/6001/6771>>. Acesso em: 1 mar. 2018.