

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

GABRIELLE FERREIRA BERQUÓ

**Estudo comparativo da morfologia espermática entre cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*,
Linnaeus 1766) e o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*)**

UBERLÂNDIA

2023

GABRIELLE FERREIRA BERQUÓ

**Estudo comparativo da morfologia espermática entre cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*,
Linnaeus 1766) e o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*)**

Monografia apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas, curso de Biomedicina, da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientadora: Prof. Dra. Teresinha Inês de Assumpção

UBERLÂNDIA

2023

Agradecimentos

Agradeço principalmente a minha mãe Maria Patrícia, que nunca mediu esforços para o meu acesso ao estudo, meu grande exemplo de força, gratidão por todas as vezes que abdicou de suas vontades para me proporcionar o melhor.

A minha irmã Luciana, meu primeiro e maior exemplo, meu porto seguro a quem sempre recorro.

Ao meu companheiro Luis, por ser o meu abrigo, obrigada por me encorajar e apoiar, meu melhor amigo e meu amor.

Ao meu ponto de paz Cacau, o animalzinho mais amoroso que já conheci, minha fiel acompanhante ao escrever esse trabalho.

À Prof.^a Dr.^a Teresinha, que foi indispensável nesse trabalho, obrigada pela oportunidade, pelo aprendizado e pela gentileza de me receber em seu laboratório sempre feliz e disposta a ensinar.

A Universidade Federal de Uberlândia, pelo ensino de qualidade e todos os recursos para o desenvolvimento dessa pesquisa.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo Geral	8
2.2. Objetivos Específicos	8
3. JUSTIFICATIVA	8
3.1. Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	8
3.2. Cão doméstico (<i>Canis lupus familiaris</i>)	9
3.3. A reprodução nos canídeos	10
3.4. Andrologia nos canídeos	10
4. MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.1. Local de execução	12
4.2. Material a ser utilizado	12
4.3. Análise das amostras	12
4.4. Análise das imagens	13
4.5. Análise dos dados	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	14
6. CONCLUSÃO	17
REFERÊNCIAS	18

-

RESUMO

Os canídeos selvagens são mamíferos com grande diversidade, sendo que o principal obstáculo para o sucesso de sua reprodução são os conhecimentos ainda limitados sobre o comportamento e a fisiologia das espécies como o cachorro-do mato (*Cerdocyon thous*). Já os canídeos domésticos (*Canis lupus familiaris*) possuem uma grande distribuição natural entre os mamíferos terrestres e apresenta uma grande variabilidade genética. O objetivo desta pesquisa será realizar um estudo comparativo da morfologia espermática normal e suas anormalidades entre os dois canídeos, o cachorro-do-mato e o cão doméstico. Foram utilizadas 8 amostras de sêmen de cachorros-do-mato e 18 de cães domésticos ambas coletadas anteriormente em outras pesquisas e que se encontram no Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal de Uberlândia. Foram analisadas as dimensões do espermatozoide por fotomicrografias avaliadas no *software* “open source” Image J, para obter informações relativas a dimensões de comprimento total, de cabeça, peça intermediária e cauda dos espermatozoides. A morfologia espermática foi avaliada pelo método de preparação em câmara úmida sob microscopia óptica de contraste de fase para avaliação morfológica e por esfregaços do sêmen coradas pelo Vermelho Congo para avaliação de dimensões. Os dados foram apresentados de forma descritiva em média e desvio padrão e a comparação entre as células das duas espécies pelo teste t de Student. As dimensões espermáticas foram muito semelhantes entre o cachorro-do-mato e do cão doméstico, sendo o comprimento total de 62,22 μm e 55,98 μm , respectivamente. A morfologia normal dos espermatozoides das duas espécies também foi muito semelhante, porém foi observado uma elevada quantidade de anormalidades espermáticas nos cachorro-do-mato em comparação com o cão doméstico, sendo 53,2% e 35,5%, respectivamente. Os resultados desse estudo podem complementar o conhecimento sobre avaliação andrológica de canídeos selvagens e domésticos, podendo contribuir na reprodução assistida destas espécies.

Palavras-chave: Reprodução, canídeos, espermatozoides, morfologia espermática.

ABSTRACT

Wild canids are mammals with great diversity and the main obstacle to the success of their reproduction is the still limited knowledge about the behavior and physiology of species such as the bush dog (*Cerdocyon thous*). Domestic canids (*Canis lupus familiaris*), on the other hand, have a wide natural distribution among terrestrial mammals and exhibit a high genetic variability. The objective of this research is to conduct a comparative study of normal sperm morphology and its abnormalities between two canids, the bush dog and the domestic dog. Eight semen samples from wild dogs and eighteen from domestic dogs were used, both previously collected in other research and stored in the Animal Reproduction Laboratory of the Federal University of Uberlândia. The sperm dimensions were analyzed through photomicrographs evaluated using the open-source software "Image J" to obtain information regarding the total length, head, midpiece, and tail dimensions of the sperm. Sperm morphology was assessed using the wet-mount preparation method under phase-contrast optical microscopy for morphological evaluation and semen smears stained with Congo Red to evaluate dimensions. The data were presented descriptively in terms of mean and standard deviation, and the comparison between the cells of the two species was made using the Student's t-test. Sperm dimensions were very similar between the bush dog and the domestic dog, with total lengths of 62.22 μm and 55.98 μm , respectively. The normal sperm morphology of both species was also very similar, although a high quantity of sperm abnormalities was observed in the bush dog compared to the domestic dog, with rates of 53.2% and 35.5%, respectively. The results of this study can contribute to enhancing our understanding of the andrological evaluation of wild and domestic canids, potentially aiding in assisted reproduction efforts for these species.

Key-words: Reproduction, canids, sperm, sperm morphology.

1. INTRODUÇÃO

Os canídeos selvagens são mamíferos com grande diversidade, eles podem sobreviver em condições ambientais extremas, desde desertos escaldantes, a invernos rigorosos (Costa et al., 2005). A América do Sul é o continente que abriga a mais extraordinária biodiversidade destes animais, abrigando 11 espécies de canídeos selvagens, entre elas o cachorro do mato (*Cerdocyon thous*) (Wozencraft, 2005; Pinto et al., 2006; Reis, 2006). Eles estão seriamente ameaçados devido à perda, degradação e fragmentação de seus habitats, incêndios florestais, caça e atropelamentos. Estão sujeitos a isolamento geográfico, endogamia, perda de variabilidade genética, diminuição da eficiência reprodutiva e números populacionais reduzidos (Cherem et al., 2007; Vieira, 1996).

A aplicação de biotécnicas de reprodução a espécies selvagens ainda é muito limitada, isto devido principalmente à falta de conhecimento básico em biologia reprodutiva da maioria das espécies. As diferenças nas formas reprodutivas das espécies (anatomia/ morfologia) e funções (mecanismos que regulam o sucesso reprodutivo) limitam a aplicabilidade prática para a produção de crias. A manutenção da diversidade genética é dependente da reprodução e é essencial para sobrevivência de uma espécie, pois sua redução pode afetar a espermatogênese e ovulação, concepção, desenvolvimento embrionário através de alterações epigenéticas do genoma, susceptibilidade a doenças, morbidade e mortalidade perinatal (Morato et al., 1998; Holt et al., 2014).

Em relação aos canídeos domesticados, o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) foi a primeira espécie animal a ser domesticada pelo homem, entre 20 e 40 mil anos atrás (Pendleton et al., 2018). Foi cientificamente comprovado que o cão doméstico tem como seu ancestral o lobo cinzento holártico (*Canis lupus*) essa descoberta foi realizada a partir de 1950, por meio de estudos de vocalização, comportamento e morfologia de cães. Com o uso de pesquisas arqueológicas e genéticas, calcula-se que os cães domésticos se diferenciam de seus ancestrais, os lobos cinzentos a aproximadamente 145.000 anos (Zaine, 2015).

O cão domesticado adaptou-se a diferentes habitats, exceto florestas úmidas e desertos. É a espécie que possui a distribuição natural mais ampla entre os mamíferos terrestres, depois do homem. Nos últimos três séculos, a intensa seleção artificial para fenótipos extremos de características morfológicas e comportamentais deu origem a mais de 400 raças catalogadas atualmente (Ostrander et al., 2017). Essa intensa seleção favoreceu a redução da diversidade genética e o consequente aumento da ação da deriva genética, favorecendo a repetição de variantes de alto impacto funcional no genoma canino (Xue et al., 2012; Marsden et al., 2016). Além disso, a endogamia em cães, é responsável pelo aumento da frequência de doenças genéticas, perdas embrionárias e afeta drasticamente o desempenho reprodutivo da espécie, levando a alterações como criptorquidismo (Smit

et al., 2018), doenças uterinas (Voorwald, 2015), tamanho de ninhada reduzidos e problemas de acasalamentos (Schrack et al., 2017).

A escolha criteriosa de reprodutores e o uso adequado das técnicas reprodutivas asseguram gerações de animais com superioridade genética, que são menos inclinados a desenvolver doenças predisponentes, com bom temperamento e aptos às tarefas impostas pela raça a que pertence (Duffy; Serpell, 2012; Goddard; Beilharz, 1982; Maejima et al., 2007; Swenson et al., 1997). O uso da reprodução assistida em cães também serve como modelo de estudo para espécies de canídeos selvagens ameaçados de extinção, técnicas que podem ser posteriormente melhoradas e usadas na manutenção e prevenção da biodiversidade (Luvoni, 2000).

Assim, para trabalhar a reprodução dos machos dos cães domésticos e selvagens é muito importante conhecer sua fisiologia reprodutiva, a característica morfológica de seus espermatozoides e suas alterações, pois estas características impactam diretamente a fertilidade dos animais.

2 - OBJETIVOS

Geral

Realizar o estudo comparativo da morfologia espermática normal e as anormalidades no sêmen de dois canídeos, o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*).

Específicos

- Avaliar a morfologia dos espermatozoides do cachorro-do-mato e do cão doméstico.
- Conhecer e comparar as dimensões morfométricas da cabeça, corpo e cauda das células do cachorro-do-mato e do cão doméstico.
- Identificar as diversas anormalidades espermáticas nas duas espécies.
- Fazer a comparação dos tipos e das quantidades de anormalidades dos espermatozoides entre as duas espécies de canídeos.

3. JUSTIFICATIVA

3.1. Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*)

O cachorro-do-mato, foi o primeiro canídeo descrito na América do Sul. Pertence a classe Mammalia, ordem Carnívora e família *Canidae*. Seu habitat natural inclui várias regiões da América do Sul como a Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, sudeste da Bolívia, Paraguai, Uruguai, nordeste da Argentina e a maior parte do Brasil, exceto a região amazônica (Berta, 1982). Segundo a IUCN (2015) seu status é *Least Concern* (menos preocupante), não sendo considerada uma espécie

ameaçada de extinção, porém o número de indivíduos vem diminuindo devido à fragmentação do habitat e aumento de atropelamentos (Cherem et al., 2007; Lucherini, 2015; Valadão et al., 2018).

O cachorro do mato adulto pode medir até 64 cm de comprimento e pesar até 8 quilos. Tem a pelagem que pode variar de tons de marrom claro até cinza mesclada com preto. As patas, em geral, são escuras, pretas, com a cauda peluda e o focinho comprido. Canídeo com hábitos crepuscular e noturno, embora possa ser visto em diferentes horas do dia, procuram alimento em casais ou em pequenos grupos e é considerado um dispersor de sementes (ICMBio, 2022).

Esta espécie é monogâmica. As fêmeas do cachorro-do-mato podem ter até duas crias por ano, dependendo de sua localização geográfica e disponibilidade de alimentação (Brady, 1978), pois são poliétricas anuais, embora a atividade ovariana ocorra apenas na fêmea dominante do grupo, sendo baixa nas fêmeas subordinadas (Porton et al., 1987; Asa e Valdespino, 1998; DeMatteo et al., 2006). A gestação desses animais dura em média 56 dias e nascem de 3 a 6 filhotes (Pinheiro et al., 2014). São escassos os relatos sobre a sazonalidade na reprodução do macho e sua produção espermática, mas sabe-se que a maturidade sexual da espécie *Cerdocyon thous* ocorre a partir dos nove meses de idade. O macho da espécie costuma levar o alimento às fêmeas lactantes ou grávidas. Os jovens desses cachorros-do-mato tornam-se independentes entre os 5 e 6 meses de vida e, por volta de 1,5 anos, dispersam-se e estabelecem territórios adjacentes ao seu grupo natal (ICMBio, 2022).

3.2. Cão doméstico (*Canis lupus familiaris*)

O cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) foi a primeira espécie animal a ser domesticada pelo homem (Pendleton et al., 2018). A sua origem ainda é incerta, evidências obtidas a partir de genoma mitocondrial indicam que a origem pode ter acontecido na Europa, entre 18 e 32 mil anos atrás (Thalmann et al., 2013) ou no sudeste asiático há menos de 16 mil anos (Pang et al., 2009). Posteriormente, o cão foi levado pelo homem para o restante do mundo, passando a ser uma espécie exótica invasora, ou seja, uma espécie que se estabeleceu em um novo ecossistema ou habitat fora de sua distribuição natural, tornando-se agente de mudança que ameaça, em algum grau, a biodiversidade nativa, os recursos naturais e/ou a saúde humana (Ziller, 2004). Hoje em dia, são conhecidas mais de 400 raças de cães, dentre as quais incluem, por exemplo, as destinadas à companhia, ao trabalho, a guarda e ao pastoreio (FCI, 2021).

Os cães são mamíferos dotados de pelos na maior parte do corpo (exceto algumas raças), têm mandíbulas dotadas de dentes especializados para apreensão, corte e trituração, possuem, como a maioria dos mamíferos predadores, músculos poderosos e sistema cardiovascular disponível para ações

explosivas, corridas e ataques, com esqueleto que acompanha esta demanda. Na maioria das raças, os membros anteriores são flexíveis e os posteriores possuem grande massa muscular, proporcionando poder de executar saltos longos e corridas em altas velocidades (Dewey e Bhagat, 2002). As diversas raças de cães possuem diferenças significativas entre si, em especial quanto ao tamanho, pelagem e conformação que estão relacionadas a questões de genética (Ostrander e Wayne, 2007), devido aos cruzamentos forçados pela ação humana, existem raças com menos de 20 cm como os Chihuahua, e outras com mais de 1 metro de altura como o Dinamarquês ou Dogue Alemão. A diferença corporal não os torna espécies diferentes, mantendo-se inclusive a possibilidade de cruzamento (Michell, 1999).

A maturidade sexual dos cães ocorre entre 6 e 12 meses de vida, tanto para machos quanto para fêmeas e, exceto em caso de problemas patológicos, matem a vida sexualmente ativa até a velhice (Kustritz, 2005). O ciclo estral das cadelas é, normalmente, bianual e a gestação dura cerca de 60 dias, após os quais nascem, em média, seis filhotes (Allen, 1995). As estratégias reprodutivas utilizadas pelo homem com os cães surgiram com o objetivo de criar raças designadas a diferentes propósitos que melhor atendiam as necessidades de seus donos (Vilá e Leonard, 2007).

3.3. A reprodução nos canídeos

Pouco se conhece sobre os comportamentos sexuais e formas de acasalamento dos canídeos selvagens da América do Sul. O cachorro-do-mato (MacDonald, 1996) e o cachorro-do-campo (Lucherini et al., 2004) são animais monogâmicos. O cachorro do mato forma haréns, mas a atividade reprodutiva é suprimida em fêmeas subordinadas pela presença da fêmea dominante do grupo familiar (Cheida et al., 2006). No cachorro do mato, o casal se separa do grupo no momento da cópula (Cheida et al., 2006).

Em canídeos domesticados os impulsos e desejos sexuais estão ausentes na primeira fase da vida de um cão, dando início durante a puberdade e no começo da idade adulta, e diminuem à medida que a idade avança (Dodman, 2016). Os machos caninos atingem a puberdade clínica, apresentando os primeiros espermatozoides no ejaculado, ao atingirem 70 a 80% do peso que a raça manifesta quando adulta, conforme demonstrado em cães da raça Beagle (Taha et al., 1981) e Retriever do Labrador (Wildt et al., 1981).

3.4. Andrologia nos canídeos

O conhecimento sobre andrologia dos canídeos selvagens sul-americanos é escasso, há poucos estudos com foco na endocrinologia reprodutiva, puberdade, maturidade sexual e características de seu

sêmen. Algumas descrições ultrassonográficas do aparelho reprodutor masculino já foram realizadas em cachorro-do-mato, mostrando a próstata localizada caudal à bexiga com contorno regular bilobado, com parênquima homogêneo e uretra prostática central (Carvalho et al., 2020). Souza, Guimarães e Paz (2011) verificaram volume testicular de $3,8 \pm 1,5 \text{ cm}^3$ em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e Johnston et al. (2007) verificaram um volume de $5,5 \pm 0,6 \text{ cm}^3$ em cães selvagens africanos (*Lycaon pictus*).

Em cães domesticados, a variação do tamanho testicular não foi correlacionada às mudanças da proporção de nenhum componente tecidual e a proporção de túbulos seminíferos (epitélio germinal + lúmen) permaneceu constante mesmo na grande variação de tamanho testicular (Woodal e Johnstone, 1988). A próstata é a única glândula sexual acessória do cão e é responsável pela produção do fluido prostático para o transporte dos espermatozoides na ejaculação (Barsanti e Finco, 1989).

Algumas técnicas de coleta de sêmen já estão descritas para algumas espécies de canídeos. A eletroejaculação é o método de escolha para coleta de sêmen em carnívoros selvagens e foi adaptada para várias espécies (Souza et al., 2011; Castelo e Silva, 2014; Franklin et al., 2018), porém a coleta de sêmen por esta técnica quase sempre há contaminação do ejaculado com urina (Paz, 2015; Assumpção et al., 2017). Isso representa um obstáculo crítico para a caracterização do sêmen e obtenção de amostras de espermatozoides que possam ser utilizadas para inseminação artificial ou criopreservação. A Manipulação Digital é o método de eleição na obtenção de amostra de sêmen em cães domésticos. Antes de iniciar a estimulação, alguns fatores devem ser analisados para uma completa ereção e 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 (Kutzler, 2005).

A morfologia espermática (cabeça, acrossomo, peça intermediária e cauda) pode ser classificada em defeitos maiores, menores e o total de defeitos (Blom, 1972) (CBRA, 2013). De acordo com o Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), a porcentagem de defeitos maiores e menores no sêmen do cão doméstico deve ser no máximo 30%, sendo que o total de defeitos maiores não deve ser superior a 10%. Ainda não há classificação para canídeos selvagens.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de execução

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. Esta pesquisa foi autorizada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da UFU, processo nº 23117.033741/2023-60.

4.2. Material utilizado

Foram utilizadas amostras de sêmen de oito cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) (figura 1) que viveram em cativeiro ao longo da vida em Jaboticabal, em relação aos cães domésticos foram utilizadas dezoito amostras de sêmen de cães de diferentes raças (*Canis lupus familiaris*) (figura 2). Ambas as amostras eram provenientes de coletas de pesquisas anteriores e que estavam armazenadas no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária.



Figura 2. Exemplar do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e do cão doméstico (*Canis lupus familiaris*). Fonte: Google imagens.

4.3. Análise das amostras

A morfologia espermática foi avaliada pelo método de preparação em câmara úmida sob microscopia óptica de contraste de fase, sendo contadas 100 células, verificando a morfologia normal e as anormalidades apresentadas pelos espermatozoides em sua cabeça, peça intermediária e cauda. Também foram feitos esfregaços do sêmen que foram corados pelo Vermelho Congo (Cеровsky) (figura 3), os esfregaços foram utilizados para captura de imagem. O método de preparação em câmara úmida também foi utilizado para comparação com o esfregaço corante.

Foram obtidas fotomicrografias dos espermatozoides de cachorros do mato em microscópio Leica DM500 em aumento de 1000 X e de cães domésticos em microscópio Olympus BX40 também em aumento de 1000 X. As imagens foram as capturadas por uma câmera digital Leica ICC50 HD

acoplada ao microscópio em software de captura Leica LAS EZ (Leica Microsystems, Suíça) e OLY-200 (Olympus America INC) acoplada ao microscópio em software de captura LAS EZ. Como não há classificação oficial para cães selvagens foi referenciado as anormalidades de cão doméstico, sendo verificadas separadamente na cabeça, peça intermediária e cauda dos espermatozoides e seguindo as orientações regidas no Manual de exame andrológico e análise de sêmen (CBRA, 2013).



Figura 3. Esfregação do sêmen e coloração das lâminas pelo método Cerovsky.

4.4. Análise das imagens

A análise das imagens capturadas foi realizada no *software* “open source” Image J (figura 4), através do qual foram obtidas as informações relativas às dimensões de comprimento total, de cabeça, peça intermediária e cauda dos espermatozoides em micrometros (μm). O aplicativo foi calibrado com o uso da ferramenta “Set Scale” seguindo as instruções encontradas no próprio *software*.

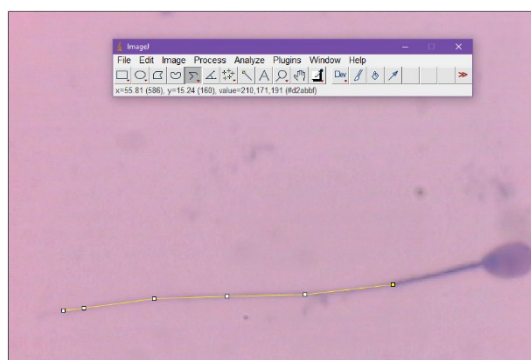


Figura 4. Software utilizado para análise e medição dos espermatozoides dos cachorros-do-mato e dos cães domésticos.

4.5. Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada e os resultados foram apresentados de acordo com suas médias e desvios padrões. A comparação entre as dimensões dos espermatozoides entre das duas espécies de canídeos foram feitas pelo teste T de Student.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A medição realizada pelo software Image J mostrou-se eficiente na avaliação das dimensões dos espermatozoides e na comparação entre as espécies. A tabela 1 apresenta a comparação no comprimento dos espermatozoides dos dois grupos estudados.

Tabela 1- Médias e desvios padrões das dimensões (micrômetros) dos espermatozoides dos cachorro-do-mato e dos cães domésticos (média \pm desvio padrão).

	Comprimento total	Comprimento da Cabeça	Largura da Cabeça	Comprimento da Peça Intermediária	Comprimento da Cauda
Cachorro-do-mato	62,22	4,70 \pm 0,34	3,36 \pm 0,45	10,14 \pm 1,02	47,38 \pm 4,52
Cão doméstico	55,98	5,82 \pm 0,19	3,72 \pm 0,18	10,15 \pm 0,29	40,01 \pm 1,12

Não foi verificada diferença significativa entre as dimensões totais dos espermatozoides nas duas espécies. O comprimento médio total variou em 6,24 μm , sendo que a maior influência para essa variação ocorreu no comprimento de cauda, onde a diferença entre as espécies foi de 7,37 μm . Em relação a largura da cabeça e ao comprimento da peça intermediária observamos grande semelhança entre as duas espécies. A morfologia geral é muito semelhante entre o cachorro-do-mato e o cão doméstico (figura 5).

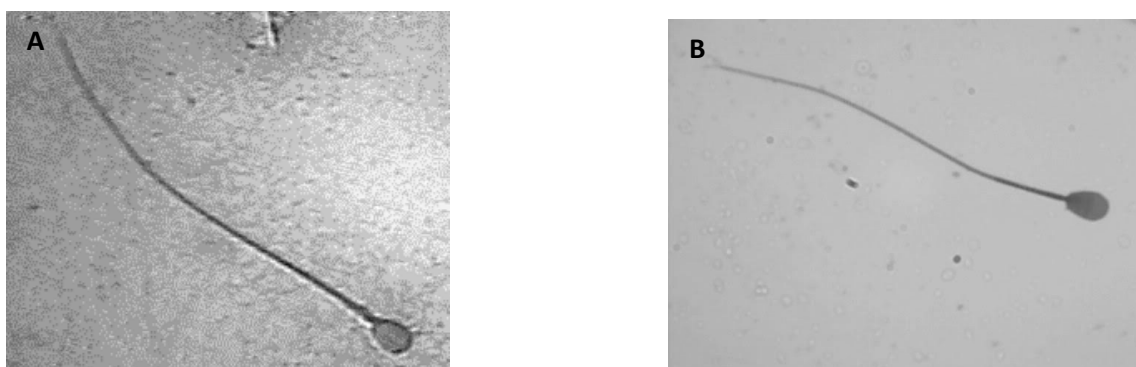


Figura 5. Morfologia normal dos espermatozoides de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (A) e cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) (B). Coloração Cerovsky. Aumento 1000 X.

As dimensões dos espermatozoides verificadas neste estudo são semelhantes as observadas por Cummins e Woodall (1985) que observaram no cão doméstico um comprimento total médio de 57,0 μm e de 60,0 μm na raposa vermelha (*Vulpes fulva*). Também em outras espécies de carnívoros, os mesmos autores verificaram dimensões muito próximas que observamos em nossa pesquisa, como no gato doméstico (59,0 μm) e no tigre (*Panthera tigris*) onde a dimensão total foi de em 63,0 μm .

A tabela 2 mostra as porcentagens de alterações morfológicas verificadas nas duas espécies de canídeos.

Tabela 2 - Médias (em porcentagem) das alterações morfológicas dos espermatozoides dos cachorro-do-mato e dos cães domésticos (média \pm desvio padrão).

Anormalidade	Cachorro-do-mato	Cão doméstico
Acrossoma	0,4 \pm 0,23	0,6 \pm 0,29
Gota Citoplasmática Proximal	11 \pm 5,35	1,4 \pm 0,15
Cauda Fortemente Dobrada ou Enrolada	16 \pm 6,65	11,4 \pm 0,92
Contorno Anormal	8 \pm 3,84	0,6 \pm 0,20
Cauda Enrolada	3 \pm 0,91	5,7 \pm 0,43
Cauda Dobrada	5,6 \pm 1,36	7,7 \pm 0,16
Gota Citoplasmática Distal	2,6 \pm 1,34	1,8 \pm 0,33
Cabeça Isolada Normal	6,6 \pm 4,13	6,3 \pm 0,15
Total de defeitos	53,2	35,5

A média de anormalidades totais no cachorro-do-mato foi de 53,2 % (tabela 2), valores estes superiores aos verificados por Johnston et al. (2007) em cães selvagens africanos (*Lycaon pictus*) que foi de 23,5 % e de Koeler et al. (1998) em lobo vermelho (*Canis rufus*) 35,0 \pm 11,8 %, porém próximos aos de Jalkanen et al. (1993) em raposa prata (*Vulpes vulpes*) que foi 45%. Não há padrões pré-determinados para qualidade seminal em cães selvagens, apenas para domésticos, onde segundo o CBRA (CBRA, 2013) o máximo de espermatozoides com alterações deve ser de 30%. Os diversos tipos de alterações morfológicas verificados em nossa pesquisa são semelhantes aos verificados por estes pesquisadores em outros tipos de carnívoros selvagens, porém o número de anormalidades espermáticas observado nesta pesquisa foi muito superior aos relatados por eles.

Uma possível explicação para a elevada porcentagem de alterações morfológicas no sêmen cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) seja o fato da pequena variabilidade da população desta espécie, devido ao baixo número de animais, e que sugere uma degradação na sua heterozigose (Wildt et al.,

1986), o que foi observado também por Koeler et al. (1998) em lobos vermelho, onde a restrição do pool genético e endogamia genética na pequena população remanescente explicaria a degradação observada na qualidade do espermatozoide destes animais.

Já a média de anormalidades totais no cão doméstico verificada foi de 35,5 % (tabela 2), valores estes próximos aos de Assumpção et al. (2019) que observaram $25,41 \pm 4,34$ % com uma variação de 9,5 a 58% de espermatozoides anormais em cães da raça *Australian Cattle Dog*. Em raças puras, Uchoa et al. (2002) encontraram média de $12,7 \pm 5,8$ %, enquanto Luppi (2006) encontrou no cão da raça Golden Retriever um total de 19,3%.

Com relação ao tipo de anormalidade morfológica (figuras 6 e 7), observamos nesta pesquisa que a cauda fortemente dobrada ou enrolada obteve maior porcentagem de média em ambas as espécies ($16 \pm 6,65$ e $11,4 \pm 0,92$ %). Além disso o defeito de cabeça isolada normal teve um valor médio aproximado ($6,6 \pm 4,13$ e $6,3 \pm 0,15$ %) e o defeito de acrossoma foi a menor média em ambas as espécies ($0,4 \pm 0,23$ e $0,6 \pm 0,29$ %). Assumpção et al. (2019) verificaram também grande quantidade de defeitos de cauda, com maior incidência de cauda dobrada ($10,29 \pm 2,43$ %), cauda enrolada ($5,04 \pm 2,50$) e cauda fortemente dobrada/enrolada ($3,87 \pm 0,92$). Inferimos que a menor quantidade de anormalidades espermáticas nos cães domésticos seja devido a maior seleção reprodutiva que ocorre nestes animais, com redução de endogamia e maior variabilidade genética da população devido ao grande número de animais da espécie, o que é o inverso dos canídeos selvagens.

As figuras 6 e 7 mostram as principais alterações morfológicas verificadas nos espermatozoides dos cachorros-do-mato e dos cães domésticos.

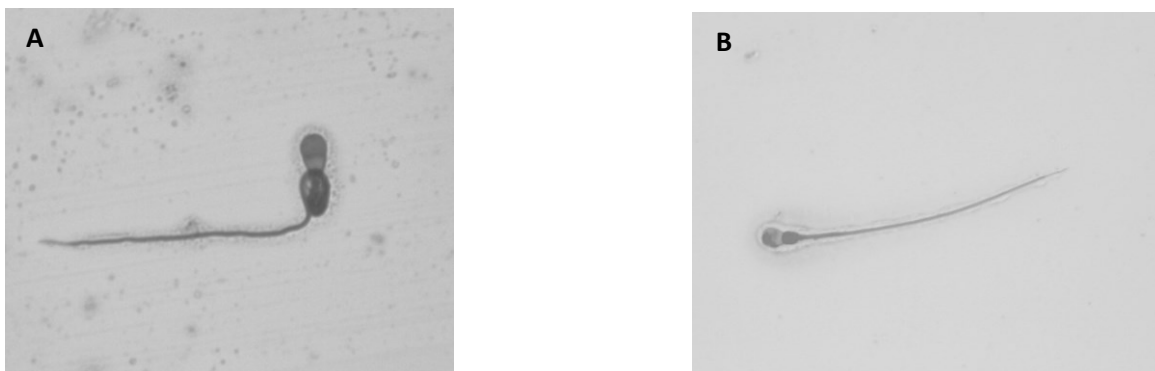


Figura 6. Alterações morfológicas dos espermatozoides de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). (A) cauda fortemente dobrada ou enrolada e (B) gota citoplasmática proximal e contorno anormal. Coloração Cerovsky. Aumento 1000 X.

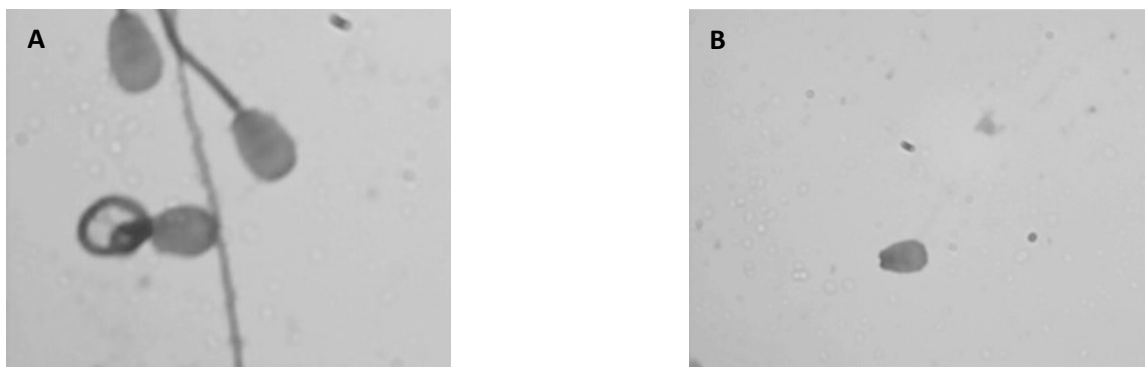


Figura 7. Alterações morfológicas dos espermatozoides de cão doméstico (*Canis lupus familiaris*). (A) cauda fortemente dobrada ou enrolada e (B) cabeça isolada normal.

Quando comparamos os valores das alterações individuais observamos uma grande variação entre as espécies. No cão silvestre as anormalidades de gota citoplasmática proximal ($11 \pm 5,35\%$) e contorno anormal ($8 \pm 3,84\%$) foram elevadas. No cão doméstico entretanto a gota citoplasmática proximal ($1,4 \pm 0,15\%$) e o contorno anormal ($0,6 \pm 0,20\%$) tiveram baixa incidência.

6. CONCLUSÃO

As dimensões das células espermáticas do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) foram muito próximas, mostrando que estes canídeos carregam características semelhantes também em seus espermatozoides, assim como em outros fatores reprodutivos.

Os espermatozoides dos cachorros-do-mato apresentaram alta taxa de anormalidades morfológicas comparado com o cão doméstico, assim como tipos diferentes de anormalidades, devido talvez a baixa variabilidade genética dos canídeos selvagens.

Os resultados desse estudo podem complementar o conhecimento sobre avaliação andrológica e características morfológicas dos espermatozoides de canídeos selvagens e domésticos, podendo contribuir na reprodução assistida destas espécies.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, A. A. Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. **Parasites & vectors**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2009.
- ANGERBJORN, A.; HERSTEINSSON, P.; TANNERFELDT, M. Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. SILLERO-ZUBIRI, C.; HOFFMANN, M.; MACDONALD, D. W.; editors. Gland; **Cambridge: IUCN/SSC**, p. 117–123, 2004.
- ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; OLIVEIRA, L. Z.; NASCIMENTO, J.; SILVA, D. F.; AFFONSO, F. J.; LEMES, K. M.; JAIMES, D. M. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 145-51, 2011.
- ASA, C. S.; VALDESPINO, C. Canid reproductive biology: an integration of proximate mechanisms and ultimate causes. **American Zoologist**, v. 38, n. 1, p.251-259, 1998.
- ASSUMPÇÃO, T. I.; MEDEIROS, A. P.; NOGUEIRA, G. P.; MACEDO, G. G. Características testiculares e seminais de cães da raça Australian Cattle Dog. **Anais: IV Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal**, p. 231-234, 2019.
- ASSUMPÇÃO, T. I.; SANTOS, A. L. Q.; CANELO, E. A. Biometria testicular e características morfológicas dos espermatozoides de cachorros-do-mato *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnivora, Canidae). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 24, n. 2, 2017.
- BANDEIRA, M. L. F.; LIMA, S. M. A.; VAZ, M. E. M.; YOUNG, R.J.; COELHO, C. M. Secret lives of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1815): as revealed by GPS tracking collars. **Journal of Zoology**, v. 271, n. 1, p. 27-36, 2007.
- BRADY, CHARLES, A. Reproduction, growth and parental care in crab-eating foxes *Cerdocyon thous* at the National Zoological Park, Washington. **International zoo yearbook**, 1978.
- BERTA, A. *Cerdocyon thous*. Mammalian species. **The American Society of Mammalogists**, n. 186, p. 1-4, 1982
- CARVALHO, J. C.; SILVA, F. E.; RIZZOTO, G.; DADALTO, C. R.; ROLIM, L. S.; MAMPRIM, M. J.; SOUZA, F. F.; TEIXEIRA, C. R.; KASTELIC, J. P.; FERREIRA, J. C. P. Semen collection, sperm characteristics and ultrasonographic features of reproductive tissues in crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). **Theriogenology**, v. 155, p. 60-69, 2020.
- CASTELO, T. S.; SILVA, A. R. Eletroejaculação em mamíferos silvestres: principais fatores que afetam sua eficiência. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, p. 208-213, 2014.
- CAZETTA, E.; GALETTI, M. The Crab-eating Fox (*Cerdocyon thous*) as a secondary seed disperser of *Eugenia umbelliflora* (Myrtaceae) in a Restinga forest of southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 9, p. 271-274, 2009.

CBRA (2013) Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**, 3 ed., Belo Horizonte: CBRA, p. 104, 2013.

CHEIDA, C. C.; NAKANO-OLIVEIRA, E.; FUSCO-COSTA, R.; ROCHA-MENDES, F.; QUADROS, J. ORDEM CARNIVORA. **Mamíferos do Brasil**, p. 437: il, 2006.

CHEREM, J. J.; KAMMERS, M.; GHIZONI-JR, I. R.; MARTINS, A. Mamíferos de médio e grande porte atropelados em rodovias do Estado de Santa Catarina, sul do Brasil. **Biotemas**, v. 20, n. 3, p. 81-96, 2007.

COSTA, L. P.; LEITE, Y. L. R.; MENDES, S. L.; DITCHFIELD, A. D. Mammal conservation in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 672-679, 2005.

CUMMINS, J. M.; WOODALL, P. F. On mammalian sperm dimensions. **Reproduction**, v. 75, n. 1, p. 153-175, 1985.

DEMATTEO, K. E.; PORTON, I. J.; KLEIMAN, D. G.; ASA, C. S. The effect of the male bush dog (*Speothos venaticus*) on the female reproductive cycle. **Journal of Mammalogy**, v. 87, n. 4, p. 723-732, 2006.

DIETZ, J. M. Mammalian species *Chrysocyon brachyurus*. **Mammalian Species**, 1-4, 1985.

FRANKLIN, A. D.; WADDELL, W. T.; GOODROWE, K. L. Red wolf (*Canis rufus*) sperm quality and quantity is affected by semen collection method, extender components, and post-thaw holding temperature. **Theriogenology**, v. 116, p. 41-48, 2018.

FRITZELL, E. K.; HAROLDSON, K. J. *Urocyon cinereo argenteus*. **Mammalian Species**, 1-8, 1982.

GUIMARÃES, L. D.; HAGE, M. C. F. N. S.; PAULA T. A. R.; BORGES, A. P. B.; CARRETTA, J. M.; OLIVEIRA, A. R.; CARNEIRO, F. T.; SILVA, V. H. D. Abdominal and pelvic ultrasound study of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 265-272, 2013.

HOLT, W. V.; BROWN, J. L.; COMIZZOLI, P. Reproductive science as an essential component of conservation biology. **Reproductive Sciences in Animal Conservation: Progress and Prospects**, p. 3-14, 2014.

ICMBIO, 2022. **Carnívoros-brasileiros**. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br>. Acessado em: 22 de setembro de 2023.

IRIARTE, A.; JAKSIC, F. Los carnívoros de Chile. Ediciones Flora & Fauna, **Centro de Estudios Avanzados en Ecología y Biodiversidad Pontificia Universidad Católica de Chile**, 2012.

JIMÉNEZ, J. E. Culpeo *Pseudalopex culpaeus* (Molina 1782). **Canids: Foxes, wolves, jackals and dogs, status survey and conservation action plan**, p. 44-49, 2004.

JOHNSTON SD.; WARD D.; LEMON J.; GUNN I.; MACCALLUM C A.; KEELEY T.; BLYDE D. Studies of male reproduction in captive African wild dogs (*Lycaon pictus*). **Animal Reproduction Science**, v. 100, n. 3-4, p. 338-355, 2007.

KUTZLER, M. A. Semen collection in the dog. **Theriogenology**, v. 64, n. 3, p. 747-754, 2005.

LOPES, K. R. F.; SILVA, R. A. Considerações sobre a importância do cão doméstico dentro da sociedade humana. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 3, p. 177-185, 2012.

LUCHERINI, M. *Cerdocyon Thous*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2015**. Glands: IUCN, 2015.

LUCHERINI, M.; PESSINO, M.; FARIAS, A. *Pseudalopex Gymnocercus*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2015**. Glands: IUCN. 63–8 p, 2004.

MACDONALD, D. W.; COURTENAY, O. Enduring social relationships in a population of crab-eating zorros, *Cerdocyon thous*, in Amazonian Brazil (Carnivora, Canidae). **Journal of Zoology**, v. 239, n. 2, p. 329-355, 1996.

MARQUET, P. A.; ESPINOZA, G.; ABADES, S. R.; GANZ, A.; REBOLLEDO, R. On the proportional abundance of species: Integrating population genetics and community ecology. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 16815, 2017.

MARTINS, M. M. Efeito da sazonalidade sobre a função testicular de cães. **Tese de doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu**, 89 p, 2005.

MASCARENHAS, R. M.; JÚNIOR, M. C.; BORBOLETA, L. R.; RIBEIRO, E. C. S.; BITTENCOURT, V. L.; PAULA, T. A. R. Condicionamento para coleta de sêmen através de manipulação digital em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*). In: **VI Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. Guarapari: Anais do VI Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens**, 2002.

MASCARENHAS, R. M.; PAULA, T. A. R.; BITTENCOURT, V. L.; CARRETTA, M.; JR, BALARINI, M. K.; PEIXOTO, J. V. Parâmetros e congelabilidade do sêmen de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*). **Anais do 17º Congresso do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, Curitiba, PR: CBRA, P. 70, 2007.

MORATO, R. G.; GUIMARÃES, M. A. B.V.; NUNES, A. L. V.; CARCIOFI, A. C.; FERREIRA, F.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C. Semen collection and evaluation in the jaguar (*Panthera onca*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, p. 178-181, 1998.

NASCIMENTO, P. S.; LEME, D. P. Reconhecimento dos comportamentos sexuais de fêmeas caninas por criadores de cães. **Trabalho de conclusão de curso. Centro de ciências agrárias, Florianópolis**, p. 35, 2018.

O'BRIEN, S. J.; ROELKE, M. E.; MARKER, L.; NEWMAN, A.; WINKLER, C. A.; MELTZER, D.; EVERMANN C. J. F.; BUSH, M.; WILDT D. E. Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. **Science**, v. 227, n. 4693, p. 1428-1434, 1985.

PAULA, T. A. R.; BITTENCOURT, V. L.; SANTOS, A. D. F.; LEITE, F. L. G.; COSTA, D. S.; COSTA, M. E. L. T.; MALTA, M. C. C.; BASTOS, J. A. B. Acompanhamento anual da concentração e patologias espermáticas de lobo-guará adulto (*Chrysocyon brachyurus*). **Anais do VI Congresso da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens**, Vitória, ES: ABRAVAS, p.89, 2002.

PAZ, R. C. R. Reprodução assistida em canídeos e procionídeos neotropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 77-82, 2015.

PINHEIRO, L. L.; BRANCO, E.; SOUZA, D. C.; PEREIRA, L. H. C.; LIMA, A. R. Descrição do plexo braquial do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766). **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, p. 213-219, 2014

PINTO, L. P.; BEDÊ, L.; PAESE, A.; FONSECA, M.; PAGLIA, A.; LAMAS, I. Mata Atlântica brasileira. Os desafios para a conservação da biodiversidade de um hotspot. In: **Essências em Biologia da Conservação**. São Carlos: Rima, p. 26, 2006.

PORTON, I. J.; KLEIMAN, D. G.; RODDEN, M. A seasonality of bush dog reproduction and the influence of social factors on the estrous cycle. **Journal of Mammalogy**, v. 68, n. 4, p. 867-871, 1987.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, IP. Mamíferos do Brasil. Londrina: **Universidade Estadual de Londrina**. 437 p, 2006.

RODDEN, M.; RODRIGUES, F.; BESTELMEYER, S. Lobo Guará (*Chrysocyon brachyurus*). SILLERO-ZUBIRI, C.; MACDONALD, D. W(ED.). Canids: foxes, wolves, jackals, and dogs: status survey and conservation action plan. **IUCN--The World Conservation Union**, 2004.

RODDEN, M.; RODRIGUES, F.; BESTELMEYER, S. *Chrysocyon brachyurus*. **IUCN Red List of Threatened Species**, v. 4, 2010.

ROELKE M. E.; MARTERSON, J. S.; O'BRIEN, S. J. The consequences of demographic reduction and genetic depletion in the endangered Florida panther. **Current Biology**, v. 3, n. 6, p. 340-350, 1993.

SECCO, P. M.; MOYA, C. F. Fisiologia reprodutiva básica da fêmea canina. **Editora in vivo**, p. 98, 2021.

SONGASEN, N.; RODDEN, M. D. The role of the species survival plan in maned wolf *Chrysocyon brachyurus* conservation. **International Zoo Yearbook**, v. 44, n. 1, p. 136-148, 2010.

SOUZA, N. P.; GUIMARÃES, L. D. A.; PAZ, R. C R. Dosagem hormonal e avaliação testicular em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) utilizando diferentes protocolos anestésicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 1224-1228, 2011.

TAHA, M. A.; NOAKES, D. E.; ALLEN, W. E. Some aspects of reproductive function in the male Beagle at puberty. **Journal of Small Animal Practice**, v. 22, n. 10, p. 663-667, 1981.

TORRECILHA, R. B. Varreduras Genômicas para a Detecção de Variantes Genéticas Associadas à Reprodução de Cães. **Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, P. 67, 2018.**

VALADÃO, R. M.; BASTOS, L. F.; CASTRO, C. P. Atropelamentos de vertebrados silvestres em quatro rodovias no Cerrado, Mato Grosso, Brasil. **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 12, p. 62-74, 2018.

VILELA, A. L.; LAMIM-GUEDES, V. A. Cães domésticos em unidades de conservação: impactos e controle. **Holos Environment**, v. 14, n. 2, p. 198-210, 2014

WILDT, D. E.; SEAGER, S. W.; CHAKRABORTY, P. K. Behavioral, ovarian and endocrine relationships in the pubertal bitch. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 182-191, 1981.