

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISABELA SANTOS ARAÚJO

PERFIL SEMINAL DE CÃES DA RAÇA SPITZ ALEMÃO CRIADOS EM CANIS

UBERLÂNDIA-MG

2026

Isabela Santos Araújo

PERFIL SEMINAL DE CÃES DA RAÇA SPITZ ALEMÃO CRIADOS EM CANIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Médico Veterinário.

Orientadora: Prof. Dra. Teresinha Inês de Assumpção

UBERLÂNDIA-MG

2026

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus. Sem Ele meus caminhos com a Medicina Veterinária não teriam se cruzado e eu não teria forças nem sabedoria para chegar até aqui.

Agradeço aos meus pais, Paula e Christian, que mesmo criando uma filha tão jovens, abdicaram de milhares de oportunidades para me dar a melhor educação possível, sonharam e batalharam para eu estar aqui hoje. Minha mãe, meu maior exemplo de mulher, ela que sempre lutou para ser a melhor em tudo, independentemente de onde estivesse, que foi meu colo nos momentos difíceis e que sempre sonhou em me ver formando na “casa” dela, a UFU. Meu pai, que batalhou em todos os dias de sua vida para eu chegar até aqui, que sempre me deu conselhos difíceis de escutar, mas necessários, e que me fez herdar o amor pelos animais desde muito cedo.

Aos meus avós, Maura e Eustáquio, que me receberam de braços abertos em sua casa todos os dias durante a graduação com um “almocinho” e que celebraram todas as minhas conquistas junto a mim. À minha avó, Marlene, que sempre esteve presente como uma segunda mãe para mim, que nunca mediu esforços para me ver feliz e que sempre foi um dos meus maiores exemplos de determinação.

Ao meu namorado, Rondon, meu companheiro nesses quase 5 anos. Ele que segurou a minha mão e me deu forças em todos os momentos difíceis da graduação, além de vibrar e torcer por todas as minhas conquistas e sonhos.

Aos animais que cruzaram meu caminho nessa vida e me fizeram apaixonar por essa profissão linda desde muito jovem. Em especial, minha Melzinha, ela que esteve comigo por 16 anos e que, onde quer que esteja, a sinto em meu coração todos os dias.

Às minhas melhores amigas, Maria Eduarda, Paola, Mariana e Maria Julia, que permaneceram ao meu lado em tantas fases da minha vida, me ensinam o verdadeiro significado de amizade e sempre celebram todas as minhas conquistas.

Aos criadores e proprietários dos canis que me receberam de portas abertas e que possibilitaram a realização desse projeto, em especial à Victoria Robilotti, que me “presenteou” com minha filha Frederica há cerca de 3 meses, me fazendo conhecer e apaixonar ainda mais por essa raça tão única!

À minha querida orientadora, Professora Dra. Teresinha Inês Assumpção, que mesmo com todos os seus compromissos acadêmicos me acompanhou em todas as visitas, “puxou minha orelha” quando precisei, me orientou com maestria e me deu oportunidades que nunca serei capaz de agradecer!

RESUMO

Os cães têm um importante papel no Brasil atualmente, e a raça canina Spitz Alemão é uma das mais registradas no país, além de que a comercialização de material genético destes animais cresce exponencialmente. Considerando os limitados dados na literatura acerca do exame andrológico dessa raça, esse estudo teve como objetivo avaliar o perfil seminal e as especificidades andrológicas de cães da raça Spitz Alemão. Foram utilizados ejaculados de 15 cães com idade entre 1,6 e 9 anos, sendo a colheita feita pela técnica de manipulação digital. As análises físicas, cinéticas e morfológicas do sêmen dos animais foram as de rotina preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, sendo que a média de idade obtida foi de $50 \pm 26,17$ meses e as médias dos parâmetros seminais foram de: motilidade $77,3 \pm 10,3\%$, vigor $2,93 \pm 0,45$, concentração $68,78 \pm 62,85$ milhões de espermatozoides/ml, total de defeitos $20,4 \pm 12,42\%$; além de que o volume testicular para os animais classificados como anões foi de $2,26 \pm 0,36 \text{ cm}^3$ e para os pequenos foi de $5,59 \pm 2,15 \text{ cm}^3$. Nesse sentido, os cães da raça Spitz Alemão avaliados demonstraram, no geral, um bom potencial de produção e de qualidade dos seus espermatozoides.

PALAVRAS-CHAVES: Espermograma, canino, reprodução, sêmen.

ABSTRACT

Dogs currently play an important role in Brazil, and the German Spitz is one of the most registered dog breeds in the country. Furthermore, the commercialization of genetic material from these animals has grown exponentially. Considering the limited information available in the literature regarding the andrological examination of this breed, this study aimed to evaluate the seminal profile and andrological characteristics of German Spitz dogs. Ejaculates from 15 dogs aged between 1.6 and 9 years were collected by digital manipulation. Physical, kinetic, and morphological semen evaluations were performed according to the routine procedures recommended by the Brazilian College of Animal Reproduction. The mean age of the animals was 50 ± 26.17 months, and the mean seminal parameters were as follows: motility, $77.3 \pm 10.3\%$; vigor, 2.93 ± 0.45 ; sperm concentration, 68.78 ± 62.85 million spermatozoa/mL; and total sperm defects, $20.4 \pm 12.42\%$. In addition, the mean testicular volume was 2.26 ± 0.36 cm³ for dogs classified as toy-sized and 5.59 ± 2.15 cm³ for those classified as small-sized. Overall, the evaluated German Spitz dogs demonstrated good sperm production potential and satisfactory semen quality.

KEYWORDS: Spermogram, canine, reproduction, semen.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Domesticação e raças dos cães.....	6
2.2 Spitz Alemão.....	6
2.3 Métodos de coleta de sêmen em cães.....	8
2.4 Exame andrológico.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Animais e local de execução	13
3.2 Análise do volume testicular	13
3.3 Coleta, preparação e análise das amostras.....	14
3.4 Análise estatística.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS	21

1 INTRODUÇÃO

Na atualidade, os cães representam um papel importante na sociedade e na economia brasileira, tendo em vista a sua presença na maioria das residências. Levantamentos oficiais mostram que atualmente existem mais lares com cães e gatos do que com filhos de até 14 anos, o que demonstra uma mudança significativa nas famílias do país. Além disso, é possível estimar que, no Brasil, a população de cães chega a pelo menos 55,1 milhões de animais (ABEMPET, 2025), evidenciando a magnitude do setor veterinário de animais de companhia na contemporaneidade.

Segundo pesquisas realizadas pela Confederação Brasileira de Cinofilia (CBKC), em 2023 as raças preferidas entre os brasileiros foram: Spitz Alemão, mais especificamente a variação anã; Rottweiler e Golden Retriever. No Brasil, no ano de 2019, houve o registro de 120.651 cães de raça, sendo que destes, aproximadamente 20% foram de Spitz Alemão (CBKC, 2019). Além disso, essa raça liderou a emissão de pedigrees até outubro de 2025 (CBKC, 2025), o que demonstra a grande relevância dos Spitz Alemães no país.

A raça Spitz Alemão, ou *Deutsche Spitze* em alemão, é descendente do *Lake Dweller's Spitz* e do *Torfhund*, antigas raças presentes na Europa Central. É uma raça com registros há mais de dois mil anos no continente europeu (FCI, 2013). Atualmente o Spitz Alemão é classificado de acordo com a sua altura de cernelha, apresentando variações de uma mesma linhagem, como: Spitz Lobo, a maior variação; Spitz Alemão Grande; Spitz Alemão Médio; Spitz Alemão Pequeno; e Spitz Alemão Anão, popularmente conhecido como Lulu da Pomerânia (CBKC, 2024).

De acordo com a CBKC (2024), os Spitz Alemães têm sua criação voltada principalmente para a companhia. No entanto, essa atividade se torna cada vez mais comercial, não apenas pela venda de filhotes, mas também pela comercialização do sêmen desses animais. Logo, se faz necessária a existência de profissionais capacitados para atender esse setor do mercado (Silva e Brito, 2023).

Nesse sentido, os profissionais da área de reprodução animal devem aconselhar os criadores de animais, a fim de se trazer melhoramentos genéticos na raça, como melhores índices reprodutivos, controle de doenças hereditárias e aumento da fertilidade (Lage et al., 2005). Portanto, para selecionar os melhores reprodutores deve-se realizar o exame andrológico dos animais (CBRA, 2013).

Em decorrência dos poucos dados na literatura acerca do exame andrológico e dos parâmetros físicos, cinéticos e morfológicos do sêmen de cães da raça Spitz Alemão, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil seminal destes animais, buscando identificar possíveis particularidades reprodutivas da raça, além de contribuir para o aprimoramento das práticas de manejo reprodutivo e da seleção de reprodutores.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Domesticação e raças dos cães

Os cães foram os primeiros mamíferos a serem domesticados e, de acordo com estudos arqueológicos, convivem com o ser humano desde o período Mesolítico (Freedman et al., 2014). Segundo Ostrander (2017), a domesticação pode ser dividida em duas fases: a evolução do lobo-cinzento holártico (*Canis lupus*) ao cão primário e o aperfeiçoamento dos cães nativos para as diferentes raças modernas.

Nesse sentido, existem evidências de que a transformação do lobo em cão se deve principalmente às mudanças alimentares, visto que com o desenvolvimento da agricultura pré-histórica e a implementação de alimentos com amido, os cães puderam prosperar, já que eles eram mais bem adaptados a essa dieta do que os lobos (Axelsson et al., 2013). Além disso, nos últimos séculos, houve melhorias no processo de reprodução para o desenvolvimento de raças, a partir do processo de seleção artificial, a fim de desempenhar funções especializadas nas sociedades (Freedman e Wayne, 2017).

Atualmente, existem mais de 400 raças de cães, com diferentes fenótipos morfológicos e comportamentais, os quais foram criados a partir das necessidades das atividades humanas. De acordo com Zhe (2020), as raças de cães podem ser classificadas em seis diferentes categorias, de acordo com suas habilidades de pastoreio, caça, obediência e guarda, e são elas: cães de companhia, cães de ponte, cães de trabalho, cães pastores, cães farejadores e *terriers*.

2.2 Spitz Alemão

Os ancestrais dos Spitz Alemães surgiram entre os *Vikings* em meados de 1450, pela necessidade de cães pastores de ovelhas e puxadores de trenós, sendo descendentes do *Lake Dweller's Spitz* e do *Torfhund* e apresentando características semelhantes às dos lobos, como orelhas pequenas e subpelo isolante. Nesse sentido, registros históricos demonstram que os povos *Vikings* levaram esses cães para a Alemanha e para a Holanda na Idade Média, onde

esses animais foram cruzados com outros cães de pastoreio, criando a base genética da raça Spitz Alemão (Leo, 2022).

Na Inglaterra, no século XVIII, a raça ganhou popularidade após a rainha Charlotte trazer da Alemanha seus cães Spitz Alemães, os quais apresentavam cerca de nove quilos, o padrão da época. Seu filho, o rei George IV, deu continuidade a essa tradição real, sendo que os cães estiveram presentes em diversas pinturas reais (Allegri, 2021). Entretanto, no século XIX, a raça Spitz Alemão alcançou sua maior popularidade com o reinado da rainha Victoria, neta da rainha Charlotte, a qual adquiriu exemplares de diversas partes da Europa e deu início a sua própria criação desses animais, os quais apareciam rotineiramente junto a ela e em seus retratos reais (Leo, 2022). A relevância da criação foi tão grande, que no mesmo ano de início do seu canil, a raça foi registrada pela primeira vez no livro de genealogia do American Kennel Club (AKC), o maior e mais antigo clube de registro genealógico dos Estados Unidos (Allegri, 2021). Já a Federação Cinológica Internacional (FCI), a maior organização canina mundial, escreveu o primeiro padrão para a raça Spitz Alemão em janeiro de 1957, quando descreveu que o país patrono dessa raça era a Alemanha.

De acordo com a Confederação Brasileira de Cinofilia (CBKC, 2024), representante oficial da FCI no Brasil, o Spitz Alemão está inserido no grupo 5, na sessão 4, denominada “Spitz Europeu”. Além disso, seu último padrão oficial foi descrito em 2024, sendo ele: Spitz Lobo / *Keeshond*, Spitz Alemão Grande, Spitz Alemão Médio, Spitz Alemão Pequeno e Spitz Alemão Anão / Pomerânia.

Nesse sentido, é detalhado que o Spitz Lobo possui altura de cernelha de 49 centímetros $\pm$ 6 centímetros, além de coloração cinza sombreada. Já o Spitz Alemão Grande apresenta 45 cm $\pm$ 5 cm de altura de cernelha e as colorações branca, preta e marrom. O Spitz Alemão Médio tem 35 cm $\pm$ 5 cm e o Spitz Alemão Pequeno tem 27 cm $\pm$ 3 cm de altura de cernelha, mas ambos os grupos podem apresentar as mesmas colorações, sendo elas: branca, preta, marrom, laranja, cinza sombreada e outras. Já o Spitz Alemão Anão / Pomerânia possui 21 cm $\pm$ 3 cm de altura na cernelha e pode ser branco, preto, marrom, laranja, cinza sombreado ou de outras cores (CBKC, 2024). Independentemente da classificação dentro do padrão da raça, os machos da raça Spitz Alemão devem apresentar os dois testículos, sendo eles de aparência normal, bem descidos e inseridos na bolsa testicular, além de especificar que só deverão ser utilizados para reprodução animais saudáveis de forma clínica e funcional e que apresentem a conformação típica dessa raça (ibid.).

Entretanto, apesar da popularidade da raça e dos dados explicitamente detalhados pela CBKC, ainda existem lacunas na literatura quanto às suas características reprodutivas, especialmente relacionadas ao perfil seminal, o que reforça a importância de estudos voltados para a avaliação andrológica desses animais.

2.3 Métodos de colheita de sêmen em cães

2.3.1 Manipulação digital

A manipulação digital ou manipulação peniana é a técnica mais utilizada quando se deseja colher sêmen de cães. Para a sua realização em condições ideais, ela é realizada na presença de uma cadela em estro, visto que a fêmea contribui para a excitação do macho. No entanto, isso é dispensável para se obter uma amostra de qualidade, sendo essencial a eliminação de fatores de estresse e de distração, além de favorecer um ambiente de tranquilidade ao animal, já que o medo estimula a liberação de adrenalina, a qual inibe a ereção e ejaculação completa pelo cão (Kutzler, 2005).

Esse método de colheita se baseia em inicialmente massagear o pênis do animal, a nível do bulbo da glândula, ou seja, na porção mais caudal do prepúcio, até que ocorra uma ereção parcial do pênis. Em seguida, se realiza uma pressão firme atrás do bulbo peniano, por meio dos dedos indicador e polegar, de maneira a mimetizar a vagina durante uma cópula. Dessa forma, ocorre a ereção completa e o cão tende a rotacionar o pênis em 180°, como em condições fisiológicas, o que pode ser observado pela elevação de um dos membros posteriores sobre o braço do coletor. Logo, o indivíduo que realiza a manipulação deve permanecer efetuando a pressão sobre o pênis até o fim da ejaculação (Begum e Bhuvaneshwari, 2018).

O ejaculado possui três frações distintas, sendo elas: primeira fração (pobre em espermatozoides), segunda fração (rica em espermatozoides) e terceira fração (fluido prostático) (Kutzler, 2005).

2.3.2 Eletroejaculação

A eletroejaculação é uma técnica de colheita utilizada para cães que não aceitam a manipulação, como canídeos selvagens ou cães agressivos, visto que ela é realizada com o animal sob sedação. Nesse sentido, o animal é anestesiado, normalmente com a associação de cetamina e xilazina. Em seguida, com auxílio de lubrificação, se insere uma probe no reto do cão, a qual possui medidas proporcionais ao tamanho do animal, de forma ventral em relação

ao seu corpo a fim de que fique em contato com a próstata e estimule sua ejaculação (Cazes, 2006).

Essa técnica se demonstra segura, mas não tem sido muito utilizada já que apresenta ejaculados de grande volume e baixa concentração espermática quando comparada com outras técnicas (Paz, 2021). Além disso, esse método apresenta um problema frequente em canídeos: a contaminação do ejaculado por urina; pois devido a anestesia do animal ocorre também a dilatação do esfíncter da vesícula urinária, fazendo com que a urina seja liberada juntamente com o sêmen (Nagashima e Songsasen, 2021).

2.3.3 Colheita epididimária

A colheita de espermatozoides no epidídimo se baseia na retirada de células espermáticas diretamente na cauda do epidídimo, através de lavagem (*flushing*), compressão (*squeezing*) ou fatiamento (*slicing*). Nesse sentido, essa técnica é importante para animais de alto valor genético, os quais já passaram pelos processos de orquiectomia e animais que vieram a óbito, visto que os espermatozoides presentes no epidídimo possuem capacidade fecundante (Paz, 2021).

2.3.4 Colheita farmacológica

A colheita farmacológica de sêmen é uma técnica recente que surgiu como um método alternativo, e é baseada na administração de fármacos como: Detomidina, Medetomidina e/ou Dexmetomidina; os quais são α -adrenérgicos que atuam em α -adrenoreceptores, e determinam a contração dos ductos deferentes, ocasionando na liberação de espermatozoides na uretra sem ejaculação (Macdonald e Mcgrath, 1980).

Em cães essa técnica foi descrita a partir do protocolo anestésico de associação de Dexmetomidina (15 μ g/kg) e Cetamina (3 mg/kg) (Kuczmarski et al., 2020), além de que antes do procedimento anestésico deve-se esvaziar a vesícula urinária desses animais, a fim de se evitar a contaminação da amostra de sêmen por urina (Paz, 2021). Após 20 minutos da administração dos fármacos, se insere um cateter uretral no cão até a região pré-prostática, o qual deve ser mantido durante um minuto na uretra, e em seguida, rolado cuidadosamente e retirado. Nesse sentido, a distância do cateter uretral repleta por líquido seminal pode indicar o volume total de sêmen coletado, sendo que: 1 centímetro = 12 μ L de sêmen (Kuczmarski et al., 2020).

2.4 Exame andrológico

O exame andrológico é indicado para avaliar a capacidade reprodutiva do macho antes da cópula, da inseminação artificial, da conservação de material genético ou, até mesmo, para a seleção de reprodutores e diagnóstico de infertilidade (Santos et al., 2016). Nesse sentido, esse exame é baseado na avaliação criteriosa da saúde geral, saúde genética e saúde do sistema genital do animal, portanto, avalia *potencia coeundi* e *potencia generandi* (CBRA, 2013).

De acordo com o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013), a avaliação no exame andrológico deve ter como etapa inicial a identificação do paciente e do seu responsável. Logo em seguida, deve ser realizada a anamnese, em que serão coletadas informações importantes sobre o animal, como: hábitos alimentares, histórico de doenças, de vacinações e de terapias medicamentosas, viagens anteriormente realizadas, além de questionamentos sobre cópulas anteriores e qualidade seminal (Johnston et al., 2001). Após a anamnese, se passa para o exame físico, exame reprodutivo, coleta e avaliação do sêmen, seguida pelo diagnóstico e emissão do laudo pelo médico veterinário (CBRA, 2013).

2.4.1 Volume testicular

A avaliação do volume testicular dos cães é de extrema importância, visto que cerca de 70% a 80% da massa do testículo é composta de túbulos seminíferos, ou seja, essa medida se relaciona com a espermatogênese (Santos et al., 2018).

Para a obtenção do valor do volume dos testículos, se utiliza da ultrassonografia ou do método mais simples, confiável e barato: o paquímetro; a fim de se adquirir o comprimento, a largura e a altura desses órgãos (Bailey, 1998). Para obtenção do volume testicular utiliza-se a fórmula: $\text{volume} = \text{comprimento} \times \text{largura}^2 \times 0,524$ (Johnston et al., 2007), sendo que o volume total é equivalente a soma dos testículos direito e esquerdo.

2.4.2 Espermograma

O espermograma pode ser definido como uma das etapas do exame andrológico em que se realiza a análise específica do sêmen do animal. Portanto, após a coleta do sêmen do cão, nessa etapa ele é avaliado de forma macroscópica e de forma microscópica. Macroscopicamente se avalia: volume, cor, aspecto e odor; e microscopicamente deve-se avaliar: concentração, motilidade, vigor e morfologia espermática (CBRA, 2013).

2.4.2.1 Volume

O volume de sêmen coletado é variável de acordo com a idade, a raça e o porte do animal, além da frequência de coleta (Santos et al., 2016). De acordo com o CBRA (2013), o volume total de sêmen canino pode variar entre 1,5 e 8 ml, sendo que: a primeira fração, basicamente líquido prostático e de volume bastante variável, tem 0,5-2 ml de maneira geral; a segunda fração, rica em espermatozoides, varia de 0,5-1,0 ml, podendo chegar até 3 ml; a terceira fração, basicamente secreção prostática, possui volume variável (Silva et al., 2002).

2.4.2.2 Cor

A coloração do sêmen é avaliada mediante observação macroscópica, ou seja, por inspeção visual. Nesse sentido, sabe-se que a segunda fração, rica em espermatozoides, possui coloração branca opalescente em condições normais. No entanto, dentre os casos de colorações alteradas mais comuns, pode-se citar: sêmen claro, indicativo de azoospermia; sêmen amarelado, devido à contaminação por urina; sêmen acastanhado/amarronzado, característico de afecções prostáticas; sêmen avermelhado, indicativo de sangue por lesão peniana ou prostática; sêmen esverdeado, devido à infecções ou contaminação (Krustritz, 2010).

2.4.2.3 Aspecto e odor

De acordo com o CBRA (2013), o sêmen de cães pode apresentar aspecto viscoso ou seroso, conforme sua concentração, além de possuir odor *sui generis*.

2.4.2.4 Motilidade espermática

A motilidade espermática pode ser avaliada como a porcentagem de espermatozoides móveis, podendo ser total ou progressiva (CBRA, 2013). A motilidade é estritamente relacionada com o percentual de espermatozoides morfolologicamente normais (Agarwal et al., 2003), além de que amostras de sêmen fresco e congelado devem demonstrar $\geq 70\%$ e $\geq 50\%$ de motilidade, respectivamente (CBRA, 2013).

Para a avaliação da motilidade espermática, pode-se fazer do uso de duas técnicas: a análise pelo microscópico óptico ou a análise computadorizada (CASA). Portanto, com a utilização do microscópico óptico, deve-se inserir uma gota de sêmen entre lâmina e lamínula aquecidas e avaliar o percentual de espermatozoides móveis nos aumentos de 100 ou de 400x (Nelson e Couto, 2015). Já a técnica de análise computadorizada (CASA) foi criada para corrigir as subjetividades e padronizar a avaliação, em relação à microscopia, visto que a análise é realizada por um software que rastreia individualmente os espermatozoides (Martinez, 2004).

2.4.2.5 Vigor espermático

O vigor espermático pode ser definido como a qualidade ou intensidade do movimento dos espermatozoides móveis, sendo classificados em uma escala de 1-5 (1-Exclusivamente oscilatório, 2- Lento, 3- Intermediário, 4- Progressivo retilíneo rápido e 5- Progressivo retilíneo muito rápido). Conforme o CBRA (2013), o vigor do sêmen canino deve ser de no mínimo 3, fresco ou congelado.

2.4.2.6 Concentração espermática

A concentração espermática pode ser definida como o número de espermatozoides por mililitro de sêmen. Nesse sentido, é essencial que essa característica seja avaliada apenas na segunda fração, já que ela é rica em espermatozoides e nas outras frações há diluição por líquido prostático (Santos et. al, 2016). Além disso, de acordo com o CBRA (2013), a concentração pode ser avaliada por três métodos: espectrofotometria, análise computadorizada e contagem de células por meio de microscópio óptico com câmara de Neubauer.

Em relação ao sêmen canino, a concentração espermática normalmente se encontra entre $247 \pm 9,9$ milhões de espermatozoides/mL (Silva et al., 2002). A concentração pode variar entre animais devido à certas condições, como: incapacidade de produzir ou ejacular espermatozoides (azoospermia), em que se coleta apenas plasma seminal (Johnson, 2006); ou baixa produção de espermatozoides (oligozoospermia), a qual pode ocorrer em cães pré-púberes, geriátricos ou por excesso de coleta (Johnston et al., 2001).

2.4.2.7 Morfologia espermática

A análise da morfologia dos espermatozoides é de suma importância para o espermograma, visto que alterações morfológicas se relacionam com a diminuição na motilidade e consequente redução de capacidade de fertilizar o oócito (Krustritz, 2010). Os métodos preconizados para realizar essa análise são: esfregaço corado e preparação úmida (Santos et. al, 2016).

Para a realização do esfregaço corado, se faz a coloração de lâminas com corantes específicos, sendo os mais utilizados para sêmen canino: Eosina-Nigrosina, Rosa Bengala, Vermelho Congo, entre outros (CBRA, 2013). Após a coloração, se observa as células espermáticas em microscópio óptico, a um aumento de 1000x sob imersão, e se conta no mínimo 200 células, a fim de classificá-las de acordo com seus defeitos. Entretanto, para a preparação úmida, se insere uma gota de sêmen diluída em uma lâmina a qual é coberta por lamínula, a fim de se realizar a análise em um microscópio de contraste de fase (ibid.).

As anormalidades espermáticas podem ser classificadas em defeitos maiores, ou seja, relacionados ao processo de espermatogênese, e em defeitos menores, relacionados à maturação no epidídimo, além de que também podem ser classificadas em defeitos de estrutura ou de forma (Blom, 1972). Os defeitos maiores de estrutura são: defeito de acrossoma, gota citoplasmática proximal, cabeça com *pouch formation*, pseudogota e defeitos de peça intermediária; e os defeitos maiores de forma são: subdesenvolvido, cabeça isolada patológica, cabeça estreita na base, piriforme, cabeça pequena anormal, cabeça com contorno anormal e formas teratológicas. Já os defeitos menores de estrutura são: acrossoma desprendido, gota distal, cauda dobrada, cauda enrolada e cabeça isolada normal; e os defeitos menores de forma são: cabeça delgada, cabeça pequena normal, gigante, curta, larga, abaxial, retroaxial e oblíqua (Galinkin, 2014).

De acordo com o CBRA (2013) os padrões mínimos exigidos para o sêmen de um cão é de no mínimo 70% de espermatozoides normais na análise morfológica, tanto para sêmen fresco quanto para congelado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e local de execução

Foram utilizados 15 cães da raça Spitz Alemão, sendo 9 categorizados como “anões” e 6 como “pequenos”, com idades variadas entre 1,6 e 9 anos, e provenientes de canis das cidades de Uberlândia-MG e Monte Alegre-MG. Os animais foram avaliados e classificados como clinicamente saudáveis, mantidos sob condições semelhantes de manejo, alimentação e ambiente, a fim de minimizar interferências nos parâmetros avaliados.

As colheitas foram realizadas nos canis onde os animais habitam, sendo que as análises de motilidade e vigor do sêmen foram realizadas logo após a colheita, no mesmo local, e as demais análises espermáticas foram realizadas no Laboratório de Reprodução Animal (LARAN) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia.

3.2 Análise do volume testicular

Os testículos dos animais foram avaliados quanto às suas dimensões com o auxílio de paquímetro, obtendo os valores de comprimento (c) e largura (l). Para o cálculo do volume foi utilizada a fórmula: $\text{Volume} = c \times l^2 \times 0,524$, sendo que o volume total é equivalente a somatória dos valores do testículo direito e do esquerdo (Johnston et al., 2007).

3.3 Colheita, preparação e análise das amostras

3.3.1 Colheita do ejaculado

As amostras de sêmen foram colhidas por meio da técnica de manipulação digital, sob as mesmas condições e métodos de assepsia, além da presença de fêmea em estro. Inicialmente realizou-se a limpeza do prepúcio dos animais com solução fisiológica, seguida de massagem do pênis até ocorrer a ereção. Posteriormente, foi feita uma compressão firme no bulbo peniano, com os dedos indicador e polegar, até a ejaculação do animal. O ejaculado foi colhido em seu volume total em um becker de 50 ml aquecido a 37°C, visto o pequeno porte dos animais e o baixo volume de sêmen disponível.

3.3.2 Análises física e morfológica do sêmen

As amostras de sêmen dos cães foram analisadas, de forma física e morfológica, seguindo as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), sendo preconizado que o sêmen canino deve possuir motilidade progressiva de no mínimo 70%, vigor de no mínimo 3,0, concentração de 20 a 300 milhões de espermatozoides/ml e porcentagem de células espermáticas normais $\geq 70\%$.

Logo após a coleta das amostras, foram realizadas as análises da motilidade progressiva e do vigor espermáticos, inserindo, por meio de tubo capilar, uma gota de sêmen em lâmina de vidro recoberta por lamínula aquecida a 37°C e avaliando em microscopia óptica em um aumento de 400X. No laboratório, com as amostras diluídas na proporção 1:100 em solução de formol salina, foi avaliada a concentração espermática sob microscopia óptica, utilizando câmara de Neubauer.

Para a análise morfológica do sêmen, utilizou-se a técnica do esfregaço corado com corante Rosa Bengala, além da análise em câmara úmida sob microscopia de contraste de fase, para fins de comparação, haja vista a possibilidade de artefatos com tal corante. A avaliação foi feita em aumento de 1000X sob imersão e foi realizada a contagem de 200 células, classificando-as quanto aos seus defeitos individuais.

3.4 Análise estatística

Foram calculadas as médias de todas as variáveis analisadas: idade, volume testicular, motilidade espermática, vigor espermático, concentração espermática e morfologia espermática; sendo que estas foram expressas em média e desvio padrão (média $\pm$ DP).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cães da raça Spitz Alemão analisados possuíam idade superior a 1,5 anos, com uma média geral de $50 \pm 26,17$ meses, ou seja, cerca de 4 anos, e já haviam atingido a sua maturidade sexual. A tabela 1 mostra as médias obtidas para motilidade, vigor, concentração e alterações morfológicas espermáticas totais.

Tabela 1 - Análises físicas e morfológicas de sêmen dos cães da raça Spitz Alemão.

PARÂMETRO	Média $\pm$ DP
Motilidade (%)	$77,3 \pm 10,3$
Vigor (1-5)	$2,93 \pm 0,45$
Concentração (milhões/ml)	$68,78 \pm 62,85$
Total de defeitos (%)	$20,4 \pm 12,42$

A porcentagem média da motilidade progressiva dos animais foi de $77,3 \pm 10,3$ %, o que se encontra dentro do padrão preconizado pelo CBRA (2013), já que em cães esse parâmetro deve ser de no mínimo 70% para serem considerados aptos para a reprodução. Valores de motilidade semelhantes aos deste estudo foram obtidos por Galinkin (2014) em uma pesquisa com 57 cães de 18 raças distintas, na qual obteve-se motilidade progressiva média de 80%, e por Barbosa et al. (2017) em um estudo com 10 cães da raça Spitz Alemão, com idade média de $40,5 \pm 25,6$ meses, em que encontraram motilidade progressiva média de $82,5 \pm 6,5$ %.

Em relação ao vigor, o valor médio obtido para Spitz Alemães foi de $2,93 \pm 0,45$, sendo que o indicado pelo CBRA (2013) é que seja de no mínimo 3,0 para um sêmen canino de boa qualidade. Medeiros (2018) obteve um valor médio de vigor em cães da raça Australian Cattle Dog de $3,09 \pm 0,34$ e Barbosa et al. (2017) verificaram um valor médio de vigor para Spitz Alemães de $4,3 \pm 0,70$, demonstrando valores levemente superiores aos encontrados nesta pesquisa.

No presente estudo, observou-se grande variação na concentração do sêmen dos animais, visto que os valores extremos encontrados foram de 3×10^6 espermatozoides/ml e $228,5 \times 10^6$ espermatozoides/ml, com média de $68,78 \pm 62,85$ milhões de espermatozoides/ml. De acordo com o CBRA (2013), a concentração desejável para sêmen canino é de 20 a 300 milhões de espermatozoides/ml. Além disso, Barbosa et al. (2017) encontraram concentrações entre 165×10^6 e 396×10^6 espermatozoides/ml para cães da raça Spitz Alemão, valores bem elevados em comparação aos desta pesquisa.

Obteve-se um alto valor de desvio padrão das concentrações seminais, o qual é um reflexo da ampla variação dessa característica seminal entre os animais analisados. Os valores de concentração abaixo do que é preconizado para a espécie e as diferenças de resultados com os estudos análogos, podem ser justificados por fatores individuais, como frequência de coleta, idade e volumes testiculares.

Em relação ao volume testicular, para o cálculo do valor médio foram separados aqueles animais categorizados como “anões”, ou seja, com $21\text{ cm} \pm 3\text{ cm}$ de altura na cernelha, daqueles ditos como “pequenos”, ou seja, com $27\text{ cm} \pm 3\text{ cm}$ de altura de cernelha, visto que o tamanho corporal do cão tem uma relação direta com o tamanho testicular. O volume testicular médio obtido para os Spitz Alemães Anões foi de $2,26 \pm 0,36\text{ cm}^3$ e para os Spitz Alemães Pequenos foi de $5,59 \pm 2,15\text{ cm}^3$.

Zeller et al. (2019), em um estudo com 41 cães de raças pequenas, apresentaram o volume médio do testículo esquerdo e do testículo direito para cães com peso $\leq 5\text{ kg}$, sendo de 2,8 ml e 2,7 ml, respectivamente. Nesse sentido, para fins comparativos, os resultados foram similares aos obtidos na presente pesquisa, pois os Spitz Alemães Pequenos apresentaram volume médio do testículo esquerdo de $2,9 \pm 1,2\text{ cm}^3$ e do testículo direito de $2,7 \pm 1,0\text{ cm}^3$.

A tabela 2 mostra as médias obtidas das patologias espermáticas observadas nos cães da raça Spitz Alemão deste estudo. Já a figura 1 mostra o total de defeitos maiores, menores e totais do sêmen desses animais.

Tabela 2 – Porcentagem média das alterações morfológicas no sêmen dos cães Spitz Alemão.

DEFEITO	Média ± DP (%)
Acrossoma	1 ± 0
Gota citoplasmática proximal	7,7 ± 13,37
Cabeça pequena anormal	1 ± 0
Cabeça com contorno anormal	2,84 ± 1,57
Outros defeitos de P.I.	2,2 ± 1,09
Cauda fort. dobrada/enrolada	6 ± 3,69
Total Defeitos Maiores	13,4 ± 11,8
Gota distal	3 ± 1,80
Cabeça isolada normal	2,33 ± 1,15
Cauda dobrada	2,91 ± 1,83
Cauda enrolada	2,69 ± 2,68
Total Defeitos Menores	6,9 ± 3,2
Total de defeitos	20,4 ± 12,42

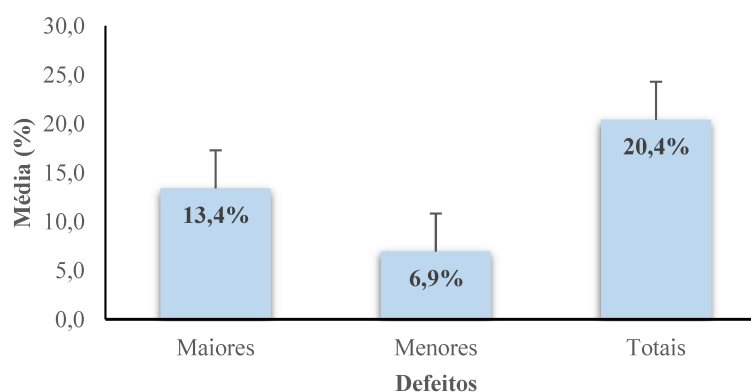


Figura 1 - Média dos defeitos maiores, menores e totais dos espermatozoides no sêmen dos cães Spitz Alemão.

Nas alterações da morfologia espermática, obteve-se uma média total de $20,4 \pm 12,42\%$ espermatozoides com defeitos, sendo que houve uma maior incidência de gota citoplasmática proximal ($7,7 \pm 13,3 \%$) e cauda fortemente enrolada/dobrada ($6,0 \pm 3,7 \%$). A alta quantidade de células com gota citoplasmática proximal é um indicativo de falhas no processo de maturação epididimária, em que deveria ocorrer a migração dessa gota, possivelmente devido a degenerações testiculares, estresse térmico, doenças sistêmicas, defeitos genéticos e hereditários ou por imaturidade sexual (Angrimani et al., 2017). Além disso, a alta incidência

de cauda fortemente enrolada/dobrada também pode ser em decorrência de alterações na espermatogênese ou na maturação epididimária (CBRA, 2013). Portanto, esses defeitos devem ser interpretados em conjunto com o histórico clínico do animal e os demais parâmetros seminais.

De acordo com a CBRA (2013), um sêmen canino de boa qualidade deve possuir $\geq 70\%$ de células espermáticas normais. Nesse sentido, a média de patologias espermáticas dos animais do presente estudo (20,4%) está dentro do valor referencial. Dos 15 animais avaliados, apenas um apresentou elevada patologia espermática (61%), com relevância para o defeito de gota citoplasmática proximal (45%), sendo que ele era categorizado como anão e possuía uma idade de 2 anos e 2 meses. Ademais, Barbosa et al. (2017) encontraram valores acima dos encontrados nesse presente estudo em cães Spitz Alemão, com média de $22,5 \pm 3,5\%$ para defeitos maiores e $11,5 \pm 4,9\%$ para defeitos menores.

A figura 2 mostra a morfologia normal e as anormalidades espermáticas encontradas no sêmen dos cães Spitz Alemão.

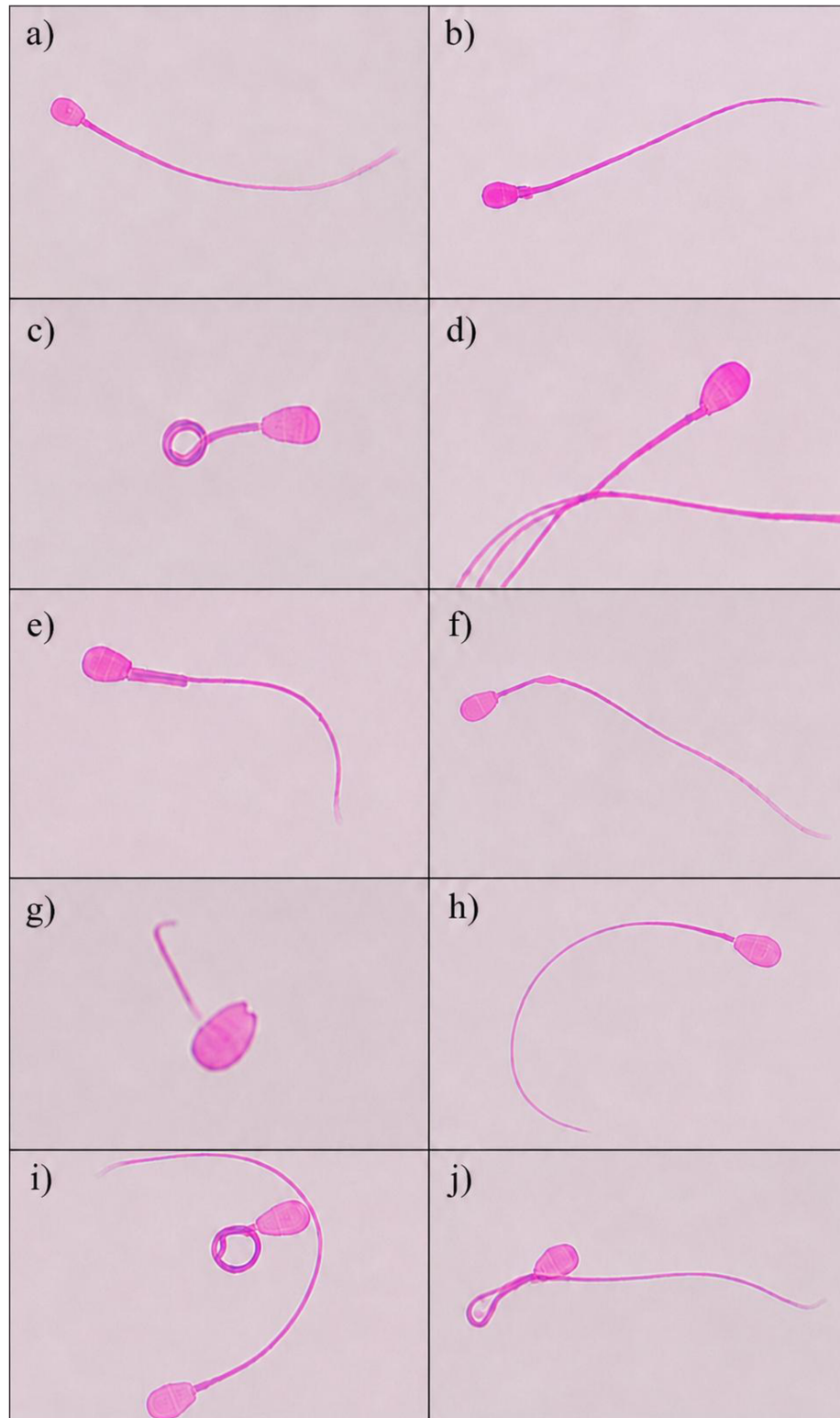


Figura 2 - Microfotografias das anormalidades espermáticas do sêmen de cães Spitz Alemão. Coloração com Rosa Bengala e aumento 1000X. (a) espermatozoide normal; (b) gota citoplasmática proximal; (c) cauda fortemente dobrada/enrolada; (d) cabeça com contorno anormal; (e) outros defeitos de peça intermediária; (f) gota distal; (g) cabeça isolada normal; (h) cauda dobrada; (i) cauda dobrada e cauda fortemente dobrada/enrolada; (j) cauda enrolada.

5 CONCLUSÃO

O sêmen dos cães da raça Spitz Alemão analisados nesta pesquisa mostraram estar dentro dos padrões preconizados para a espécie canina, sendo as anormalidades espermáticas mais observadas: gota citoplasmática proximal e cauda fortemente dobrada/enrolada.

Os resultados obtidos constituem uma contribuição relevante para a caracterização do perfil seminal e das especificidades andrológicas de cães da raça Spitz Alemão, fornecendo dados para futuras avaliações reprodutivas e para o estabelecimento de parâmetros de referência da raça.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, A.; SHARMA, R. K.; NELSON, D. R. N. **New semen quality scores developed by principal component analysis of semen characteristics.** Journal of Andrology, v. 24, 2003.

ALLEGRI, A. **Spitz Alemão: evolução da raça – parte 1 – origens – Rainha Victoria.** Disponível em: <https://www.amiciallegri.com.br/post/evolucao-da-raca-parte-1>, 2021. Acesso em: 6 jan. 2026.

ANGRIMANI, D. S. R.; LOSANO, J. D. A.; LUCIO, C. F.; VEIGA, G. A. L.; LANDIM, F. C.; NICHI, M.; VANNUCCHI, C. I. **Cytoplasmic droplet acting as a mitochondrial modulator during sperm maturation in dogs.** Animal Reproduction Science, 181, 50–56, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DO SETOR DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO (ABEMPET). **Pet Essencial.** Disponível em: <https://abempet.org.br/pet-essencial/>. Acesso em: 15 jul. 2026.

AXELSSON, E.; RATNAKUMAR, A.; ARENDT, M. L.; MAGBOOL, K.; WEBSTER, M. T.; PERLOSKY, M.; LIBERG, O.; ARNEMO, J. M.; HEDHAMMAR, A.; LINDBLAD-TOH, K. **The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet.** Nature, v. 495, n. 7441, p. 360–364, 2013.

BAILEY T. L.; HUDSON, R. S.; POWE, T. A.; RIDDELL, M. G.; WOLFE, D. F.; CARSON, R. L. **Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo.** Theriogenology, v.49, n.3, p.581-594, 1998.

BARBOSA, F. S.; BOVO, L. I. G.; HIRT, J. N.; MIQUELÃO, L. G. B.; GOMES, C. A. C.; FERREIRA, M. B.; MICHAELZUNTA, I.; SANTOS, M. F.; LOPES, F. G. **Características andrológicas de cães da raça Spitz Alemão, criados na mesorregião norte paranaense.** Disponível em: <https://repositorio.pgsscogna.com.br/bitstream/123456789/78055/1/2017-trabalho-11191.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2026.

BEGUM, M. M.; BHUVANESHWARI, V. **Collection and intra-vaginal insemination of fresh semen with prostatic fluid in a 2 year old Beagle.** Indian Veterinary Journal, v. 95, n. 5, p. 83–84, 2018.

BLOM, E. **The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermiogram.** In: SYMPOSIUM INTERNATIONALE DE ZOOTECHNIE, 7., 1972, Milano. *Proceedings...* Milano: SIZ, 1972.

CARVALHO, R. **Do Spitz ao Golden: qual a origem das raças de cães mais populares do Brasil?** Disponível em: <https://revistagalileu.globo.com/sociedade/curiosidade/noticia/2025/02/do-spitz-ao-golden-qual-a-origem-das-racas-de-caes-mais-populares-do-brasil.ghtml>. Acesso em: 26 jan. 2026.

CAZES, L. B. **Avaliação da eficiência de métodos de recuperação de gameta masculino em cão doméstico (*Canis familiaris*)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 68 p., 2006.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**, 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104 p.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE CINOFILIA (CBKC). **Spitz Alemão: padrão oficial da raça – Padrão FCI n. 97, de 25 de janeiro de 2013**. Rio de Janeiro: CBKC, 2019. Disponível em: CBKC – Padrão Spitz Alemão. Acesso em: 16 jul. 2026.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE CINOFILIA. **Padrão FCI Nº 97 de 20/09/2024**. Regulamenta e atualiza o padrão oficial da raça Spitz Alemão. Disponível em: https://cbkc.org/application/views/docs/padroes/padrao-raca_427.pdf. Acesso em: 28 jan. 2026.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE CINOFILIA (CBKC). **O Spitz Alemão foi a raça que mais teve pedigrees emitidos pela CBKC até outubro de 2025**. Instagram, 2025. Disponível em: <https://www.instagram.com/p/DPeIAtzjAwq/>. Acesso em: 13 jul. 2026.

FEDERATION CYNOLOGIQUE INTERNATIONALE (FCI). **German Spitz, including Keeshond and Pomeranian (Deutscher Spitz, inklusive Keeshond und Pomeranian)**. FCI-Standard n. 97. Thuin, Bélgica: Fédération Cynologique Internationale, 25 jan. 2013. Disponível em: FCI – Standard n. 97 (2013). Acesso em: 16 jul. 2026.

FREEDMAN, A. H.; WAYNE, R. K. **Deciphering the origin of dogs: from fossils to genomes**. Annual Review of Animal Biosciences, v. 5, n. 1, p. 281–307, 2017.

FREEDMAN, A. H.; GRONAU, I.; SCHWEIZER, R. M.; ORTEGA-DEL VECCHYO, D.; HAN, E. **Genome Sequencing Highlights the Dynamic Early History of Dogs**. *PLOS Genetics*, San Francisco, v. 10, n. 1, e1004016, 2014. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004016.

GALINKIN, J. **Avaliação de sêmen e medidas testiculares de cães de raça pura**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília, Brasília, 31p., 2014.

GOVERNO FEDERAL (Brasil). **Programa Nacional de Manejo Populacional Ético de Cães e Gatos**. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/composicao/sbio/dpda/programas-e-Projetos/programa-nacional-de-manejo-populacional-etico-de-caes-e-gatos>. Acesso em: 28 jan. 2026.

JOHNSON, C. **Conceitos atuais sobre infertilidade no cão**. Waltham Focus, v. 16, p. 7–12, 2006.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001. 592 p.

JOHNSTON, S. D.; 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, p.338–355, 2007.

KRUSTITZ, M. V. **Clinical canine and feline reproduction: evidence-based answers**. Iowa: Office, p. 25–33, 2010.

KUCZMARSKI, A. H.; BARROS, M. A.; LIMA, L. F. S.; MOTHEO, T. F.; BENTO, H. J.; IGLESIAS, G. A.; SÔNEGO, D. A.; PAZ, R. C. R. **Urethral catheterization after pharmacological induction for semen collection in dog**. *Theriogenology*, v. 153, p. 34–38, 2020.

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

LEO, D. **Pomeranians and royalty**. Disponível em: <https://pomeranian.org/blog/2022/10/28/royalty/>. Acesso em: 26 jan. 2026.

MACDONALD, A.; MCGRATH, J. C. **The distribution of adrenoceptors and other drug receptors between the two ends of the rat *vas deferens***. *British Journal of Pharmacology*, v. 71, n. 2, p. 445–458, 1980.

MARTINEZ, A. L. P. **Canine fresh and cryopreserved semen evaluation**. *Animal Reproduction Science*, v. 82, p. 209–224, 2004.

MEDEIROS, P. A. **Perfil seminal de cães da raça Australian Cattle dog**. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/25570/1/PerfilSeminalC%c3%a3es.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2026.

MEYERS-WALLEN, V. N. **Análise do sêmen, inseminação artificial e infertilidade no cão macho**. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de medicina interna veterinária*. São Paulo: Manole, v. 2, p. 2275–2293, 1997.

NAGASHIMA, J. B.; SONGSASEN, N. **Canid reproductive biology: norm and unique aspects in strategies and mechanisms**. *Animals*, v. 11, n. 3, p. 1–23, 2021.

OSTRANDER, E. A.; WAYNE, R. K.; MAN, A. H.; DAVIS, B. W. **Demographic history, selection and functional diversity of the canine genome**. *Nature Reviews Genetics*, v. 18, n. 12, p. 705–720, 2017.

PAZ, R. C. R.; KUCZMARSKI, A. H. **Técnicas alternativas para colheita de sêmen de cão**. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 45, n. 4, p. 396–401, 2021.

PAZ, R. C. R. **Reprodução de felinos domésticos e selvagens**. Cuiabá: EdUFMT, 2013.

SANTOS, M. C.; CONTIERO, B.; ROMAGOLI, S.; CUNHA, I. C. N. **Avaliação dos parâmetros Doppler velocimétricos, qualidade espermática e níveis séricos de testosterona em cães férteis**. In: III Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal, 2018, Ribeirão Preto, Anais... Disponível em: <https://www.reuniaoabraa.com.br/anais>. Acesso em: 11 jun. 2018.

- SANTOS, J.; GOMES, E. T.; SIQUEIRA, A. K. M.; CARDOSO, R. C. S. **Andrologia e criopreservação de sêmen em cães**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 40, n. 4, p. 167–179, 2016.
- SILVA, A. R. **Avaliação andrológica de cães e gatos**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 5, p. 52–55, 2002.
- SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S.; UCHOA, D. C.; SILVA, L. D. M. **Quality of canine semen submitted to single or fractionated glycerol addition during the freezing process**. Theriogenology, v. 59, p. 821–829, 2003.
- SILVA, H. V. R.; BRITO, B. F. **Atuação do médico veterinário especialista em reprodução no manejo de canis**. In: XXV Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2023, Belo Horizonte.
- SONGSASEN, N.; TONG, J.; LEIBO, S. P. **Birth of live mice derived by in vitro fertilization with spermatozoa retrieved up to twenty-four hours after death**. Journal of Experimental Zoology, v. 280, n. 2, p. 189–196, 1998.
- ZELLER, R., MEYER-LINDENBERG, A., WALTER, B., LEYKAM, C., FLOCK, U., REESE, S., & OTZDORFF, C. **Semen parameters and testicular dimensions in small breed dogs below ten-kilogram bodyweight**. Reproduction in Domestic Animals, 54(9), 1244–1250, 2019.
- ZHE, Z.; SABER, K.; YAN, L. **Deciphering the puzzles of dog domestication**. Zoological Research, v. 41, n. 2, p. 97–104, 2020.