

Universidade de Brasília
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Laboratório de Reprodução Animal

Avaliação de sêmen e medidas testiculares de cães de raça pura

Joana Galinkin

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária
da Universidade de Brasília para
obtenção do grau de Médico
Veterinário

Brasília
2014

Joana Galinkin

Avaliação de sêmen e medidas testiculares de cães de raça pura

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária
da Universidade de Brasília para
obtenção do grau de Médico
Veterinário

Orientador: Prof. Dr. Ivo Pivato

Brasília
2014

Galinkin, Joana

Avaliação de sêmen e medidas testiculares de cães de raça pura/
Joana Galinkin, orientação de Ivo Pivato – Brasília 2014.

31 páginas

Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária, 2014.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Joana Galinkin

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Avaliação de sêmen e
medidas testiculares de cães de raça pura

Ano: 2014

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir
cópias deste relatório e emprestar ou vender tais cópias para propósitos
acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação
e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização
por escrito do autor.

(Assinatura)



Joana Galinkin

FOLHA DE APROVAÇÃO

Joana Galinkin

Avaliação de sêmen e medidas testiculares de cães de raça pura

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado para obtenção do grau de
Médico Veterinário

Orientador:
Prof. Dr. Ivo Pivato

Aprovada em:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ivo PIVATO

Julgamento: APROVADA

Instituição: UMB

Assinatura: 

Prof. Dr. André Farias

Julgamento: APROVADO

Instituição: UPIS

Assinatura: 

Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

Julgamento: Aprovada

Instituição: UMB

Assinatura: 

*Dedicado à médica veterinária Vera Lúcia Carvalho
de Melo, que com sua simplicidade e assertividade
sempre foi uma fonte de confiança e inspiração.*

Agradecimentos

Aos meus pais, meu porto seguro, que sempre apoiaram meus caminhos;

Ao meu orientador, Ivo Pivato, por aceitar o desafio de me orientar com uma espécie e tema diferentes da sua linha de pesquisa;

À médica veterinária e amiga Patrícia Testa Triacca, que me ensinou como coletar o sêmen dos cães, parte essencial deste trabalho;

À Fernanda Bucci, quando minha chefe, sempre apoiando e vibrando com minhas novas conquistas, permitindo flexibilidade para que eu pudesse conciliar as aulas com o horário de trabalho;

Aos amigos criadores que cederam seus cães para a pesquisa;

Aos colegas de curso, novos amigos, em especial a turma 28 (e agregados), companheiros da maior parte do caminho, e ao André Simaan, amigo pra todas as horas;

À Thais Rodrigues, pela amizade, apoio e incentivo nessa jornada;

Aos amigos ex-colegas de trabalho do ICMBio, que participaram de grande parte do meu trajeto até aqui;

Aos amigos antigos, que apesar do meu sumiço para me dedicar à realização deste novo curso, sempre estiveram de braços abertos para me acolher como se não nos víssemos há apenas pouco.

Sumário

Introdução

Material e métodos

 Cães utilizados

Resultados e Discussão

Conclusão

Referências bibliográficas

Resumo

Foi realizada coleta e análise do sêmen e medidas testiculares de 57 cães de raça pura, pertencentes a 18 raças, com idade entre 8 meses e 12,5 anos. Três apresentaram azoospermia e dois outros tinham alterações testiculares, não sendo considerados para as análises. Obtiveram-se ejaculados das três frações combinadas de 0,5 a 22 mL, com total de espermatozoides no ejaculado entre $6,25 \times 10^6$ e 2.570×10^6 , sem relação entre volume do ejaculado ou volume testicular e quantidade de espermatozoides. Apenas 27 cães (52%) atenderam aos parâmetros estabelecidos pelo CBRA. A motilidade média encontrada para o total de cães foi de $80 \pm 19\%$ e o vigor médio $3,82 \pm 0,86$.

Para a morfometria testicular, 27 cães apresentaram o testículo direito com maior volume, um teve volumes iguais e os demais 24 tiveram volume do testículo esquerdo maior. Essa característica variou dentro das raças, e naquelas com dois ou mais indivíduos amostrados, as duas possibilidades ocorreram, exceto Cocker Spaniel Inglês e Australian Cattle Dog, em que todos apresentaram maior volume testicular direito. Houve grande variação no volume testicular total dentro de uma mesma raça.

Ficou demonstrada a necessidade de ampliação da coleta de dados para obtenção de padrões de normalidade para as diversas raças.

Palavras-chave: avaliação de sêmen; morfometria testicular; cães de raça

Abstract

We collect and analyzed semen and performed testicular measurements of 57 purebred dogs, from 18 breeds, between 8 months and 12,5 years old. Three of them were azoospermic, other two had testicular alterations, not being considered for the analysis. We obtained ejaculates of the three combined fractions from 0,5 to 22 mL, with total spermatozoids ranging from $6,25 \times 10^6$ to 2.570×10^6 , with no correlation between ejaculated volume nor testicular volume with total number of spermatozoids. Only 27 (52%) of the dogs reached the parameters established by CBRA. Mean motility for the total of dogs was $80 \pm 19\%$ and mean vigor $3,82 \pm 0,86$.

In testis morphometry, 27 dogs presented larger volume of the right testicle, one had equal volumes and 24 had larger left testicle. This trait varied in every breed with two or more individuals, except for English Cocker Spaniel and Australian Cattle Dog, which showed larger right testicles. There was great variation on testicular volume inside each breed.

The need of a larger survey to obtain normality standards for the various dog breeds is evident.

Key words: semen evaluation; testis morphometry; purebred dogs

Introdução

Os testículos dos mamíferos são formados no interior do abdômen do embrião, próximos aos rins (HAFEZ, 2004), e durante o desenvolvimento embrionário sofrem uma migração até atingirem seu local definitivo ou sua proximidade. Diferente da maioria das espécies de mamíferos, em que a descida dos testículos da cavidade abdominal através do canal inguinal para o escroto inicia ainda na fase fetal, nos cães ela tem início no nascimento, com a migração se completando em 35 a 40 dias (EVANS e CHISTENSEN, 1993). O epidídimo canino é relativamente grande quando comparado aos outros mamíferos, e ocupa a posição dorsolateral de cada testículo (EVANS e CHISTENSEN, 1993). A próstata é a glândula acessória mais evidente dos cães, de tamanho relativamente grande, e envolve completamente a porção proximal da uretra próxima à bexiga, e além dela possuem apenas as ampolas (EVANS e CHISTENSEN, 1993). De acordo com o tamanho do cão, a próstata pode ser palpada pelo reto (CBRA, 2013), e sofre um aumento progressivo de tamanho com o avançar da idade (EVANS e CHISTENSEN, 1993).

O interior do testículo é formado por epitélio seminífero e túbulos seminíferos, sendo composto por células intersticiais (Leydig), células de sustentação (Sertoli) e células germinativas (espermátogônias) (HAFEZ, 2004). As espermátogônias são as células presentes no testículo que irão dar origem ao gameta masculino, o espermatozoide, o qual precisa ser capaz de alcançar o gameta feminino no interior do trato reprodutivo da fêmea. Para tal sofrem divisões mitóticas, com algumas células-filhas dando origem aos espermátócitos e outras permanecendo como fonte. A seguir, os espermátócitos passam por divisões meióticas, em que o material genético é recombinado (*crossing-over*) e segregado, dando origem a células haploides, as espermátides, que se diferenciarão nos

espermatozoides propriamente ditos, após uma série de modificações morfológicas. Essas modificações incluem (não em ordem cronológica): a condensação da cromatina e mudança do formato do núcleo, que se torna alongado e achatado; formação e adesão do acrossomo ao núcleo; deslocamento do citoplasma para a região oposta ao acrossomo, com posterior extrusão de seus componentes; formação da cauda e bainha mitocondrial da peça intermediária. A última parte do processo, chamada espermição, consiste na liberação dos espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos, com desprendimento da porção remanescente de citoplasma, os corpos residuais, que são fagocitados pelas células de Sertoli (HAFEZ, 2004; GARNER e HAFEZ, 2004).

Em relação à ao tempo de espermatogênese em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) tem sido observado diferença entre as raças. Soares et al (2009) encontraram uma diferença substancial no tempo de espermatogênese de American Pit Bull Terriers em relação às demais raças que estudaram, incluindo cães sem raça definida (SRD), com a duração total do ciclo em geral de 62 dias, enquanto o tempo de síntese espermática no Pit Bull dura apenas 56,5 dias. Isso mostra que se justifica investigar as raças como grupos genéticos distintos, e não apenas como diferentes massas corporais da mesma espécie.

A reprodução canina conta com diversos estudos sobre endocrinologia da fêmea (OLIVEIRA et al, 2003; BEIJERINK, 2007; CONCANNON, 2009; CONCANNON et al, 2009; DERUSSI e LOPES, 2009), e no caso dos machos principalmente a criopreservação de sêmen (CHIRINEA et al, 2013; CARDOSO et al, 2007; SILVA et al, 2009; UCHOA et al, 2012; MOTA-FILHO et al, 2011; MADEIRA et al, 2010; SANTANA et al, 2013). Os trabalhos que foram realizados com objetivo de estabelecer padrões de normalidade tanto para medidas testiculares (PINHO, 2010) quanto para parâmetros seminais são, em grande parte, muito específicos (VOLPE et al, 2009; LANGE-CONSIGLIO et al, 2010). Não há, por exemplo, nenhum artigo específico sobre cães listado nas referências do Manual do CBRA ou um capítulo dedicado a esta espécie no livro texto Reprodução Animal de Hafez e Hafez (2004).

Woodall e Johnstone (1988) relatam que a largura escrotal é um índice conveniente de tamanho testicular normal (produção de grande quantidade de espermatozoides) quando corrigido para tamanho corporal, apesar de haver grande variação deste parâmetro mesmo com a correção, já que em seu trabalho os cães com baixa ou nenhuma produção espermática possuíam testículos consideravelmente menores que os com alta produção. England (1999) realizou uma pesquisa com cães sabidamente férteis (havia tido ninhadas nos meses que precederam as coletas), de diversas raças, e observou diferença entre dois grupos, um deles composto por animais da raça Pastor Alemão e o outro composto pelo conjunto das demais raças, constatou que os pastores possuíam quantidade de espermatozoides ejaculados maior que as demais, inclusive raças de tamanho corporal similar e mesmo maior (labrador retriever, golden retriever, bullmastiff e dogue alemão).

Heywood e Sortwell (1971) sugerem que a concentração espermática não é o melhor parâmetro para ejaculados caninos, já que a terceira fração pode diluir esse conteúdo, sendo mais interessante neste caso considerar o total de espermatozoides ejaculados. Em sua pesquisa com Beagles, eles encontraram ejaculados contendo entre 89,4 e 261,8 milhões de espermatozoides, com média de 47,7 milhões por mL. Outros autores (ENGLAND et al, 2010, ENGLAND, 1999) utilizaram apenas a segunda fração, rica em espermatozoides, adotando a concentração como medida confiável.

A maioria dos criadores brasileiros não tem qualquer informação direta sobre o estado do sêmen de seus padreadores, sendo inferida a partir dos resultados de acasalamentos, nem sempre um bom parâmetro, já que depende também da fertilidade e fecundidade das fêmeas, além de outras variáveis, como data correta do acasalamento/inseminação e presença de doenças ocultas que possam prejudicar o intento (infecciosas ou não). No exame andrológico é possível identificar anormalidades anatômicas e do sêmen que possam interferir

com a capacidade reprodutiva, além de propiciar a possibilidade de intervenção sobre condições impeditivas reversíveis.

A criação de cães de raça pura é muito bem estabelecida nos países desenvolvidos, como é o caso da Inglaterra, onde são registrados anualmente mais de 250 mil cães (The Kennel Club 2014), França, com mais de 215 mil em 2013, Japão, mais de 325 mil (FCI 2014), enquanto no Brasil, que tem área e população humana bem maiores, foram registrados cerca de 130 mil cães de raça pura no ano de 2013 (FCI 2014). Pela facilidade com que se acessam criadores das diversas partes do mundo, vários canis brasileiros tem buscado incrementar seus plantéis com importações, o que leva a uma valorização zootécnica e monetária dos filhotes oriundos dessas criações. Apesar disso, existem hoje no Brasil pouquíssimos profissionais atuando na área de reprodução de cães, em geral apenas em suas cidades e arredores, de forma que muitas vezes animais de grande valor zootécnico são perdidos para a reprodução pela dificuldade de acesso a esses especialistas, e com isso a falha em detectar e solucionar o problema apresentado. Além disso, parte dos profissionais atuantes se dedicam principalmente à pesquisa, em especial a criopreservação de sêmen e aspectos relacionadas à inseminação artificial (CARDOSO et al 2007; MADEIRA et al. 2010; MOTA-FILHO 2011; SILVA et al. 2000; SILVA et al. 2009; UCHOA et al. 2012).

Alguns países tem regras estabelecidas por seus Kennel Clubes nacionais para a utilização da inseminação artificial, mesmo a fresco, como Argentina (FCA, 2014), e Estados Unidos (AKC, 2014). O *American Kennel Club* estabelece que para inseminação a fresco macho e fêmea devem estar no mesmo local, e para sêmen resfriado e congelado o macho tem que ter seu perfil de DNA registrado na entidade (AKC, 2014). A *Federación Cinológica Argentina* também exige perfil de DNA para sêmen congelado, além de registrar os veterinários interessados em congelar e realizar o procedimento, que deverão pertencer a centros de congelamento também cadastrados; além disso, só aceita inseminação caso os animais já tenham tido pelo menos uma ninhada anterior por monta natural, com objetivo de preservar a capacidade copulatória para as gerações seguintes (FCA,

2014). No Brasil a Confederação Brasileira de Cinofilia (CBKC, 2014) estabelece em seu Regulamento de Criação, de 2004, que:

“Art. 7º - A cobertura feita através de inseminação artificial obedecerá ao regulamento específico em vigor”.

O Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, em seu Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal (2013), estabelece como características desejáveis do ejaculado canino motilidade espermática $\geq 70\%$, vigor ≥ 3 , concentração de 20 a $300 \times 10^6/\text{mL}$ e espermatozoides morfologicamente normais $\geq 70\%$.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a morfometria testicular e qualidade espermática de uma amostra da população de cães de raça usados na reprodução no Distrito Federal, com avaliação de parâmetros espermáticos para estimar e caracterizar o estado reprodutivo nestes animais e a influência das medidas testiculares, idade (de muito jovem a idoso), raça ou outro dado encontrado na qualidade espermática, além de comparar com os parâmetros estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal.

Material e Métodos

As atividades realizadas neste trabalho obtiveram aprovação prévia do Comitê de Ética no Uso Animal da Universidade de Brasília – CEUA – sob o número UnBDOC 58277/2013.

Foram utilizados neste estudo cães pertencentes a diversas raças puras, possuidores de pedigree, com idades entre 8 e 150 meses e pertencentes a criadores registrados em entidades cinófilas oficiais (kennel clubes filiados à Confederação Brasileira de Cinofilia-CBK/C/Federation Cinologique International-FCI). Todos foram examinados antes da coleta e considerados hígidos, com escore corporal de 3 a 3,5 (escala de 1 a 5), além de não estarem recebendo medicação.

Foram realizadas as medidas morfométricas de comprimento, largura e altura de ambos os testículos com auxílio de paquímetro, com os cães em estação (Figura 1), além da avaliação *in loco* da consistência/firmeza de cada um por palpação, visto ser um indicativo de patologias testiculares que afetam a qualidade do sêmen (CUNHA, 2008), como aumento de volume, edema, endurecimento, dentre outros. Para obtenção do volume testicular foi utilizada a fórmula do esferoide (SOUZA, 2011): $\text{volume} = \text{comprimento} \times \text{largura} \times \text{altura} \times 0,5236$.

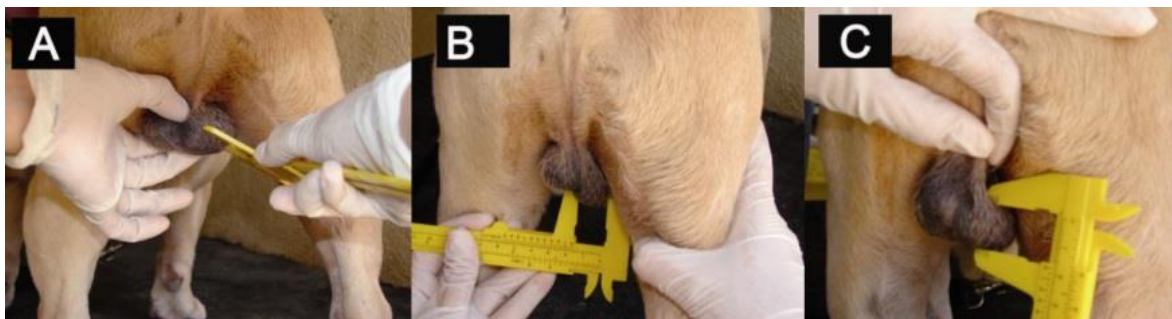


Figura 1. Utilização do paquímetro para mensuração testicular: A. comprimento; B. largura. C. altura. (Extraído de Souza 2011).

O sêmen dos cães foi coletado por manipulação digital em recipiente plástico descartável, para avaliação de motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática. A motilidade e o vigor foram analisados no ato da coleta, sob microscópio óptico de luz, com uma gota depositada em lâmina previamente aquecida a 36°C em placa aquecedora, de forma a minimizar a perda de ambos aspectos pelo resfriamento do sêmen em contato com a temperatura ambiente, pois são extremamente suscetíveis à excesso de calor ou frio (AX et al, 2004). Não foi alvo deste estudo a medição do volume da fração espermática, tendo sido coletado o volume total ejaculado, que em condição de monta natural seria totalmente depositado no trato genital feminino, influenciando o resultado do acasalamento.

Para medir a concentração espermática, 20µL do material coletado foram diluídos em 1mL de solvente (solução de formol-salina) para contagem em laboratório em câmara de Neubauer modificada (Figura 2). Contam-se cinco quadrados de cada lado da câmara e calcula-se a média dos dois lados, com a qual é calculada a concentração com a fórmula:

$$\frac{A}{\frac{1}{B} \times \frac{n}{25} \times \frac{1}{10}}$$

Onde A = média do número de espermatozoides contados nas duas câmaras; B = diluição da amostra; n = número de quadrados contados em cada câmara. No atual estudo temos:

$$\frac{A}{\frac{1}{50} \times \frac{5}{25} \times \frac{1}{10}}$$

A partir desse dado foi calculado o número total de espermatozoides no ejaculado multiplicando-o pelo volume total obtido em cada amostra.

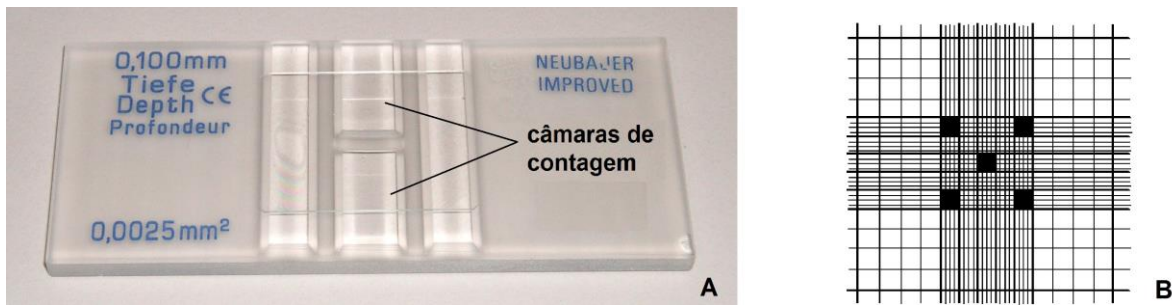


Figura 2. A. Câmara de Neubauer modificada. B. Visão ampliada: são contados os espermatozoides contidos nos quadrados assinalados para cálculo de concentração.

Para análise da morfologia espermática é adicionada, em outro tubo contendo 0,3 mL de solução formol-salina, uma quantidade de sêmen capaz de turvar a solução, para posterior análise em laboratório. Para proceder à análise, o *pellet* formado no fundo do ependorff® é ressuspendido, uma pequena gota desta solução e uma gota similar do corante Rosa Bengala são misturados em uma lâmina, cobertos com lamínula, retirado o excesso com papel toalha, para análise ao microscópio sob aumento de 1000x com óleo de imersão. Foram contados 200 espermatozoides de cada amostra para avaliação da morfologia. A classificação das alterações espermáticas, chamadas de defeitos, foi feita de acordo com a classificação de Blom, 1972, constante no Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal (CBRA, 2013). Segundo essa classificação os defeitos são separados em:

1. Defeitos maiores

- 1.1 Cabeça e acrossomo

- 1.1.1 Acrossomo

- 1.1.2 Subdesenvolvidos

- 1.1.3 Cabeça isolada anormal

- 1.1.4 Contorno anormal

- 1.1.5 Estreita na base

- 1.1.6 Piriforme

- 1.1.7 Pequena anormal

- 1.1.8 Pouch formation

- 1.2 Peça intermediária
 - 1.2.1 Gota proximal
 - 1.2.2 Outros (fibrilação, edema, pseudogota, entre outros)
 - 1.2.3 Peça intermediária rudimentar
- 1.3 Peça principal
 - 1.3.1 Cauda fortemente dobrada
- 1.4 Formas teratológicas
- 2. Defeitos menores
 - 2.1 Cabeça delgada
 - 2.2 Gigante, curta larga e pequena normal (CLGP)
 - 2.3 Cabeça isolada normal
 - 2.4 Defeitos de implantação
 - 2.5 Cauda dobrada (bent-tail)
 - 2.6 Gota distal
 - 2.7 Cauda enrolada na porção terminal

Todas as análises de aspectos espermáticos foram feitas em microscópio óptico de luz transmitida do Laboratório de Reprodução Animal da UnB.

Cães utilizados:

Os cães avaliados pelo projeto pertencem a criadores do Distrito Federal, com autorização para a coleta de material para utilização em pesquisa, considerados hígidos e com escore corporal ideal, e são das seguintes raças (entre parênteses a quantidade de indivíduos):

- Australian Cattle Dog (3)
- Beagle (6)
- Border Collie (1)
- Borzoi (1)
- Cocker Spaniel Inglês (2)
- Dachshund Miniatura Pelo Curto (2)
- Dachshund Miniatura Pelo Longo (5)
- Dogue Alemão (7)

Fox Terrier Pelo Liso (2)
Kuvasz (1)
Saluki (1)
Setter Gordon (4)
Setter Inglês (9)
Setter Irlandês Ruivo (6)
Setter Irlandês Ruivo e Branco (2)
Springer Spaniel Inglês (2)
Terra Nova (1)
Wolfhound Irlandês (2)

Resultados e Discussão

Foram obtidas amostras de 57 cães pertencentes a 18 raças, conforme listadas acima, com idades entre 8 meses e 12,5 anos. Houve tentativa de coleta em quatro cães com idade entre 6 e 8 meses, sem sucesso, não sendo estes incluídos na listagem do item 4. Treze dos cães analisados são oriundos de importações de diversos países (Argentina, Austrália, Canadá, Chile, Estados Unidos, Itália, Polônia, República Tcheca, Suécia) e nenhum destes foi entregue com exame andrológico (informação fornecida pelos proprietários), sendo que parte destes foi trazido ao país ainda filhote. Do total, 21 cães já haviam tido filhotes antes da realização da presente coleta, e pelo menos outros 13 já tiveram ninhada após essa ocasião. Seis encontram-se atualmente castrados e dois foram enviados para outros países.

Do total, três animais apresentaram ejaculado azoospermático, todos com testículos de aparência e consistência normais, um destes com persistência do frênulo peniano, e foram reamostrados alguns meses depois com o mesmo resultado. Outros dois cães, com histórico de incidente recente (um sofreu ferroadada de vespa na face com febre uma semana antes da coleta e outro mordida de aranha no saco escrotal um mês e meio antes, com edema e ferimento externo) tiveram suas coletas refeitas com pelo menos dois meses de diferença da primeira data, tempo suficiente para um ciclo espermatogênico completo, e mostraram diferenças importantes tanto em motilidade e vigor quanto em morfologia espermática, e os dados considerados foram os da segunda coleta. Dois outros cães apresentaram alteração na consistência testicular, ambos no testículo esquerdo, sendo um com endurecimento e outro com consistência macia, e também foram desconsiderados na análise, ficando um total de 52 cães utilizados para as análises. Onze dos cães amostrados são filhos de outro cão também participante da pesquisa, com um caso de três gerações analisadas.

Todas as amostras obtidas apresentavam as características de cor e odor consideradas normais, com variação na cor (de branco leitoso a quase transparente) de acordo com a quantidade de plasma seminal ejaculado. Foram obtidos ejaculados de volume que variou de menos de 0,5mL (n= 4) a 22mL (n=1), motilidade de 5% (n=1) a 100% (n=5), vigor 1 (n=1) a 5 (n=5), concentração de 1.250 (n=3) a 671.250 (n=1) espermatozoides por mL e espermatozoides normais de 6,2% (n=1) a 91% (n=1).

Dos 52 cães amostrados, 27 (52%) atenderam aos parâmetros estabelecidos pelo CBRA, porém quando se considera também o percentual de defeitos maiores como <10%, apenas 13 (25%) restariam. Apesar disso, 23 dos que não atenderam completamente são cães que tiveram filhotes antes e/ou depois desta avaliação.

Apenas três cães (5,8%) apresentaram motilidade muito baixa, sendo um dogue alemão (mot=35%), de 14 meses de idade, e os dois da raça Wolfhound Irlandês, um com 13 meses (mot=20%) e outro com 31 meses (2,5 anos) (mot=5%); nenhum dos três havia efetuado monta ou inseminação artificial antes da avaliação. Os wolfhounds não foram postos na reprodução até a presente data, mas o dogue alemão teve ninhada por monta natural oito meses após a coleta, não tendo sido feita reavaliação de nenhum deles.

A motilidade média encontrada para o total de cães foi de $80 \pm 19\%$ e o vigor médio $3,82 \pm 0,86$. Cunha (2008) cita valores de $68,91 \pm 12,38\%$ para motilidade e $3,19 \pm 0,76$ para vigor.

Rijsselaere et al (2007) encontraram uma correlação negativa entre idade e percentual de espermatozoides normais, dado diferente do encontrado aqui, em que todas as faixas de idade contém percentuais altos e baixos, sem nenhuma demonstração de tendência (Figura 3). A porcentagem de espermatozoides morfologicamente normais teve grande variação, não sendo claramente associada a nenhum dos diversos parâmetros amostrados- idade, raça, motilidade, volume testicular.

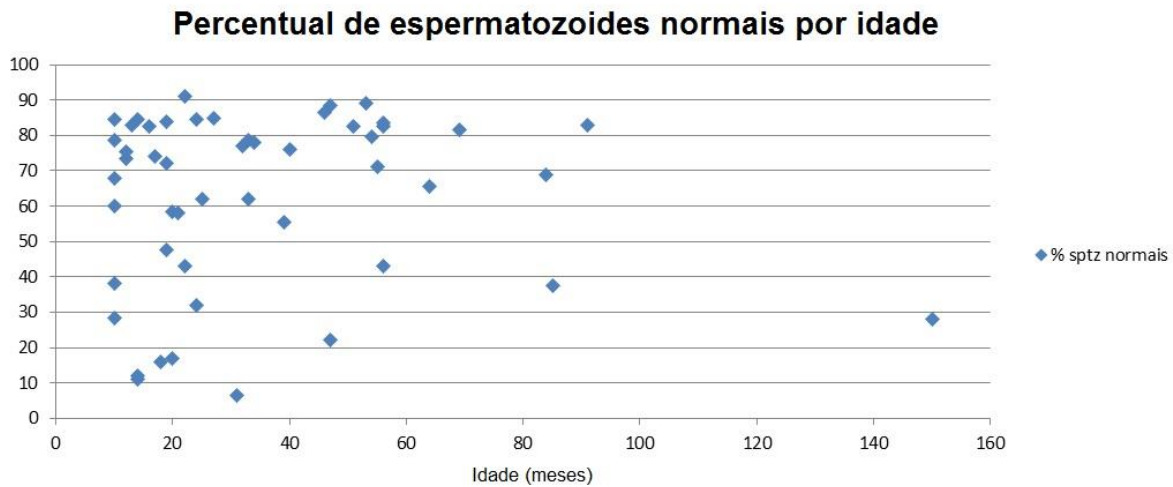


Figura 3. Percentual de espermatozoides normais por idade em meses.

O total de espermatozoides ejaculados também teve grande variação, de $6,25 \times 10^6$ a 2.570×10^6 , também sem relação com parâmetros de idade, peso corporal, ou mesmo volume testicular, com um dos maiores valores ($702,5 \times 10^6$) pertencendo a um Dachshund Miniatura Pelo Longo, que é a menor raça estudada (Figura 4).

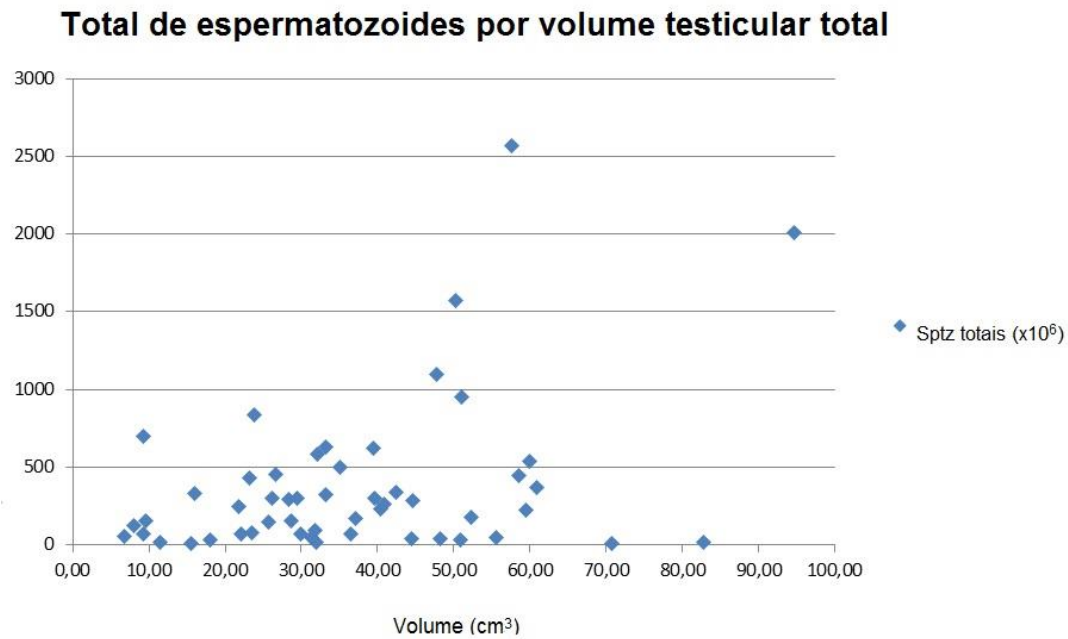


Figura 4. Total de espermatozoides ejaculados por volume testicular total

Oettlé (1993) avaliou o sêmen de cães de diversas raças e comparou os parâmetros encontrados com a fertilidade, pela inseminação de 42 cadelas. Encontrou que a porcentagem de espermatozoides normais que permitia uma fertilidade adequada era aquela acima de 60%, com os cães abaixo deste valor sendo considerados subférteis a partir de seus resultados, sem diferença estatística entre idades dos cães dos dois grupos (férteis e subférteis), o que que a subfertilidade pode afetar cães de qualquer idade.

Em estudo sobre o crescimento e desenvolvimento testicular de Fox Terriers, Mialot et al. (1985) encontraram aparecimento do primeiro espermatozoide no ejaculado entre 32 e 34 semanas de vida, compatível com a primeira idade em que se obteve amostras no presente trabalho para as diversas raças (8 meses), e consideraram este parâmetro mais apropriado que a idade óssea para determinação da puberdade canina.

Morfometria testicular:

Bailey et al. (1998) relatam que os valores obtidos para medida testicular *in vivo* com paquímetro são confiáveis quando comparadas às medidas obtidas por ultrassom, e é um método mais simples e barato. Dos 52 cães estudados, 27 apresentaram o testículo direito com maior volume, um teve volumes iguais e os demais 24 tiveram volume do testículo esquerdo maior, em concordância com Pinho (2010), porém diferente do encontrado por Souza (2011) que cita para Buldogue Francês e Terrier Brasileiro sempre maior tamanho no testículo esquerdo. Essa característica variou dentro das raças aqui investigadas, e naquelas com dois ou mais indivíduos amostrados, as duas possibilidades ocorreram, exceto Cocker Spaniel Inglês e Australian Cattle Dog, em que todos apresentaram maior volume testicular direito.

Souza et al (2012) realizaram comparação entre raças de peso equivalente, Buldogue Francês e Terrier Brasileiro, utilizando paquímetro e ultrassom bidimensional, e encontraram que o volume testicular do Buldogue é maior que do Terrier, independente da técnica. Nas raças de peso equivalente utilizadas aqui, em especial os Setters, houve sobreposição nos volumes totais encontrados, principalmente pelos Setters Ingleses, que mostraram grande variação, de 23,9 a 55,5 cm³, porém quando se utiliza apenas os Setter Gordon e Setter Irlandeses Ruivos, tem-se volumes de 32,0 a 37,1 cm³ e 39,4 a 58,6cm³, respectivamente.

Olar et al (1983) encontraram que o tamanho testicular, medido *in vivo* pela largura e posteriormente pesados, é um bom indicativo de produção espermática, assim como já havia sido relatado para outras espécies (Akosman et al 2013, bovino; Pant et al, 2003, búfalo), porém não houve também associação entre o volume testicular e a quantidade de espermatozoides no ejaculado com os cães do presente trabalho (Figura 4).

Conclusão

Com os dados obtidos foi possível vislumbrar uma amostra da população canina de raça pura em reprodução no Distrito Federal. Houve grande variação dos diversos parâmetros amostrados, e a não associação entre eles (raça, idade, volume testicular, qualidade espermática, tamanho corporal) aponta para a necessidade de estudos mais aprofundados, possivelmente aumentando a quantidade de indivíduos dentro de cada raça, para estabelecimento de padrões ou confirmação da sua ausência.

A escassez de trabalho sobre o tema provavelmente deve-se ao fato de muitos pesquisadores optarem por não publicar dados que não trazem associações evidentes, como os encontrados aqui.

Referências Bibliográficas

- Akosman, M. S. & Özdemir, V. 2010. Capability of the Cavalieri method for volume estimation of the dog testis. *Eurasian J. Vet. Sci.*, 26(2): 63-7.
- Akosman, M. S., Lenger, O.F. e Demirel, H.H. 2013. Morphological, Stereological and Histometrical Assessment of the Testicular Parameters between Holstein and Simmental Bulls. *International Journal of Morphology* 31(3): 1076-1080.
- Ax, R.L., Dally, M., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez, B. e Bellin, M.E. 2004. Avaliação do Sêmen. *In: Hafez, E.S.E e B. Hafez. Reprodução Animal. Capítulo 25. 7ª edição. Ed. Manole, Barueri, SP. 513p.*
- Bailey T.L, Hudson, R.S Powe, T.A Riddell, M.G Wolfe, D.F Carson, R.L. 1998. Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. *Theriogenology*. 49 (3): 581-594.
- Beijerink, N.J 2007 Endocrinology of physiological and progestin-induced canine anoestrus. PhD thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, The Netherlands. 176p.
- Cardoso, R. C. S., Silva, A. R., Silva, L. D. M., Chirinéa, V.H., Souza, F. F., Lopes, M. D. 2007. Evaluation of fertilizing potential of frozen-thawed dog

spermatozoa diluted in ACP-106 using an in vitro sperm-oocyte interaction assay. *Reproduction in Domestic Animals*, 42: 11-16.

CBRA. 2013. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3ª edição. Belo Horizonte. 104p.

Chirinea, V.H., Sicherle, C.C. e Lopes, M.D. 2013. Congelamento de sêmen e sua eficiência na inseminação artificial de cães. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 37 (2): 164-168.

Concannon, P.W. 2009. Endocrinologic Control of Normal Canine Ovarian Function. *Reproduction in domestic animals*. 44 (Suppl. 2): 3–15

Concannon, P.W. Castracane, V.D. Temple, M. e Montanez, A. 2009. Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. *Anim. Reprod.* 6 (1): 172-193

Cunha, I.C. 2008. Exame andrológico do cão - Breeding soundness evaluation of male dog. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*. 1 (1): 49-65

Derussi, A.A.P. e Lopes, M.D. 2009. Fisiologia da ovulação, da fertilização e do desenvolvimento embrionário inicial na cadela. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 33 (4): 231-237

England, G. 1999. Semen quality in dogs and the influence of a short-interval second ejaculation. *Theriogenology*. 53: 981-986.

England, G.C.W., Phillips, L. e Freeman, S.L.. 2010. Heritability of semen characteristics in dogs. *Theriogenology* 74: 1136–1140

- Evans, H.E e G.C. Christensen. 1993. The urogenital system. *In: Evans H.E. Ed. Miller's Anatomy of the dog. Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1113p.*
- Fonseca 2009. Prevalência e tipos de alterações testiculares em canídeos. Dissertação. Universidade Técnica de Lisboa. 69p.
- Garner, D.L. e Hafez, E.S.E. 2004. Espermatozóides e Plasma Seminal. *In: Hafez, E.S.E e B. Hafez. Reprodução Animal. Capítulo 7. 7ª edição. Ed. Manole, Barueri, SP. 513p.*
- Hafez, E.S.E 2004. Anatomia da Reprodução Masculina. *In: Hafez, E.S.E e B. Hafez. Reprodução Animal. Capítulo 1. 7ª edição. Ed. Manole, Barueri, SP. 513p.*
- Heywood, R. e Sortwell, R. J. 1971. Semen evaluation in the Beagle dog. *The Journal of small animal practice. 12: 343-346.*
- Lange-Consiglio, A, Antonucci, N., Manes, S., Corradetti, B., Cremonesi, F. e Bizzaro, D. 2010. Morphometric characteristics and chromatin integrity of spermatozoa in three Italian dog breeds. *The Journal of small animal practice. 51(12): 624-627.*
- Madeira, V.L.H., Monteiro, C.L.B., Barbosa, C.C., Jucá, R. P., Oliveira, Â.C., Uchoa, D. C., Silva, L. D. M. Efeitos de diferentes protocolos de descongelamento sobre o sêmen canino criopreservado em diluidor à base de água de coco em pó (ACP-106). *Ciência Animal Brasileira, v. 11, p. 845-852, 2010.*
- Mialot. J.P., Guerin, Ch. e Begon, D. 1985. Growth, Testicular Development and Sperm Output in the Dog from Birth to Post Pubertal Period. *Andrologia. 17(5): 450-460.*

- Mota Filho, A. C., Teles, C. H. A., Jucá, R. P., Cardoso, J. F. S., Uchoa, D. C., Campello, C. C., Silva, A. R., Silva, L. D. M. Dimethylformamide as a cryoprotectant for canine semen diluted and frozen in ACP-106C. *Theriogenology*, v. 76, p. 1367-1372, 2011.
- Oettlé, E.E. 1993. Sperm morphology and fertility in the dog. *J Reprod Fertil.* 47: 257-260.
- Olar, T.T., Amann, R.P e Pickett, B.W. 1983. Relationships among testicular size, daily production and Output of spermatozoa and extragonadal spermatozoal reserves of the dog. *Biology f Reproduction.* 29: 1114-1120.
- Oliveira, E.C.S., Marques Júnioe, A.P. e Neves, M.M. 2003. Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela - Revisão. *Archives of Veterinary Science.* 8 (1): 1-12
- Pant, H.C., Sharma, R.K., Patel, S.H., Shukla, H.R., Mittal, A.K., Kasiraj R., Misra, A.K. e Prabhakar, J.H.. 2003. Testicular development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls. *Theriogenology.* 60 (1): 27-34
- Pinho, T.C.S.D. 2010. Mensuração testicular de cães (*Canis falliaris*) hígidos por meio do exame ultrassonográfico. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Fluminense. 63p.
- Rijsselaere, T., Maes, D., Hoflack, G., de Kruif, A. e Van Soom, A. 2007. Effect of Body Weight, Age and Breeding History on Canine Sperm Quality Parameters Measured by the Hamilton-Thorne Analyser. *Reprod Dom Anim* 42, 143–148

- Santana, M., Batista, M., Alamo, D., Gonzalez, F., Niño, T., Cabrera, F. e Gracia, A. 2013. Influence of cool storage before freezing on the quality of frozen-thawed semen samples in dogs. *Reprod Dom Anim.* 48: 165–170
- Silva, A. R, Cardoso, R. C. S., Silva, L. D. M. Congelação de sêmen canino com diferentes concentrações de gema de ovo e glicerol em diluidores à base de tris e água de coco. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.30, n.6, p.1021-1025, 2000.
- Silva, A. R., Fontenele-Neto, J. D., Cardoso, R. C. S., Silva, L. D. M., Chirinéa, V.H., Lopes, M. D. Description of ultrastructural damages in frozen/thawed canine spermatozoa. *Ciência Animal Brasileira (UFG)*, v. 10, p. 595-601, 2009.
- Soares, J., Avelar, G. e França, L. 2009. The seminiferous epithelium cycle and its duration in different breeds of dog (*Canis familiaris*). *Journal of anatomy* 215 (4): 462-471.
- Souza, M. B. 2011. Ultrassonografia bidimensional e doppler como ferramenta para avaliação de testículos de cães saudáveis. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Ceará. 76p.
- Souza, M.B., Barbosa, C.C., Pinto, J.N., Uchoa, D.C., Campello, C.C. e Silva, L.D.M. 2012. Comparison of testicular volume between French Bulldog and Brazilian Terrier dogs. 7th International Symposium on Canine and Feline Reproduction. Whistler, Canada.
- Uchoa, D.C.; Silva, T. F. P. ; Mota Filho, A. C. ; Silva, L. D. M. Intravaginal Artificial Insemination in Bitches Using Frozen/Thawed Semen after Dilution in Powdered Coconut Water (ACP-106c). *Reproduction in Domestic Animals*, v. 47, p. 289-292, 2012.

Volpe, S, Leoci, R, Aiudi, G e Lacalandra, GM. 2009. Relationship Between Motility and Mitochondrial Functional Status in Canine Spermatozoa. *Reprod Dom Anim.* 44 (Suppl. 2): 275–278

Woodall, P. F. e Johnstone, I. P. 1988. Scrotal width as an index of testicular size in dogs and its relationship to body size. *J. small Anim. Pract.* 29: 543-547

Sites consultados:

AKC 2014. <http://www.akc.org/reg/artificialinsemination.cfm> acessado em maio de 2014

CBKC 2014. <http://cbkc.org/regcriacao.htm> acessado em abril de 2014.

FCA 2014. <http://www.fca2000.org.ar/> >Reglamentos>Inseminacion Artificial. Acessado em maio de 2014

FCI 2014. <http://fci.be/stats.aspx> acessado em junho de 2014.

The Kennel Club 2014. <http://www.thekennelclub.org.uk/registration/> acessado em maio de 2014.