

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/09/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA

**Características seminais de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*,  
Linnaeus, 1766).**

JAQUELINE CANDIDO DE CARVALHO

BOTUCATU - SP  
2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DEPARTAMENTO  
DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA

**Características seminais de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*,  
Linnaeus, 1766).**

JAQUELINE CANDIDO DE CARVALHO

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade Estadual Paulista “Julio de  
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para  
Exame Geral de Defesa de Mestrado junto  
ao Programa de Pós-Graduação em Animais  
Selvagens para obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos Roberto Teixeira

**Coorientador:** Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira

BOTUCATU - SP  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Carvalho, Jaqueline Candido de.

Características seminais de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) / Jaqueline  
Candido de Carvalho. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita  
Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Carlos Roberto Teixeira Coorientador: João

Carlos Pinheiro Ferreira Capes: 50504002

1. Cães - Reprodução.
2. Reprodução animal.
3. Sêmen - Criopreservação.
4. Ultrassonografia veterinária.
5. Preservação do sêmen.

Palavras-chave: *Cerdocyon thous*; Reprodução animal; Sêmen.

Nome do Autor: Jaqueline Candido de Carvalho

Título: Características seminais de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*,  
Linnaeus, 1766).

#### COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira

Membro do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu/SP

Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Membro do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu/SP

Prof. Dr. Nei Moreira

Membro do Departamento de Biociências

Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Palotina/PR

Data da defesa: 24 de setembro de 2019.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre me guiar, me dando força para nunca desistir do meu sonho, colocando sempre pessoas maravilhosas em meu caminho.

Ao meu filho Vinicius que compreendeu a distância e mesmo longe torce por mim.

Ao amado companheiro Claudionor que apesar da dificuldade da distância física, dos contratempos enfrentados, decidiu ficar, me apoiar e me amar, sempre expressando seu orgulho e admiração.

Aos meus pais Reginaldo e Conceição que sempre me apoiaram e me incentivaram a buscar minha felicidade, sendo um exemplo de perseverança e plasticidade diante da vida.

Ao meu irmão Cleverson e sua companheira Tatiane que torcem pelo sucesso de minha empreitada, sabendo que não seria fácil, principalmente financeiramente.

Ao meu querido orientador e professor Dr. João que foi um pai, sempre sanando minhas dúvidas dedicando-se com paciência e carinho, aos conhecimentos compartilhados, não teria ninguém melhor para pegar na minha mão e me conduzir tão bem durante estes anos, obrigada por estar aqui sempre que precisei, você foi e sempre será um mestre, uma figura inspiradora com seu amor à docência transmitido a cada ensinamento, serei sempre uma grande admiradora. Obrigada por me conduzir.

Ao amigo e parceiro de trabalho Fernando que sempre esteve ao meu lado durante o experimento a paciência, dedicação e apoio aplicado, tornando o experimento mais leve e divertido, pela grande amizade regada a risadas e sorvete.

À Professora Dra. Fabiana, pela atenção e disponibilidade em responder meus questionamentos, pelo aceite em compor a banca, aos conhecimentos acrescentados na qualificação. Espero ainda aprender muito com a Dra.

À amiga Laíza pela disposição e carinho em auxiliar sempre que precisei e pelas risadas inconfundíveis.

Às amigas Ana Claudia Albuquerque e Luana Shaade pelo auxílio, leitura e sugestões durante a jornada.

Ao Professor Dr. Papa por permitir a utilização do seu laboratório para a realização de minhas análises, pela paciência em auxiliar esclarecendo minhas dúvidas e pelo tempo disponibilizado em observar minhas amostras, sempre que necessário.

Aos colegas Verônica e Lucas por auxiliar nas leituras de microscopia de luz de contraste diferencial (DIC) pelo ao tempo dispendido.

Aos colegas que fiz durante este tempo na Universidade pelas palavras de apoio e pelos momentos de descontração.

Ao Professor Dr. Nei, pelo aceite em compor a banca, seus conhecimentos serão muito importantes e enriquecedores.

A todos os departamentos e funcionários que sempre me acolheram amavelmente.

Agradeço principalmente ao Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens, seus residentes e estagiários, pela cortesia, pela disponibilidade para as avaliações ultrassonográficas e pelos animais, e ao Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária pelo acolhimento de todos que fazem parte do quadro de funcionários.

Aos animais que contribuíram para que o experimento fosse realizado.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código do Financiamento 001”.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura. 1.** Posicionamento do transdutor durante avaliação ultrassonográfica dos testículos de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) .....21
- Figura. 2.** Morfologia espermática de cachorro-do-mato (*C. thous*) mostrada com microscopia de luz de contraste de interferência diferencial.....26
- Figura. 3.** Morfologia espermática de cachorro-do-mato (*C. thous*) observada pelo método de Karras modificado .....27
- Figura. 4.** Avaliação ultrassonográfica em Modo B, dos testículos de cachorro-do-mato (*C. thous*) .....28
- Figura. 5.** Avaliação ultrassonográfica da próstata de cachorro-do-mato (*C. thous*).....29
- Fig. 1** Avaliação ultrassonográfica testicular de cachorro-do-mato (*C. thous*), modo Triplex doppler... .....30

### CAPÍTULO 3

- Figura. 1.** Eixo Hipotálamo-hipófise-gonadal, inibição hormonal diante do estresse. Adaptado de [60].....51



**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> Valores individuais e médios (EPM) das características seminais de cachorro-do-mato ( <i>C. thous</i> ).....	24
<b>Tabela 2</b> Valores médios (EPM) dos defeitos morfológicos espermáticos de cachorro-do-mato ( <i>C. thous</i> ) avaliados pelo método Karras modificado ou em preparação úmida sob microscopia de luz de contraste de interferência diferencial (DIC).....	25
<b>Tabela 3</b> Dimensões individuais e médias (EPM) da próstata de cachorro-do-mato ( <i>C. thous</i> ) mensuradas por ultrassonografia modo B.....	29
<b>Tabela 4</b> Valores médios (EPM) dos índices Dopplerfluxométricos, observados nos testículos de cachorro-do-mato ( <i>C. thous</i> ).....	29
ANEXOS	
<b>Tabela 1</b> Resultados individuais e médios (EPM), das características seminais de cachorro do mato ( <i>C. thous</i> ), avaliados pelo Computer - Assisted - Sperm Analysis – CASA.....	65

**SUMÁRIO**

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
CAPÍTULO 1.....	10
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	11
CAPÍTULO 2.....	14
TRABALHO CIENTÍFICO.....	15
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos.....	18
2.1. Animais.....	18
2.2. Condicionamento dos animais à colheita seminal por manipulação digital do pênis.....	18
2.3. Análise seminal.....	19
2.4. Morfometria espermática.....	20
2.5. Avaliação ultrassonográfica dos testículos e próstata.....	20
3. Resultados.....	22
4. Discussão.....	30
Referências.....	36
CAPÍTULO 3.....	44
REVISÃO DE LITERATURA.....	45
5.1. <i>Cerdocyon thous</i> .....	45
5.2. Conservação dos canídeos silvestres.....	46
5.3. Biotécnicas aplicadas em canídeos selvagens.....	47
5.4. Colheita de sêmen em canídeos silvestres.....	48
5.4.1. Sazonalidade.....	48
5.4.2. Cativeiro, estresse e dominância.....	50
5.4.3. Eletroejaculação.....	52
REFERÊNCIAS.....	55
ANEXOS.....	64

CARVALHO, J.C. **Características seminais de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766). Botucatu, 2019.** 70p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

O cão selvagem *Cerdocyon thous*, mais conhecido como cachorro-do-mato, estão suscetíveis a problemas como predação, caça e atropelamentos. A colheita e criopreservação do sêmen torna-se uma técnica auxiliar para a conservação *ex situ*, para tanto, estudos iniciais de caracterização seminal devem ser desenvolvidos. Esta espécie pode servir como modelo para espécies seriamente ameaçadas. O objetivo do trabalho foi realizar a colheita de sêmen por estimulação digital do pênis após o condicionamento dos animais, relatar as características seminais para a espécie, mensurar volume testicular e dimensões da próstata por ultrassom, além de relatar parâmetros Dopplerfluxométricos. Utilizamos machos adultos, (n=5), com idade média de 3 anos, (variando de 2 a 5 anos), pesando em média ( $\pm$  DP) 7 kg mantidos em cativeiro. O condicionamento teve início em maio de 2018, sendo que foram utilizados 13 ejaculados para as avaliações. Média e desvio padrão foram calculados. Com volume médio de  $463,8 \pm 164,9 \mu\text{L}$  e concentração de  $393,2 \pm 49,5 \times 10^6$  espermatozoides/mL, motilidade total  $68,0 \pm 1,7\%$ , progressiva  $48,8 \pm 1,4\%$  e rápidos  $57,2 \pm 1,9\%$ . Na avaliação morfológica foi encontrada alta prevalência de defeitos de cabeça (acrossomo, pequena anormal, diadema *defect* e formas teratológicas). O volume testicular  $2,2 \text{ cm}^3 (\pm 0,2)$  para o testículo esquerdo e  $2,1 \text{ cm}^3 (\pm 0,2)$  testículo direito, próstata com dimensão crâniocaudal e dorsoventral respectivamente,  $2,3 \text{ cm} (\pm 0,2)$  e  $1,5 \text{ cm} (\pm 0,1 \text{ cm})$ . Na avaliação ultrassonográfica modo Triplex *doppler*, a velocidade do pico sistólico (VPS) com maior média na artéria supra testicular e menor na artéria intratesticular. Concluímos que o condicionamento de *C. thous* à colheita de sêmen por estimulação digital do pênis é possível, o método é eficiente para a espécie, proporciona amostras viáveis, passíveis de avaliação; a técnica da ultrassonografia mostrou-se apropriada para as mensurações testiculares e prostáticas, a técnica ultrassonográfica modo Doppler foi capaz de identificar e mensurar o fluxo sanguíneo das artérias de interesse.

**Palavras chave:** *Cerdocyon thous*, Reprodução animal, Ultrassonografia, Sêmen, Condicionamento animal.

CARVALHO, J.C. **Seminal characteristics of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766). Botucatu, 2019.** 70p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

### ABSTRACT

The crab-eating fox *Cerdocyon thous*, known as the forest fox, is susceptible to problems such as predation, hunting and running over. Semen collection and cryopreservation becomes the main technique used for ex situ conservation. Therefore, initial studies of seminal characterization should be developed. This species can serve as a model for seriously threatening species. The objective of this study was to collect semen by digital penis stimulation after animal conditioning, to report seminal characteristics for the species, measure testicular volume and prostate dimensions by ultrasound, and report Triplex *doppler* velocometric parameters. We used 5 animals, males, adults, weighing 7 kg on average kept in captivity. The conditioning began in May 2018, 35 ejaculates were obtained, but just 13 were used for the evaluations. The results were expressed as average and standard error. The ejaculates presents 463.8 $\mu$ L  $\pm$ 164.9 of average volume, average concentration of 393.2  $\pm$ 49.5 x 10<sup>6</sup> / mL, total motility average, progressive and rapid of 68  $\pm$ 1.7%; 48.8  $\pm$ 1.4%; 57.2  $\pm$ 1.9% respectively. In the morphological evaluations, high prevalence of defects were observed (acrosomal injury, small abnormality and teratological forms). The testicular volume was 2.2  $\pm$ 0.2 cm<sup>3</sup> for the left testis and 2.1  $\pm$ 0.2 cm<sup>3</sup> right testis, prostate with cranio-caudal and dorsoventral dimensions respectively, 2.3  $\pm$ 0.2 and 2.1  $\pm$ 0.2cm. At Triplex *doppler* ultrasound evaluation, systolic peak velocity (SPV) with a higher mean in the supra-testicular artery and lower in the intratesticular artery, both in the right testis. We conclude that conditioning *C. thous* and of seed crops by digital penis stimulation is possible, the method is efficient for one species, provides viable, testable samples; An ultrasound technique proved to be adjustable for testicular and prostate measurements, The Triplex *doppler* ultrasound technique was able to measure the blood flow of the arteries of interest.

**Keywords:** *Cerdocyon thous*, Animal reproduction, Ultrasound, Semen, Conditioning animal.

# **CAPÍTULO 1**

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Pertencente à subfamília Caninae, o *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766), é conhecido popularmente como cachorro-do-mato, lobete, lobinho, graxaim, graxaim do mato, raposinha-do-mato, raposão, guaraxo, guancito, fusquinho e rabo-fofo [1].

O *C. thous* é considerado um canídeo de porte médio monogâmico, organizado em uma sociedade facultativamente cooperativa, associado a auxiliares, formando um grupo social estendido [2]. Após os filhotes chegarem à idade adulta e se dispersarem do grupo, ainda circulam pelo mesmo território, indicando que o contato com os ancestrais é mantido [2].

Considerada uma espécie endêmica na América do Sul, habita vários biomas e tem facilidade de adaptação. A perda de habitat e a facilidade de obtenção de alimento em áreas urbanas, tem aproximado a espécie das residências e dos animais domésticos, ficando suscetível a problemas como predação, caça, disputas por alimentos com cães domésticos, e suscetibilidade às enfermidades de cães domésticos [1,3].

Além de ser a espécie mamífera mais atropelada no Brasil [4,5], o cachorro-do-mato sofre ainda com a caça na região da caatinga, onde por crendice popular sua gordura é utilizada para o tratamento de prolapso uterino em animais de produção [1,4,6]. Apesar de não estar na lista dos animais ameaçados de extinção [3] o número de indivíduos da espécie vem decrescendo progressivamente em várias áreas do Brasil [5,7], e parece ser apenas uma questão de tempo o declínio da sua população [8], sendo importante o desenvolvimento de medidas de conservação [9].

Desta forma, as biotécnicas reprodutivas são importâtes para o manejo genético de populações selvagens, pois permitem a troca de material genético entre populações de vida livre e de cativeiro aumentando variabilidade genética das populações [8,10,11]. Neste contexto, estabelecer métodos de eficientes de criopreservação do seminal e inseminação artificial é fundamental para a manutenção das espécies [11–13]. No entanto, devido à pouca disponibilidade de informações básicas sobre a anatomia e biologia reprodutiva das espécies selvagens, o uso de biotécnicas de reprodução assistida ainda é complexo [14].

A colheita do sêmen nos animais selvagens exige a utilização de protocolos anestésicos que permitam a manipulação segura do macho durante os procedimentos de eletroejaculação [15]. Um dos obstáculos enfrentados neste método em canídeos, é a contaminação do ejaculado com urina [16] que, por sua característica físico-química, torna o meio inviável para a sobrevivência dos espermatozoides, por danificar irreversivelmente as membranas espermáticas [15,17–19].

Diversas estratégias vêm sendo utilizadas na tentativa de minimizar a contaminação do ejaculado dos animais selvagens por urina. Entre estas, destacam-se a busca por protocolos anestésicos específicos [17], o posicionamento restrito da probe na ampola retal na região dorsal à próstata [20,21], o uso de aparelhos de eletroestimulação capazes de emitir correntes elétricas de estimulação contínua (onda senoidal) ou alternadas (onda quadrática) [22] e o protocolo de eletroestimulação espécie específico [19,23].

Embora existam relatos de sucesso na obtenção de amostras seminais adequadas em algumas espécies selvagens [24], até o presente momento essa não é a realidade de muitos canídeos selvagens, incluindo o cachorro-do-mato. Apesar de existir um relato de colheita seminal com relativo sucesso nessa espécie, as amostras obtidas nesse estudo estavam contaminadas por urina e os escassos espermatozoides obtidos, que se encontravam imóveis, só puderam ser avaliados do ponto de vista morfológico [16], o que nestas condições tem valor questionável.

O insucesso dos protocolos utilizados nas tentativas de colheita seminal por eletroejaculação em canídeos selvagens vem estimulando a busca por procedimentos alternativos. Devido à facilidade de manejo e à relativa docilidade desses animais, a colheita seminal por estimulação digital do pênis, tradicionalmente empregada nos canídeos domésticos, vem sendo testada em canídeos silvestres [25,26]. Este procedimento já foi aplicado com sucesso em lobos-guará, que após serem condicionados à contenção física, ejacularam por meio da estimulação digital do pênis [25,26].

Além da colheita e avaliação do sêmen, o estudo ultrassonográfico dos órgãos reprodutivos, podem contribuir para o estudo dos aspectos reprodutivos. Visto que a ultrassonografia é uma ferramenta importante para se estudar a biologia reprodutiva de populações cativas e selvagens [14], que vem sendo usada como método de avaliação dos órgãos genitais como, testículo, glândulas sexuais acessórias, útero e ovários. Essa

técnica, além de permitir a caracterização morfológica destes órgãos, também auxilia na detecção de afecções reprodutivas, muitas vezes assintomáticas [14,27]. A correta avaliação ultrassonográfica depende do conhecimento prévio das estruturas do sistema reprodutor [28]. Quando a ultrassonografia Modo B é associada ao Modo *doppler* colorido e modo pulsado, temos o modo Triplex *doppler*, que torna possível estudar o aporte sanguíneo dos órgãos, além da caracterização morfológica. Essas duas informações, avaliadas em conjunto, permitem inferências importantes sobre a função dos órgãos estudados [29].

Existem descrições importantes sobre os padrões de fluxo sanguíneo nos testículos de canídeos domésticos, obtidas por ultrassonografia Triplex *doppler* colorido e pulsado. Esses dados, fornecem informações valiosas para a avaliação andrológica, são desconhecidos nos canídeos selvagens [30,31].

Dada a escassez e importância do conhecimento reprodutivo anatômico e fisiológico do sistema genital masculino de *C. thous*, este estudo teve como objetivo condicionar os animais à colheita de sêmen por estimulação digital do pênis, estabelecer características seminais e morfológicas espermáticas da espécie, realizar a morfometria testicular e prostática, além de padrões circulatórios dos testículos de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*).

O presente trabalho está dividido em três capítulos: o primeiro capítulo são as considerações iniciais, expondo a importância do estudo desenvolvido; o capítulo 2, abriga o trabalho científico encaminhado a publicação e o capítulo 3, aborda a revisão de literatura realizada.