

Aplicabilidade da Colpocitologia e dosagem da progesterona na inseminação artificial em cadelas

 <https://doi.org/10.56238/sevened2024.007-081>

Juliana Hilário Cardoso de Paiva

E-mail: juliana.hcp97@gmail.com

Ana Carolina Do Nascimento Deboni

E-mail: anacarolinadeboni@gmail.com

Lyvia Freitas Marques

E-mail: lyviarfm@gmail.com

Laís Siqueira Barboza da Silva

E-mail: laisbarboza91@gmail.com

Maria Eduarda Capela Masello

E-mail: masellomecm@gmail.com

Eliene Porto Sad Pina

E-mail: elienesad@gmail.com

Aline Vieira Pinheiro dos Santos

E-mail: alinevpsantos11@gmail.com

Luis Eduardo Ferreira de Almeida

E-mail: almeida@petinrio.com.br

Dala Kezen Vieira Hardman Leite

E-mail: dkezen@gmail.com

RESUMO

Animais de estimação vem sendo criados para o convívio com seres humanos por diferentes razões, a principal são as relações afetivas, mas também, com a finalidade de terapia, companhia para pessoas portadoras de necessidades especiais, esportes, participação em torneios e exposições e reprodução. O setor pet no Brasil é dividido em 3 pilares, a indústria, o comércio e os serviços de criação de animais. Com isso a reprodução animal e o melhoramento genético vêm ganhando espaço, devido a um aumento da procura por especialistas e consequentemente aumento significativo de pesquisa na área. Sendo a inseminação artificial a biotecnologia mais empregada nesta espécie, principalmente quando a monta natural é inviável devido a questões anatômicas e comportamentais, além da melhora no ganho genético. Além disso, ela minimiza o estresse causado pela manipulação dos animais durante a monta convencional e previne doenças transmitidas durante o ato da cópula. O êxito desse procedimento requer um profundo entendimento da fisiologia reprodutiva da espécie em questão. A avaliação das matrizes e reprodutores envolve exames detalhados, incluindo o exame ginecológico, colpocitologia, dosagem sérica de progesterona e exame andrológico. A citologia vaginal objetiva identificar a fase do ciclo estral e possíveis patologias através células do seu epitélio, enquanto a dosagem sérica de progesterona visa ter uma maior exatidão do momento da inseminação e o exame andrológico tem por objetivo avaliar a fertilidade do reprodutor. Na avaliação clínica geral, diversos parâmetros são considerados, como histórico reprodutivo, patológico, protocolos vacinais e parasitários. A colpocitologia é considerada um método mais prático, de menor custo e de mais fácil aplicação, refletem as alterações da concentração de estrógenos e não da progesterona. A dosagem hormonal da progesterona é realizada no final do proestro ou início do estro, que é quando antecede o pico de LH. Ao atingir o pico de LH, os níveis de progesterona aumentam. Isso significa dizer que haverá ovulação, sendo, então, o momento ideal para realizar a inseminação artificial intravaginal.

Palavras-chave: Citologia vaginal, Fisiologia reprodutiva, Sêmen, Cadelas.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os animais domésticos tornaram-se membros importantes do núcleo familiar. O cão, devido a sua fácil e agradável adaptação é o companheiro mais que presente na vida de várias pessoas. A grande variedade de padrões, tamanhos, aptidão, e ainda as diferentes características de cada raça traz uma gama de opções capazes de atender à necessidade de vida dos diferentes tutores. O tratamento mais humanizado visa garantir uma melhor qualidade de vida para os pets, com melhores condições de saúde, nutrição e bem-estar. Os tutores se interessam cada vez mais em obter animais de alto valor genético, de acordo com seu estilo de vida, ou, até mesmo, na intenção de atender um mercado diferenciado. (Santana *et al.*, 2017; Silva e Brito, 2023).

Segundo o anuário Pet 2023 do instituto Pet Brasil o Brasil figura como terceiro principal mercado mundial, com participação de 4,6% (cerca de U\$5,4 bilhões). Entre 2019 e 2022, o faturamento do varejo Pet aumentou 70,5%, saltando de 35,3 bilhões para 60,2 bilhões. O setor pet no Brasil é dividido em 3 pilares: indústria, comércio e serviços & criação de animais. Os serviços gerais já correspondem a R\$5,3 bilhões e os serviços veterinários faturaram R\$5,6 bilhões. Já a venda de animais de estimação diretamente de criadores legais é o segundo segmento mais importante do mercado, movimentando R\$6,3 bilhões. A quantidade de empresas do setor Pet brasileiro ultrapassou 292 mil estabelecimentos e 107,4 mil criadouros. Estima-se que o estoque de empregos do setor pet, considerando tanto o setor formal quanto o informal, foi de aproximadamente 3,1 milhões no Brasil em 2022. Registrou-se um aumento de 30 mil postos de trabalho em 2022 na comparação com 2021. O setor de serviços especializados (atividades com registro no Conselho Federal de Medicina Veterinária) gerou 122.000 empregos (Medeiros e Larissa, 2023). Segundo a ABINPET, estima-se que existem um total de 167,6 milhões de pets no Brasil, sendo 67,8 milhões de cães e 33,6 milhões de gatos. Tendo isso em mente, o segmento pet tem tudo para estar sempre em funcionamento e evolução, visto que possui um público fiel em constante crescimento. São mais de 285 mil empresas voltadas para os pets no Brasil, sendo o terceiro maior mercado pet do mundo. Os animais de estimação são animais criados para o convívio com seres humanos por razões afetivas, gerando uma relação benéfica. Eles têm como destinações principais: terapia, companhia, lazer, auxílio aos portadores de necessidades especiais, esportes, ornamentação, participação em torneios e exposições, conservação, preservação, criação melhoramento genético e trabalhos especiais. A trajetória do setor pet brasileiro acompanha a caminhada rumo à urbanização e a crescente integração dos animais de estimação na vida das famílias. Tornaram-se companheiros do cotidiano. Isso faz com que famílias de todos os tipos e tamanhos aumentem os cuidados com a saúde dos pets. O setor pet brasileiro ganhou projeção internacional, e figura constantemente entre os principais mercados do mundo (GOV.BR, 2023).

Segundo Silva e Brito (2023) a criação de cães de raça vem aumentando significativamente, conseqüentemente a exigência de serviços veterinários especializados nesse novo mercado também

aumentou. A área destinada a reprodução animal é uma das que mais se destaca, devido a procura por melhoria da qualidade do plantel, uma vez que pela incrementação de biotécnicas é possível dinamizar o potencial de crescimento da criação (Silva; Brito, 2023). Os primeiros estudos relacionados à inseminação artificial e conservação de sêmen canino datam do final do século XVIII, desenvolvidos, por Lázaro Spallanzani segundo England (1993). Christensen e Meyers (2023) relatam ainda que o cão foi o primeiro mamífero a se reproduzir a partir de uma inseminação artificial em 1776. Por isso, biotecnologias aplicadas à reprodução, como a inseminação artificial intravaginal (IAIV) com sêmen fresco pode ser utilizada para este propósito. A IAIV é uma técnica importante desenvolvida para o melhoramento genético dos animais, sendo a técnica mais comum a ser utilizada, por ser de fácil execução e por oferecer bons resultados. Para isso, o profissional médico veterinário atuante na área de reprodução animal deve ter um amplo conhecimento sobre a morfofisiopatologia reprodutiva da espécie, cinofilia, ter noção das preferências do mercado, isto é, saber quais raças são as mais procuradas e adquiridas pelas pessoas, além de ter segurança para exercer a clínica médica geral e reprodutiva (Gonçalves *et al.*, 2021; Silva e Brito, 2023).

A seleção de cães reprodutores é fundamental para obter êxito na inseminação artificial. Para isso será necessário avaliar ambos, o macho e a fêmea, através de uma anamnese, exame físico com a inspeção e palpação dos órgãos reprodutivos, e exames complementares no manejo reprodutivo: a colpocitologia e dosagem de progesterona e o exame andrológico (CBRA, 2103; Santos *et al.*, 2016, Souza *et al.*, 2023).

Para obter resultados com a inseminação artificial, é indispensável conhecer o ciclo estral da espécie. A cadela é uma espécie cujo estros variam em média a cada seis meses, sendo classificada como monoéstrica. O ciclo estral da fêmea canina possui quatro fases: proestro, estro, diestro e anestro (Silva, 2016; Secco e Moya, 2021). O proestro tem uma duração média de 9 dias, que pode variar para mais ou menos dias, e é caracterizado pelo interesse do macho pela fêmea, porém a fêmea recusa a monta. Os sinais clínicos presentes nesta fase é a hiperemia vaginal, secreção serosanguinolenta e edema vulvar. O término do proestro é marcado pelo início da aceitação da fêmea pela corte do macho (Silva, 2016; Silva e Lima, 2018). O início do período fértil ocorre durante o estro, a fêmea passa a aceitar cobertura, na posição de cio, e não apresenta secreção vaginal. O estro possui duração de cerca de 5 a 15 dias, com média de 9 dias. Nesta fase, os níveis de estrógenos diminuem antes do pico de Hormônio Luteinizante (LH). Ao bater o pico de LH, ocorrerá a ovulação de ovócitos imaturos, que irão maturando ao longo de 48 a 60 horas após esse pico, e com isso, aumentando a produção sinérgica de progesterona, atingindo cerca de 10 à 25ng/mL. O diestro ou fase luteal é caracterizado pela diminuição da progesterona. Em uma cadela gestante, haverá a formação de corpo lúteo, que vai manter os níveis de progesterona alto para manutenção da gestação, e esse corpo lúteo sofrerá luteólise abrupta no pré-parto, pela prostaglandina f2 alfa. Entretanto, em uma cadela não gestante, esse mesmo

corpo lúteo não sofrerá luteólise abrupta e sim uma lenta regressão com duração de 72 dias, diminuindo assim, a progesterona de forma lenta. Com isso, a cadela é a única espécie que possui uma fase lútea maior que a gestação. Por último, o anestro é a fase de inatividade sexual total (Johnston e Kustritz, 2001; Rodrigues *et al.*, 2019; Silva e Lima, 2018). Por apresentar essa fisiologia reprodutiva peculiar e ainda pouco compreendida associada às características anatômicas do trato reprodutivo feminino, o desenvolvimento das técnicas de reprodução assistida na espécie canina ainda é um desafio (Suzuki *et al.*, 2022).

O exame andrológico também tem sido de grande valia na reprodução canina, pois avalia a fertilidade do cão no programa de monta natural ou da inseminação artificial, como também na conservação do material genético, na seleção de reprodutores e diagnóstico de infertilidade, além de, investigar o efeito da doença prostática na qualidade do sêmen. Fatores como a pequena quantidade do volume da fração espermática têm limitado a criopreservação do sêmen, bem como a falta de padronização de diluidores, salientando a necessidade de mais estudos e cautela na avaliação seminal. (Santos *et al.*, 2016; Mason, 2018; Tesi *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2019).

O exame andrológico é de suma importância para detectar as condições clínicas e estimar a eficiência reprodutiva dos reprodutores. Este exame avalia todas as estruturas anatômicas, como, bolsa escrotal, testículos, epidídimos, próstata, prepúcio e pênis, Avalia a simetria, presença ou não, posição, localização, consistência dos testículos e epidídimos. Quanto a biometria testicular é medido o comprimento, largura e o perímetro escrotal (CBRA, 2013; Luz e Silva, 2019). A coleta de sêmen é realizada com o método de manipulação digital e duas avaliações são realizadas no espermograma: macroscópica e microscópica. A avaliação macroscópica, consiste em se avaliar volume, cor, densidade, odor e o pH do sêmen., No exame microscópico é avaliado a motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática (CBRA, 2013; Silva e Brito, 2023; Souza *et al.*, 2023).

A qualidade seminal afeta diretamente na fertilidade, portanto, em um cão reprodutor a mesma deve ser avaliada, a fim de garantir uma eficiência reprodutiva. A correlação das características seminais às características do reprodutor, como idade ou peso, e fertilidade são fatores que precisam possuir uma maior relevância na rotina da avaliação reprodutiva. O espermograma é de extrema importância e o ideal é ser realizado regularmente (Mason, 2018; Tesi *et al.*, 2018).

Os exames complementares, como a colpocitologia e dosagem sérica de progesterona, são utilizados para acompanhar as fases do ciclo estral e estimar a etapa da ovulação, para, então, identificar o melhor momento para a inseminação artificial. A citologia vaginal é feita com um *swab* e é capaz de detectar as células predominantes em cada fase do ciclo. Na fase do proestro, as células parabasais e intermediárias, com presença de neutrófilos e bactérias são evidenciadas. Na fase de estro, predomina a presença de células superficiais, nucleadas ou anucleadas, bactérias e com ausência de neutrófilos. No diestro, células parabasais, intermediárias e células de metaestro com reduzida

quantidade de bactérias e grande quantidade de neutrófilos (Silva, 2016; Silva e Lima, 2018; Santos *et al.*, 2022). E, por fim, no anestro, pouca ou nenhuma presença de células parabasais e intermediárias, com ou sem bactérias e neutrófilos (Silva, 2016; Silva e Lima, 2018, Santos *et al.*, 2022).

A citologia vaginal é considerada o método mais prático, de menor custo e de mais fácil aplicação, porém é um pouco limitado, pois as alterações do epitélio vaginal refletem as alterações da concentração de estrógenos e não da progesterona. Isso significa que o esfregaço vaginal não mostra com exatidão quando a cadela estará apta para ser inseminada, sendo necessário que se trabalhe com um intervalo de alguns dias para que se estime o período fértil. A máxima cornificação celular pode ocorrer de 3 a 6 dias após pico de estradiol e pode se estender por 6 dias, o que em termos práticos significa que a máxima cornificação pode acontecer de 4 dias antes do momento ideal para inseminar até 3 dias depois (Linde-Forsberg e Forsberg, 1989).

A dosagem de progesterona sérica é feita através da coleta de 5mL de sangue, cerca de 48 horas após o fim do proestro, que é quando antecede o pico de LH. Ao atingir o pico de LH, os níveis de progesterona aumentam, chegando de 10 a 25ng/ml. Isso significa dizer que haverá ovulação, sendo, então, o momento ideal para realizar a inseminação intravaginal (Nogueira *et al.*, 2019). A cadela apresenta uma biologia reprodutiva interessante quando comparada à outras espécies pois os oócitos são eliminados como oócitos primários e depois de 1 a 3 dias alcançam a segunda divisão meiótica e então serão considerados fertilizáveis. Esse oócitos podem se manter fertilizáveis por cinco ou mais dias após a ovulação (England *et al.*, 2021).

As técnicas de reprodução assistida em cães podem contribuir para a diversidade genética e para a eficiência do programa reprodutivo, porém ainda é limitada quando comparada àquelas em outros mamíferos e até mesmo em humanos (Suzuki *et al.*, 2022). A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica muito importante desenvolvida para o melhoramento genético dos animais, sendo utilizada quando há impossibilidade da monta natural, por problemas anatômicos e/ou comportamentais; podendo minimizar também o estresse causado pela manipulação dos mesmos para a monta natural. Além disso, a IA também auxilia na prevenção de doenças transmitidas durante a cópula e na preservação do material genético. Já foram descritos quatro tipos de inseminação artificial em cadelas: vaginal inseminação vaginal, inseminação transcervical (Cateter Norueguês), inseminação transcervical assistida por endoscópio, inseminação cirúrgica. A inseminação artificial intravaginal (IAIV) é comumente utilizada para inseminação com sêmen fresco ou resfriado e não é recomendada para sêmen congelado (Suzuki *et al.*, 2022).

A IAIV com o sêmen fresco é o método mais comumente realizado, por ser de fácil execução e trazer bons resultados. Esse procedimento requer uma sonda que seja capaz de alcançar o fundo da vagina da cadela e assim depositar o sêmen (Souza *et al.*, 2023). O ideal é o uso de sondas maleáveis como a sonda de Osiris (IMV-technologies, França) ou MAVIC (Minitube, Alemanha), pois tais

equipamentos se adequam de forma mais fácil às curvaturas presentes no trato reprodutor da cadela. As sondas mais rígidas similares as utilizadas em outras espécies, podem apresentar desconforto em sua introdução, principalmente em cães do tipo “bull” (como Buldogue Francês e American Bully), pois em grande parte das fêmeas dessas raças ocorre uma acentuada hiperplasia clitoriana durante o estro, o que faz com que essa estrutura aumente significativamente seu tamanho, dificultando a passagem de qualquer equipamento pela vagina. A inseminação artificial intravaginal (IAIV) é a técnica mais comum a ser utilizada, por ser de fácil execução e por oferecer bons resultados. A IAIV com sêmen a fresco consiste na coleta pelo método da manipulação digital, análise do sêmen e deposição, na região cranial da vagina sob um ângulo de 45° ventralmente, utilizando uma pipeta. A região pélvica da fêmea é elevada por cinco a dez minutos, acompanhada de massagem na região clitoriana, visando evitar o refluxo do sêmen e garantir o máximo sucesso do procedimento (Souza *et al.*, 2023; Silva e Brito, 2023).

Para o procedimento, primeiramente é necessário observar e acompanhar o comportamento e os sinais de proestro, e então, fazer uma citologia vaginal para detectar quais são as células presentes e características da fase. Uma cadela em fase final de proestro, começa a aceitar a corte do macho, indicando assim, o início de sua fase de estro. Neste momento, deverá ser feito uma nova citologia vaginal para confirmar a presença de células superficiais e uma dosagem de progesterona sérica, para então detectar o pico de LH. Simultaneamente, é necessário fazer a coleta e realização e avaliação do espermograma, para colocá-lo em uma seringa, que será acoplada à sonda (Monteiro *et al.*, 2020).

Posteriormente, será realizada a limpeza da vulva com algodão e solução de cloreto de sódio a 0,9%. Para fazer a deposição do sêmen, é utilizado a pipeta de inseminação da IMV-technologies com cerca de 15 cm (Monteiro *et al.*, 2020). Em todos os casos, a pipeta é lubrificada e introduzida na vagina, se guiando pela comissura dorsal da vulva num ângulo de 45° da horizontal em direção à coluna lombar e cranial a vagina. Ao oferecer resistência, será o momento para a deposição do sêmen (Mason, 2018; Souza *et al.*, 2023).

O momento da inseminação artificial é um fator importante para o sucesso da técnica. Como a cadela ovula cerca de 48 horas após o pico de hormônio luteinizante (LH) e esse ovócito ovulado ainda é imaturo e leva cerca de mais 48 horas para maturar na tuba uterina, a inseminação deve ser feita o mais próximo possível da maturação desses ovócitos, ou seja, em torno de 96 horas (4 dias) após o pico de LH, por isso, a observação do comportamento de estro somado aos exames de colpocitologia e dosagem de progesterona sérica são fundamentais para concretizar a futura prenhez. Durante esse tempo, pode-se realizar a deposição de sêmen até 3 vezes a cada 48 horas a partir do pico de LH até a mudança da citologia vaginal para a fase de diestro (Moya *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2023).



REFERÊNCIAS

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3ª ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013.104p.

CHRISTENSEN, B.W., MEYERS, S. Canine Semen Evaluation and Processing. *Vet Clin Small Anim*, v. 53, p. 921–930, 2023.

ENGLAND, G.C.W. Cryopreservation of dog semen: a review. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.47, p.243-255, 1993.

ENGLAND, G.C.W.; RIJSSELAERE, T.; CAMPBELL, A.; MOXON, R.; FREEMAN, S.L. Normal and abnormal response to sperm deposition in female dogs: A review and new hypotheses for endometritis. *Theriogenology*, v.159, p.176-183, 2021.

GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R.; GASPERIN, B.G. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal e à Humana. 3 ed: Roca; 2021. 416p.

GOV.BR. Release: Setor Pet mantém indicação de crescimento desacelerando em 2023, alta carga tributária impacta a alimentação pet e é um desafio para o setor. <http://www.gov.br>: 2023, 38 a – ro - 26-10-23.

JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.; OLSON, P.N. Canine and Feline Theriogenology. W. B. Saunders. 2001; 592p.

LINDE-FORSBERG, C.; FORSBERG, M. Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination with fresh and frozen semen. *J. Reprod. Fert., Suppl.*, v.39, p. 299-310, 1989.

LUZ, M. R.; SILVA, A. R. Reprodução de Cães. Barueri: Editora Manole. 432p, 2019.

MASON, S. J. Current review of artificial insemination in dogs. *Veterinary Clinic Small Animals*, v.48, n.4, p.567-580, 2018.

MEDEIROS, D., Larissa, S., Crescimento do mercado pet e oportunidade de negócio Entenda como o mercado pet tem se moldado e crescido para melhor atender aos animais e seus tutores. 2023. <https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ufs/al/artigos/crescimento-do-mercado-pet-e-oportunidade-de-negocio,021731b7fe057810VgnVCM1000001b00320aRCRD>.

MONTEIRO, K. S.; BERGMANN, L. J.; FERREIRA, B. C.; LIRA, G. M.; MARQUES, T. F. R.; FONSECA, T. C.; BERALDO, E.; MURGAS, L. D. S. Inseminação Artificial e acompanhamento em uma cadela da raça Bull Terrier com histórico de agressividade: relato de caso. *Caderno de Ciências Agrárias*, v. 12, n. 1, p. 1-5, 2020.

MOYA, C. F.; HERNANDES, B. M. S.; LEME, F. C.; CAMPLESI, A. C. Taxa de prenhez e tamanho da ninhada de cadelas Buldogue Inglês inseminadas com sêmen fresco. *PUBVET*. v.15, n.05, a814, p.1-5, 2021.

NOGUEIRA, C. S.; FERREIRA, M. H.; SILVA, W. C.; SILVA, L. K. X.; BATISTA, H. R.; ARAÚJO, L. J. S.; SERRUYA, F. J. D.; SILVA, E. B. R. Determinação da fase do ciclo estral através da anamnese e citologia vaginal associada à dosagens hormonais. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. Edição especial. v. 2, n.3, p. 1037-1045, 2019.



RODRIGUES, J.L.; BERTOLINI, M.; FERREIRA, B.C, et al. Biotecnologias da Reprodução Animal: de Aristóteles à edição gênica. Anais do XXIII Congresso de Reprodução Animal, v.12, n.1, p.1-6, 2019.

SANTOS, J.F.P; GOSMES, E.T.; SIQUEIRA, A.K.M; CARDOSO, R.C.S. Andrologia e criopreservação de sêmen em cães. R. Bras. Reprod. Anim; 2016. 167-179p.

SANTOS, J.F.P.; SOUZA, A. P. C.; SANTOS, A.V.; LEITE, D.K.V.H. Colpocitologia na avaliação da vida reprodutiva em uma cadela Sptiz Alemão. Revista Multidisciplinar em Saúde, v.3, n.3, p.144, 2022.

SANTANA, L.R, BITTENCOURT, R.F, FELIX, N.D, NASCIMENTO, A.B. Perfil Espermático de reprodutores da raça Bulldogue francês. Anais da 2ª Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA). Campo Grande: EMBRAPA, 2017;1: 96-99p.

SECCO, P. M.; MOYA, C. F. Fisiologia Reprodutiva Básica da Fêmea Canina. Atualidades e fundamentos em reprodução e desenvolvimento. v. 1, n. 4, p. 61-75, 2021.

SILVA, H. V. R.; BRITO, B. F. Atuação do médico veterinário especialista em reprodução no manejo de canis. Rev Bras Reprod Anim, v.47, n.2, p.286-293, 2023.

SILVA, L. D. M.; LIMA, D. B. C. Aspectos da fisiologia reprodutiva da cadela. Rev. Bras. Reprod. Anim., v.42, n.3-4, p.135-140, 2018.

SILVA, L. D. M. Controle do ciclo estral em cadelas. Rev. Bras. Reprod. Anim., v.40, n.4, p.180-187, 2016.

SOUZA, A. P. C.; SANTOS, N. R. A.; ALMEIDA, L. E. F.; SANTOS, A. V. P.; LEITE, D. K. V. H. Inseminação artificial com sêmen a fresco em uma cadela da raça pastor de Shetland: relato de caso. Revista Ft, v.27, n.122, p.04-10, 2023.

SUZUKI, H.; WATANABE, H., ABE, Y. Assisted reproductive techniques for canines: preservation of genetic material in domestic dogs. Journal of Reproduction and Development, v.68, n.1, p.1-11, 2022.

TESI, M.; SABATINI, C.; VANNOZZI, I.; DI PETTA, G.; PANZANI, D.; CAMILLO, F. ROTA, A. Variables affecting semen quality and its relation to fertility in the dog: a retrospective study. Theriogenology, v.118, p.34-39, 2018.