

## MOTILIDADE ESPERMÁTICA NO SÊMEN SUÍNO ADICIONADO DE GEMA DE OVO DE QUATRO LINHAGENS DE GALINHAS

*(Sperm motility in the swine semen added of egg yolk of four line of chickens)*

Ricardo Toniolli<sup>1</sup>; Faviano Ricelli da Costa Moreira<sup>2</sup>; Luciana de Souza Toniolli<sup>3</sup>; Tatiane Bandeira Barros<sup>3</sup>; Daiany Barboza Guimarães<sup>3</sup>; Lina Raquel Santos Araújo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia do Sêmen, FAVET/UECE; <sup>2</sup>Centro Federal de Educação Tecnológica do Rio Grande do Norte, Ipanguaçú-RN; <sup>3</sup>Estagiários LRSTS – UECE, Avenida Silas Manguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000.

### RESUMO

Objetivou-se testar a gema de ovo de quatro diferentes linhagens de galinhas, adicionada ao diluente Beltsville Thawing Solution (BTS), para verificar sua proteção sobre a célula espermática contra o choque térmico. Foram utilizados ejaculados de quatro reprodutores suínos com idade entre 12 e 24 meses, durante 8 semanas (n=32), em um delineamento experimental de blocos ao acaso e esquema fatorial 5x2 (cinco diluentes e duas temperaturas). Ao BTS, adicionou-se 2,5% de gema de ovo de galinhas das linhagens: Plymouth Rock Barrada (PRB); Postura Comercial (PC); Gigante Negra do Pescoço Pelado (GnPP) e Hubbart (Hubb). Os ejaculados foram submetidos aos seguintes tratamentos: 01. A (BTS-controle); 02. B (BTS+PRB); 03. C (BTS+PC); 04. D (BTS+GnPP); 05. E (BTS+Hubb) e avaliados, quanto ao vigor e motilidade, durante cinco dias. Valores do vigor espermático a 17 °C foram semelhantes entre os tratamentos até o D1. A partir do D2, melhores valores de vigor foram observados nos diluentes A e B. Já no sêmen a 4 °C, não foram verificadas diferenças, em relação ao vigor, entre os tratamentos durante o período avaliado. A partir do D0 observou-se queda nos valores de vigor, em todos os tratamentos. Na motilidade espermática a 17 °C, somente a partir do D2, o diluente A manteve maiores valores. No sêmen a 4 °C, não foram observadas diferenças significativas entre os diluentes testados, quanto à motilidade espermática. Concluiu-se que a gema de ovo na concentração de 2,5 % não conferiu proteção às células espermáticas contra o choque térmico, sendo necessários maiores estudos para uma definição da concentração ideal, que permita a manutenção da viabilidade espermática.

**Palavras-chave:** choque térmico, conservação, diluente, espermatozoide, gema de ovo.

### ABSTRACT

The objective of this study was to test the egg yolk of four different lines of chickens added to the Beltsville Thawing Solution and to verify its protection against the sperm cell thermal shock. Ejaculates of four boars aged between 12 and 24 months, during 8 weeks (n=32) in a randomized block design, in a 5x2 factorial scheme (five extenders and two temperatures). To the BTS extender was added 2.5% egg yolk from lines of chickens: Plymouth Rock Barrada (PRB); Business Posture (PC); Black Giant of the Peeled Neck (GnPP) and Hubbart (Hubb). The ejaculates were submitted to the

<sup>1</sup>Endereço para correspondência:  
ricardo.toniolli@uece.br

following treatments: 01. A (BTS-control); 02. B (BTS+PRB); 03. C (BTS+PC); 04. D (BTS+GnPP); 05. E (BTS+Hubb) and evaluated for vigor and sperm motility for five days. Sperm vigor values at 17 °C were similar between treatments up to D1, since D2, the best vigour values were observed in the extenders A and B. In the case of semen stored at 4 °C, no differences were observed in relation to the vigor between the treatments during the evaluated period. From the D0, vigour values were observed in all treatments. In relation to the sperm motility at 17 °C, only from D2, the diluent A maintained higher values in relation to the other diluents. In the semen at 4 °C, no significant differences were observed between the extenders tested for sperm motility. It was concluded that 2.5% egg yolk did not protect the sperm cells against thermal shock, and further studies are needed to define the optimal concentration to maintain sperm viability.

**Key Words:** conservation, diluent, sperm, thermal shock, yolk egg.

## INTRODUÇÃO

Um dos principais obstáculos para o uso da inseminação artificial (IA), na espécie suína, seria o curto período de vida dos espermatozoides conservados (CHENG, 1988). A inseminação, utilizando sêmen suíno refrigerado, necessitaria de um rápido sistema de transporte e de diluentes seminais, que prolongassem a vida dos espermatozoides por vários dias (CRABO, 1990). Os diluentes ajudariam a proteger as membranas dos espermatozoides de mudanças na temperatura e abalos durante o transporte, enquanto também proporcionariam energia e estabilização de pH (LINDE-FOERSBERG, 1991; CORRÊA *et al.*, 2001), oferecendo condições osmóticas favoráveis aos espermatozoides, durante o período de armazenamento (CHENG, 1988).

A sua difusão teve uma grande influência proporcionada pelo desenvolvimento de diluentes que permitem a conservação do ejaculado do varrão por até um período de 7 dias com bons resultados de fertilidade (ALKMIN *et al.*, 2011). Esta é uma biotecnologia que faz parte da rotina reprodutiva de granjas comerciais à nível mundial (BORTOLOZZO *et al.*, 2005) e que tem proporcionado uma melhoria dos padrões produtivos das mesmas (PORKWORLD, 2009).

A incorporação da gema de ovo aos diluentes teria o objetivo de reduzir o choque pelo frio, por apresentar em sua constituição componentes como fosfolípidios e lipoproteínas, capazes de conferir proteção à membrana plasmática dos espermatozoides (HU *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2012). A adição de uma

macromolécula crioprotetora ao diluente poderia elevar a porcentagem de fertilidade e com a vantagem adicional de permitir a sobrevivência espermática tanto à temperatura convencional (16 °C) como a baixas temperaturas, a 5 °C, por exemplo (RUSU *et al.*, 2011).

Autores relacionariam os efeitos positivos da gema de ovo à existência de uma ação sinérgica entre os componentes presentes no diluente e na gema, proporcionando uma melhor capacidade de preservação das células espermáticas (RUSU *et al.*, 2011; CHUTIA *et al.*, 2014). O diluente Androhep Plus®, acrescido de 20% de gema de ovo conferiu maior proteção contra o choque pelo frio a 5 °C, quando comparado ao mesmo diluente sem gema (RUSU *et al.*, 2011). Já os meios citrato-gema de ovo e frutose-gema de ovo a 20% não foram tão eficientes, quanto o diluente Beltsville Thawing Solution (MAPEKA *et al.*, 2012; CHUTIA *et al.*, 2014; LALRINTLUANGA *et al.*, 2016).

O diluente alternativo água de coco em pó (ACP-103®), acrescido de 7% de gema de ovo a 10°C, foi mais eficiente em conservar a viabilidade espermática, durante armazenamento por 4 dias (BARROS *et al.*, 2016). Tonioli *et al.* (2016) sugeriram que a concentrações acima de 1% de gema de ovo, quando adicionadas ao diluente alternativo água

de coco em pó (ACP-103®) poderiam conferir ação protetora sobre células espermáticas, sob refrigeração. Nesse contexto, os efeitos da gema de ovo variariam, conforme o diluente utilizado, apresentando sinergismo também em relação ao Beltsville Thawing Solution (BTS), conforme observado por Borstnez *et al.* (2016).

A ação favorável da gema de ovo poderá permitir um maior número de espermatozoides viáveis, após o resfriamento do sêmen suino e, conseqüentemente, melhores resultados de fertilidade com o uso do sêmen assim tratado (APOLINÁRIO, 2001). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi testar a gema de ovo de quatro diferentes linhagens de galinhas, adicionadas ao diluente BTS, no intuito de verificar a sua proteção sobre a célula espermática contra o choque térmico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local do experimento e coleta de sêmen

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia do Sêmen da Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará – UECE, utilizando ejaculados provenientes de quatro reprodutores, com idades entre 12

e 24 meses, sendo dois de raças puras (Landrace e Duroc) e dois híbridos (Dalland), durante 8 semanas (n = 32). Os machos foram submetidos à coleta semanal, através da técnica da mão enluvada, com o ejaculado total coletado em recipiente coberto com gaze, com capacidade para 500 mL e protegido por envoltório térmico (HANCOCK e HOVELL, 1959). A fração gelatinosa, retida pela gaze, foi desprezada. Ejaculados com odor fétido ou urinífico (indicando contaminação) foram descartados. Antes de cada coleta, foi realizada uma higienização externa do prepúcio, seguida de esgotamento prepucial no sentido caudo-cranial por pressão manual.

#### **Manejo nutricional dos reprodutores**

Os reprodutores foram alimentados com ração balanceada e de boa qualidade, com os mesmos níveis proteicos, energéticos e minerais, dentro dos padrões estipulados para a fase de gestação (energia metabolizável de 3.400 kcal/kg e 12,4% de PB), seguindo-se as recomendações de Rostagno *et al.* (2011). O consumo médio diário, por reprodutor, foi de 2,5 kg/dia, dividido em dois arraçoamentos e a água potável foi fornecida *ad libitum*.

#### **Avaliação do ejaculado (sêmen *in natura*)**

Logo após a coleta, o ejaculado foi avaliado quanto à concentração ( $\times 10^6$  spz/mL, em espectrofotômetro), ao volume (mL, em balança digital) e ao total de espermatozoides ( $\times 10^9$  spz). Para o exame do vigor espermático (notas de 0 a 5 - TONIOLLI, 1996) e da motilidade espermática (% de células móveis - MARTIN RILLO, 1996), uma amostra do sêmen (15 $\mu$ L) foi colocada entre lâmina e laminula e levada ao microscópio óptico, em um aumento de 200x, sendo avaliadas em, no mínimo, três campos. Após esta primeira avaliação, foram utilizados para o experimento somente os ejaculados que apresentaram valores  $\geq 80$  % de espermatozoides móveis e  $\geq 3,5$  de vigor espermático.

#### **Temperaturas de conservação e tratamentos experimentais**

A gema de ovo de cada ave foi adicionada ao nível de 2,5% no diluente BTS. Foram utilizadas para o experimento ovos das seguintes linhagens de galinhas: Plymouth Rock Barrada (PRB); Postura Comercial (PC); Gigante Negra do Pescoço Pelado (GnPP) e Hubbard (Hubb), oriundas do setor de Avicultura da Universidade Estadual do Ceará (UECE). As aves eram submetidas ao mesmo manejo e recebiam a mesma ração, à base de milho e farelo de soja, elaborada pela fábrica de ração da UECE,

considerando-se a composição dos alimentos e as recomendações de Rostagno *et al.* (2011). Os ejaculados foram divididos nos seguintes tratamentos: 01. Diluente A (BTS - controle); 02. Diluente B (BTS + PRB); 03. Diluente C (BTS + PC); 04. Diluente D (BTS + GnPP); 05. Diluente E (BTS + Hubb).

Os ejaculados de cada macho foram diluídos a uma concentração de  $35 \times 10^6$  spz/mL, tendo sido separado, de cada um deles, um total de  $8,75 \times 10^9$  spz, repartidos equitativamente entre os dez tratamentos (5 diluentes x 2 temperaturas), obtendo-se assim  $875 \times 10^9$  spz/tratamento, diluídos em um total de 25 mL de solução/tratamento. A diluição de todos os lotes experimentais foi realizada a 35 °C, sendo seguida da distribuição nos tubos de ensaio fechados (5 mL/tubo - 5 tubos/tratamento), onde cada um correspondia a um dia de análise. Em seguida, foram conservados sob refrigeração, em duas diferentes temperaturas: 17 e 4 °C. O dia de coleta foi considerado dia zero (D0), sendo o sêmen conservado até quatro dias após, num total de cinco dias de análises (D0, D1, D2, D3 e D4).

#### **Avaliação do sêmen durante a conservação**

Para cada dia de análise, eram retirados das geladeiras os tubos de

ensaio, referentes a cada ejaculado, em cada tratamento e levados à incubação em banho-maria, a 37 °C, durante 10 minutos (5 diluentes x 2 temperaturas de conservação). Foram avaliadas as características vigor espermático (notas de 0 a 5 - TONIOLLI, 1996) e motilidade espermática (0 a 100% - MARTIN RILLO, 1996), em amostra de sêmen (15µL), colocada entre lâmina e lamínula, levada ao microscópio óptico em um aumento de 200x, perfazendo um total de 10 tubos analisados por macho/dia.

#### **Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o de Blocos ao Acaso, considerando os varrões doadores de sêmen para a formação dos blocos, em um esquema fatorial 5x2, sendo cinco diluentes e duas temperaturas de conservação, com 32 repetições. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (Anova) e analisados, utilizando-se o procedimento PROC GLM do programa estatístico SAS (1998), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância e o teste de dispersão de frequências Qui-quadrado corrigido para os valores expressos em porcentagem.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados deste trabalho demonstraram que a temperatura de 17 °C



(Gráf. 1 e 3), tanto o vigor, quanto a motilidade, apresentaram uma queda brusca dos valores, a partir de D1, com exceção no tratamento controle (diluyente A), no qual o decréscimo foi gradativo, não atingindo valor zero no último dia de conservação. Com o armazenamento a 4 °C (Gráf. 2 e 4), os valores das características analisadas também sofreram um decréscimo brusco em todos os tratamentos, a partir do dia de coleta (D0), atingindo o valor zero em D4, com efeito dos tratamentos ( $p < 0,05$ ). Isso ocorreu devido ao fato de que o abaixamento da temperatura de armazenamento do sêmen de 17 °C para 5 °C induziria ao choque térmico, que se traduz em redução do percentual de células integras e de acrossomas morfológicamente normais; sendo a principal causa da queda da motilidade espermática (KARTZER *et al.*, 2004).

Ao se avaliar os diferentes diluyentes, observou-se valores decrescentes de vigor espermático. Com o passar dos dias de conservação, principalmente a partir de D0, em ambas as temperaturas, sendo a queda mais brusca quando conservados a 4 °C (Gráf. 2), com esta ocorrendo, a partir do dia da coleta. Comparando-se os tratamentos, verificou-se que os diluyentes A e B a 17 °C (Gráf. 1) apresentaram melhores resultados de vigor espermático, quando

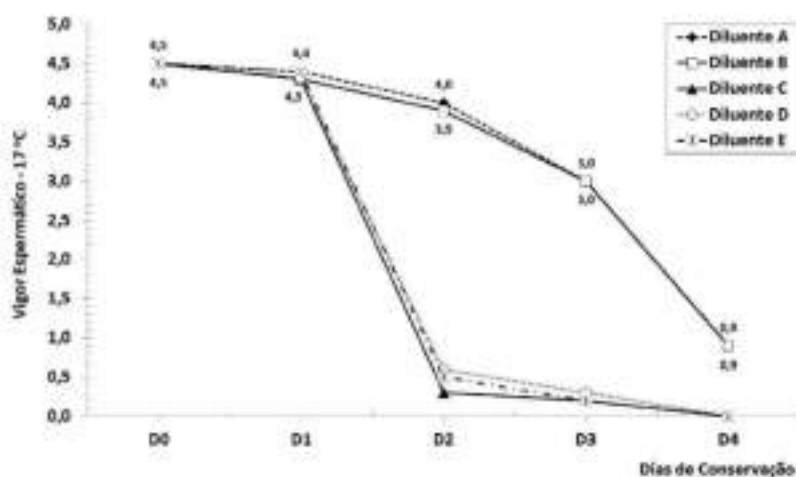
comparados aos demais tratamentos, que não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). Aparentemente, a gema de ovo da linhagem PRB, pode apresentar uma constituição diferente das outras linhagens, o que permitiu uma melhor proteção ao espermatozoide; fato esse que pode explicar a diferença de resultados de vigor espermático a 17 °C entre elas, com resultados melhores no diluyente adicionado da gema de ovo da PRB ( $p < 0,05$ ).

A gema de ovo é bastante utilizada, com o objetivo de proteger a membrana plasmática dos espermatozoides contra o choque térmico. Entretanto, neste estudo, ela não foi eficaz em manter a viabilidade espermática, corroborando em parte com Silva *et al.* (2002), que observaram que a adição de 5% de gema de ovo ao diluyente BTS não impediu a queda nos valores de vigor e motilidade do sêmen, armazenado a 4 °C. Por outro lado, esses mesmos autores observaram que a gema de ovo proporcionou melhores resultados durante os primeiros quatro dias de conservação a 17 °C, quando comparados ao sêmen diluído apenas em BTS, fato este semelhante aos desse estudo, quando utilizada a gema de ovo da linhagem PRB. Entretanto, trabalhos mais recentes apontaram que a gema de ovo, quando adicionada ao diluyente BTS, na concentração de 5 %, contribuiria para a

melhor conservação do sêmen armazenado a 5 e 15 °C, por até 48 e 72 horas, respectivamente, em comparação ao sêmen diluído em BTS (BORSTNEZ *et al.*, 2016). Esta discordância de

resultados pode estar ligada às diferenças na constituição da gema de ovo, de acordo com a linhagem da ave selecionada.

**Gráfico 1:** Valores médios do vigor espermático do sêmen suíno, diluído em BTS, adicionado de gema de ovo de diferentes linhagens de galinhas e conservado a 17 °C, durante cinco dias.



A gema de ovo reduz o estresse osmótico durante o período de conservação, mantendo a viabilidade espermática por um período de tempo maior, à temperatura de 4 °C (CHENG, 1988). Entretanto, neste trabalho, a concentração de 2,5% não foi suficiente para a manutenção da viabilidade espermática (Gráf. 2). O uso de uma maior concentração da gema de ovo (5%), adicionada ao BTS, proporcionou valores maiores de vigor e motilidade, até o quarto dia de conservação a 4 °C (ARAÚJO, 2001; BARBOSA *et al.*, 2007) e a 5 °C (BORSTNEZ *et al.*, 2016). Aparentemente,

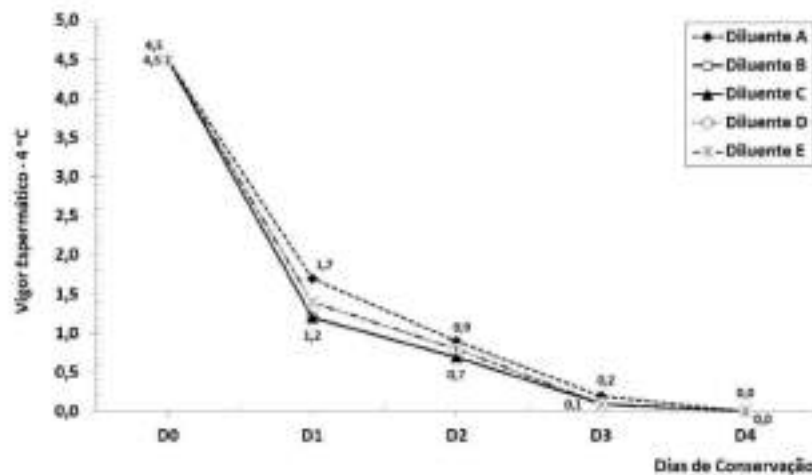
a concentração de 5% de gema de ovo, adicionada ao diluente do sêmen do varrão, parece ser um limite para se conseguir bons resultados de vigor espermático, após a conservação do sêmen em temperaturas mais baixas.

A gema de ovo apresentaria em sua composição colesterol, fosfolípidios e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que seriam moléculas importantes para proteger a membrana espermática contra o choque pelo frio (HU *et al.*, 2010). Nesse sentido, a ação protetora exercida pela gema de ovo sobre as membranas das células espermáticas tem sido atribuída,

principalmente, ao seu conteúdo de LDL (SOUZA *et al.*, 2015; BASHAWAT *et al.*, 2016), apresentando variação desse efeito protetor, dependendo da espécie da ave (AKHTER *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2012). Por outro lado, as lipoproteínas de alta densidade (HDL) têm sido

relacionadas a efeitos negativos sobre a conservação do sêmen e a presença de grânulos (JIANG *et al.*, 2007), que impedem as trocas metabólicas dos espermatozoides, reduzindo a sua motilidade (WALL e FOOTE, 1999);

**Gráfico 2:** Valores médios do vigor espermático do sêmen suino diluído em BTS, adicionado de gema de ovo de diferentes linhagens de galinhas e conservado a 4 °C durante cinco dias.



além dos riscos de contaminação microbiológica, relacionados à adição da gema de ovo ao diluente. Dessa forma, diferenças de efeito protetor de componentes lipídicos da gema, expressas por um melhor resultado de vigor espermático, foram verificadas a favor da linhagem PRB, com o sêmen conservado a 17 °C.

Com relação à característica motilidade espermática, os valores também decresceram com o passar dos dias de

conservação, a queda mais brusca ocorreu a partir do segundo dia (D1) a 17 °C (Gráf. 3) e, já a partir do dia de coleta (D0) a 4 °C (Gráf. 4). Os diluentes A e B apresentaram os melhores resultados, quando comparado aos demais tratamentos. Diferenças significativas foram observadas, ao se comparar os diluentes A e B, em ambas as temperaturas de conservação, com melhores resultados a 17 °C ( $p < 0,05$ ). Estes resultados demonstraram que o diluente BTS não foi capaz de manter a

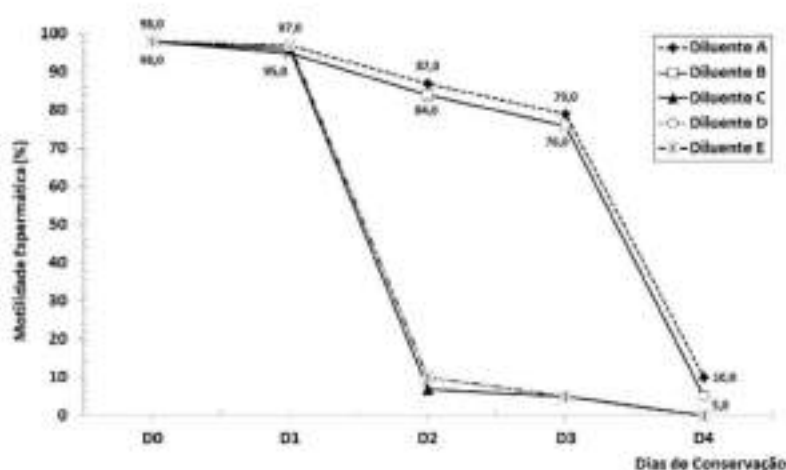


motilidade espermática, quando o sêmen foi conservado em baixa temperatura (4 °C), bem como necessário se faz concentrações da gema de ovo superiores a 2,5%, a fim de impedir a queda acentuada da motilidade a essa mesma temperatura de conservação.

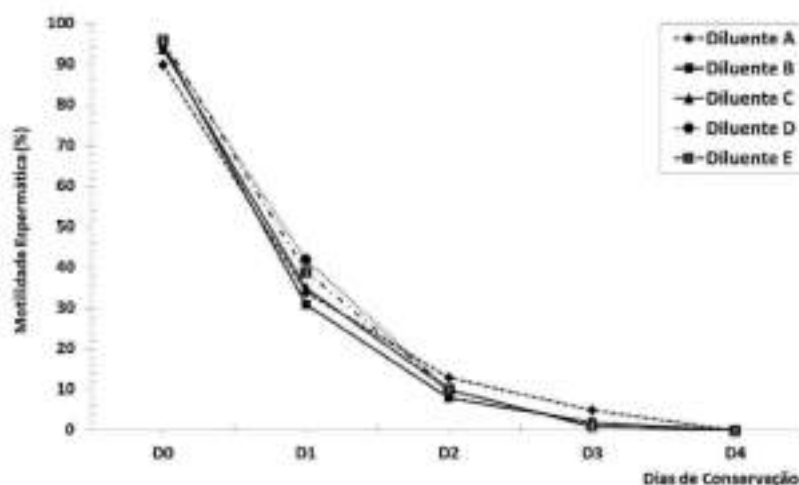
O resultado encontrado na motilidade espermática a 17 °C, com melhores resultados para o diluente A (controle), pode ter sido devido ao fato dessa temperatura não reduzir satisfatoriamente o metabolismo celular, além de não impedir um possível desenvolvimento microbiano com a mesma efetividade que haveria em temperaturas inferiores (SANCHEZ, 2003); sendo essa situação foi agravada,

quando ao meio foi adicionado a gema de ovo. Além disso, alterações de pH e osmolaridade do meio poderiam ocorrer com o tempo, havendo o consumo do substrato energético e a produção de metabólitos, diminuindo a viabilidade espermática (FONTENELE *et al.*, 2002). Entretanto, não foi observada a mesma intensidade de queda nos valores da motilidade, quando adicionado ao BTS a gema de ovo da linhagem PRB. Possivelmente, devido a diferentes níveis de proteção, ligados à linhagem de ave escolhida e à variação do conteúdo de LDL contido na gema do ovo (AKHTER *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2015; BASHAWAT *et al.*, 2016).

**Gráfico 3:** Valores médios da motilidade espermática do sêmen suíno diluído em BTS, adicionado de gema de ovo de diferentes linhagens de galinhas e conservado a 17 °C durante cinco dias.



**Gráfico 4:** Valores médios da motilidade espermática do sêmen suino diluído em BTS, adicionado de gema de ovo de diferentes linhagens de galinhas e conservado a 4 °C, durante cinco dias.



Entretanto, quando utilizada a temperatura de 4 °C, todos os tratamentos apresentaram queda brusca da motilidade, desde o início do período de conservação do sêmen (**Gráf. 4**). Esses resultados demonstraram que o diluente BTS sem adição ou com baixa concentração de gema de ovo na sua constituição, conservando o sêmen a baixas temperaturas, não confere, ao espermatozoide a proteção necessária para que ele mantivesse uma boa motilidade. Outra provável causa da brusca redução dos valores do vigor e da motilidade espermática, poderia ter sido devida a uma contaminação microbiana, provavelmente favorecida pela presença da gema de ovo (TONIOLLI *et al.*, 2010; 2016), que serviu

como substrato para o desenvolvimento bacteriano. Essas contaminações podem afetar a qualidade do sêmen, especialmente aquelas por agentes específicos como o *Staphylococcus sp.* Além disso, a maioria dos microrganismos isolados de ejaculados suínos apresentariam resistência aos principais antibióticos utilizados em diluentes de sêmen (BATISTA, 2011). Esse tipo de problema no sêmen pode levar à contaminação das fêmeas inseminadas (TONIOLLI *et al.*, 2001) e comprometer resultados de fertilidade.

Com base na discussão acima, supõe-se que a divergência dos resultados obtidos neste experimento esteja relacionada aos tipos de gema de ovos

utilizadas, pois não foram observadas diferenças significativas quanto aos resultados. Isto pode ser explicado pelo fato de que todas as aves eram submetidas ao mesmo manejo nutricional, que seria fundamental para o processo de formação do ovo e constituição da gema (BISCARO e CANNIATTI-BRAZACA, 2006; MAYER, 2014). Embora existam diferenças entre o conteúdo de colesterol de diferentes linhagens de galinhas (YANG *et al.*, 2013), a alimentação das aves, além de influenciar a cor, também afetaria de forma significativa os teores de lipídios, de carotenóides totais (BISCARO e CANNIATTI-BRAZACA, 2006) e de vitaminas A e E (MAYER, 2014) nas gemas dos ovos. Esses, além do LDL, são outros componentes responsáveis pelo seu efeito protetor ao espermatozoide. Outro fator que poderia explicar os resultados obtidos seria a idade semelhante das aves, já que o aumento das concentrações de colesterol na gema seria importante na proteção da membrana espermática, característico de aves jovens (YANG *et al.*, 2013; HALL; MCKAY, 1993). Levando-se também em consideração que duas linhagens de aves eram híbridas, o cruzamento seria um fator que também poderia ter influenciado na constituição da gema. Isto porque, nas aves resultantes de heterose a síntese de colesterol destinada à gema de ovo tornaria-se

diminuída (HALL; MCKAY, 1992), daí explicando a menor proteção da membrana espermática às mudanças de temperatura.

## CONCLUSÕES

A melhor conservação das características avaliadas, foi verificada com a adição do diluente BTS ao sêmen, desde que a conservação fosse feita a 17 °C. O uso deste diluente não permite a conservação do sêmen em temperaturas mais baixas. Por outro lado, os resultados obtidos demonstraram que maiores estudos referentes à utilização da gema de ovo ao diluente do sêmen do varrão são necessários, a fim de que sejam obtidos resultados mais conclusivos e uma definição da concentração ideal que permita a manutenção da viabilidade espermática. Temperaturas mais baixas para a conservação do sêmen do varrão, podem ser utilizadas, desde que se determine qual a concentração ideal da gema de ovo no meio diluente. Maiores estudos visando a determinação da composição da gema de ovo de cada linhagem de aves são necessários.

## REFERÊNCIAS

AKHTER, S.; RAKHA, B.A.; ANDRABI, S.M.H.; ANSARI, M.S. Comparison of egg yolks from three avian species in extender for cryopreservation of Sahiwal bull epididymal spermatozoa. *Animal*

- Science Papers and Reports, v.29, n.2, p.131-138, 2010.
- ALKMIN, D.V.; SILVA FILHO, J.M.; PALHARES, M.S. Efeito da porção do ejaculado e do método de resfriamento sobre as características físicas do sêmen suíno. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, p.1287-1294, 2011.
- APOLINÁRIO, T.B.; TONIOLLI, R.; MORAIS, R.M. Adição de Gema de Ovo ao Diluidor de Beltsville na Proteção da Célula Espermática Suína. *Ciência Animal*, v.11, supl.2, p.113-115, 2001.
- ARAÚJO, A.A. Inseminação Artificial Ovina com o Sêmen no Estado Líquido: Influência dos Diluidores, Concentração Espermática e Temperatura de Conservação. *Ciência Animal*, v.11, supl.2, p.37-41, 2001.
- BARBOSA, C.C.; LOPES-NETO, B.E.; MADEIRA, V.L.H.; LIMA, A.H.R.; UCHOA, D.C.; SILVA, L.D.M. Criopreservação de sêmen canino com diluidor à base de água de coco em pó (ACP-106): Efeito da concentração de gema de ovo. In: *Anais... CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL*, 2007, Curitiba, PR, 2007. Belo Horizonte: CBRA, 2007.
- BARROS, T.B.; TONIOLLI, L. DE S.; GUIMARÃES, D.B.; FREITAS, E.N. DE; NUNES, T.G.P.; TONIOLLI, R. Curvas de resfriamento do sêmen do varrão diluído em ACP®103 adicionado de gema de ovo em concentração fixa. *Ciência Animal Brasileira*, v.17, n.4, p.540-549, 2016.
- BASHAWAT, M.; MOUSSA, M.; AL-MERESTANI, M.R.; DESTROMELLE, S.; TAINTURIER, D. The Use of Different Low-Density Lipoproteins Concentrations for Developing a New Extender for Awassi Ram's Semen. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, v.17, n.1, p.21-30, 2016.
- BATISTA, F. Influência da contaminação bacteriana sobre os parâmetros espermáticos de suínos e perfil de resistência dos agentes isolados. 2011. 40p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Santa Catarina, Lages, 2011.
- BISCARO, L.M.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Cor, betacaroteno e colesterol em gema de ovos obtidos de poedeiras que receberam diferentes dietas. *Ciência e Agrotecnologia*, v.30, n.6, p.1130-1134, 2006.
- BORSTNEZ, K.K.; TAMANINI, M.; ALVES, B.R.; PERDONCINI, R.L.C.; DUARTE, J.; TWARDOWSKI, C.; OLIVEIRA JUNIOR, J.; SCHWEGLER, E.; MOREIRA, F.; BIANCHI, I. Efeitos de diluentes no sêmen suíno armazenado em diferentes temperaturas. In: *Anais... SEMANA DE ENSINO PESQUISA E EXTENSÃO*, 1. IFC: Araquari, 2016.
- BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; DALLORA, D. Situação atual da inseminação artificial em suínos. *Acta Scientifica Veterinária*, v.33, p.17-32, 2005.
- CHENG, W.T.K. Preservation of Boar Semen at 15 °C. *Journal of Chinese Society of Veterinary Science*, v.14, p.339-350, 1988.
- CHUTIA, T.; BISWAS, R.K.; TAMULL, M.K.; SINHA, S.; GOSWAMI, J.; DEKA, B.C.; BANIK, S.; KAYASTHA, R.B. Efficacy of different extenders in preservation of liquid hampshire boar semen at 15 °C. *Indian Journal of Animal Research*, v.48, n.5, p.496-500, 2014.
- CORRÊA, M.N.; MEINCKE, W.; LUCIA Jr., J.L. Inseminação artificial em suínos. Copyright. Pelotas, Brasil, 2001. 91p.
- CRABO, B.G. Preservation of boar semen: a worldwide perspective. *Reproduction in Domestic Animals*, v.1, p.3-9, 1990.
- FONTENELE, O.S.; CARDOSO, J.F.S.; CARDOSO, R.C.S.; SILVA, A.R.; UCHOA, D.C.; SILVA, L.D.M. Conservação a 5 °C do sêmen canino diluído em água de coco. In: *Anais...*

- Simpósio Cearense de Ciência Animal, 4; Simpósio Nordestino de Buiatria, 2. Fortaleza, Ceará, n.1, 2002.
- HALL, L.M.; MCKAY, J.C. The relationship between yolk cholesterol and total lipid concentration throughout the first year of egg production in the domestic fowl. *British Poultry Science*, v.34, p.487-495, 1993.
- HALL, L.M.; MCKAY, J.C. Variation in egg yolk cholesterol concentration between and within breeds of the domestic fowl. *British Poultry Science*, v.33, p.941-946, 1992.
- HANCOCK, J.L.; HOWELL, G.J.R. The collection of boar semen. *The Veterinary Record*, v.71, p.664-665, 1959.
- HU, J.H.; LI, Q.W.; ZAN, L.S.; JIANG, Z.L.; AN, J.H.; WANG, L.Q.; JIA, Y.H. The cryoprotective effect of lowdensity lipoproteins in extenders on bull spermatozoa following freezing-thawing. *Animal Reproduction Science*, v.117, n.1-2; p.11-17, 2010.
- JIANG, Z.L.; LI, Q.W.; LI, W.Y.; HU, J.H.; ZHAO, H.W.; ZHANG, S.S. Effect of low density lipoprotein on DNA integrity of freezing-thawing boar sperm by neutral comet assay. *Animal Reproduction Science*, v.99, p.401-407, 2007.
- KATZER, L.H.; BERNARDI, M.L.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Qualidade de sêmen suíno resfriado sob a influência de diluentes, da temperatura de armazenamento e da incubação prévia. *Ars veterinaria*, v.20, n.2, p.233-241, 2004.
- LALRINTLUANGA K.; DEKA B. C.; NATH K. C.; HMAR L.; BHUYAN D.; BISWAS R. K. Effect of Different Extenders on The Quality of Boar Semen During Preservation At 18 °C. *International Journal of Multidisciplinary Approach & Studies*, v.3, n.1, p.224-232, 2016.
- LINDE-FOERSBERG, C.D.M.V. Achieving canine pregnancy by using frozen or chilled extended semen. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, v.21, n.3, p.467-485, 1991.
- MAPEKA, M.H.; LEHLOENYA, K.C.; NEDAMBALE, T.L. Comparison of different extenders and storage temperature on the sperm motility characteristics of Kolbroek pig sêmen. *South African Journal of Animal Science*, v.42, n. 5, Suppl.1, p.530-534, 2012.
- MARTIN-RILLO, S.; MARTINEZ, E.; GARCIA ARTIGA, C. DE-ALBA, C. Boar semen evaluation in practice. *Reproduction Domestic Animal*, v.31, n.4, p.519-526, 1996
- MAYER, J.K. Comparação do perfil de carotenoides, vitaminas A e E da gema de ovos comercializados como orgânicos, caipiras e convencionais na grande Florianópolis. 2014. 46f. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.
- PORK WORLD. Disponível em: <http://porkworld.com.br/index.php?documento=893>, 2009. Acessado em 23 de julho de 2009.
- ROSTAGNO, H.S. ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, L.S.T. Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3ª ed., Viçosa: UFV/DZO, 2011. 252p.
- RUSU, A.V.; MICLEA, V.; ZAHAN, M. Egg Yolk Protective Effect in Boar Spermatozoa Cooled at 5°C. *Animal Science and Biotechnologies*, v.44, n.1, p.447-452, 2011.
- SÁNCHEZ, R.S. Conceito e fundamentos utilizados na inseminação artificial de suínos. *Suínos & Cia*, Ano I, n.2, p.18-22, 2003.
- SILVA, M.C.; MORAIS, R.M.; TONIOLLI, R. Efeito protetor da gema de



- ovo sobre o espermatozoide suino em diferentes temperaturas de conservação. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC, 56, Goiânia-GO, 2968-E.4.5j, v.01, p.86, 2002.
- SOUZA, A.L.P.; LIMA, G.L.; PEIXOTO, G.C.X.; CASTELO, T.S.; OLIVEIRA, M.G.C.; PAULA, V.V.; SILVA, A.R. Sperm characteristics following freezing in extenders supplemented with whole egg yolk and different concentrations of low-density lipoproteins in the collared peccary (*Pecari tajacu*). *Reproductive Biology*, v.15, n.4; p.223-228, 2015.
- TONIOLLI, R. Pouvoir fecondant des spermatozoïdes de verrat: amélioration des conditions de conservation. 1996. 91f. These. (Doctorat) - Université François Rabelais de Tours, Tours, 1996. Resumo disponível em: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=182303> Acesso em: 05 mai. 2017.
- TONIOLLI, R.; BARROS, T.B.; TONIOLLI, L.S.; GUIMARÃES, D.B.; FREITAS, E.N. de; NUNES, T.G.P. Diferentes concentrações de gema de ovo em pó adicionada ao diluente acp-103® na conservação do sêmen suino. *Ciência Animal Brasileira*, v.17, n.2, p.243-251, 2016.
- TONIOLLI, R.; FIÚZA, R.F.; JATAHY, P.C.; BARROS, Q.D.; SANTOS, B.S. Efeito do uso de diferentes antibióticos no controle bacteriano do ejaculado do varrão. *Ciência Animal*, v.11, p.33-38, 2001.
- TONIOLLI, R.; TONIOLLO, G.H.; FRANCESCHINI, P.H.; MORATO, F.M.A.C. Uso do diluente água de coco em pó (ACP-103®) na conservação prolongada do sêmen do varrão: avaliação *in vitro* e *in vivo*. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.5, p.1072-1079, 2010.
- WALL, R.J.; FOOTE, R.H. Fertility of bull semen frozen and store in clarified egg yolk-Tris-glycerol extender. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.817-821, 1999.
- WANG, P.; WANG, Y.-F.; WANG, C.W.; BU, S.H.; HU, J.H.; LI, Q.W.; PANG, W.J.; YANG, G.S. Effects of low-density lipoproteins extracted from different avian yolks on boar spermatozoa quality following freezing-thawing. *Zygote*, v.22, p.175-181, 2012.
- YANG, P.K.; TIAN, Y.D.; SUN, G.R.; JIANG, R.R.; HAN, R.L.; KANG, X.T. Deposition rule of yolk cholesterol in two different breeds of laying hens. *Genetics and Molecular Research*, v.12, n.4, p.5786-5792, 2013.