

ADIÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO AO DILUENTE BTS NA CONSERVAÇÃO DO SÊMEN DO VARRÃO: AVALIAÇÃO *IN VIVO*

(Addition of phytic acid to BTS extender in the conservation of boar semen: in vivo evaluation)

Aline Viana DIAS*; Daianny Barboza GUIMARÃES; Ludymila Furtado CANTANHÊDE; Tatyane Bandeira BARROS; Lina Raquel Santos ARAÚJO; Ricardo TONIOLLI

¹Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia de Sêmen (LRSTS) da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (FAVET/UECE). Av. Dr. Silas Munguba, 1700. Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60.740-000. *E-mail: alinedias.vet@hotmail.com

RESUMO

A manutenção do sêmen suíno sob condições de refrigeração tem se destacado como uma técnica eficiente para a difusão do material genético, através dos programas de inseminação artificial. Neste sentido, a adição de várias substâncias, como antioxidantes, ao diluente vem sendo adotada na conservação do sêmen de diversas espécies domésticas. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar a ação do ácido fítico adicionado ao diluente do sêmen conservado sob refrigeração, através da avaliação dos resultados de fertilidade de fêmeas suínas inseminadas. Foram utilizados quatro reprodutores (Agroceres) e setenta fêmeas para formação de lotes no decorrer de sete semanas. Os lotes de inseminação foram formados com o sêmen diluído em BTS (35 fêmeas) e BTS adicionado de ácido fítico na concentração de 525 μ M/100mL (35 fêmeas). Na avaliação dos resultados, considerou-se os seguintes aspectos: 1) taxa de fertilidade; 2) taxa de parição; 3) número total de leitões/parto; 4) número de leitões nascidos vivos/parto. Observou-se que as taxas de fertilidade e parição, assim como a prolificidade das porcas inseminadas com BTS e BTS adicionado de ácido fítico não diferiram estatisticamente ($p>0,05$). A adição do ácido fítico ao diluente BTS não influenciou os resultados reprodutivos das fêmeas suínas. Dessa forma, estudos futuros devem ser realizados a fim de avaliar a eficácia de diferentes concentrações do ácido fítico sobre a fertilidade e prolificidade de fêmeas suínas.

Palavras-chave: Ejaculado, sêmen suíno, ácido fítico, BTS, taxa de parição.

ABSTRACT

The maintenance of boar semen under refrigerated conditions has been highlighted as an effective technique for the diffusion of genetic material through artificial insemination programs. In this sense, the addition of several substances, such as antioxidants, to the diluente has been used in the conservation semen from various domestic species. Thus, this study aimed to investigate the action of phytic acid added to the semen extender, conserved under refrigeration by evaluating the fertility results obtained from inseminated swine females. Four boars (Agroceres), which were used for artificial insemination as semen donors, and seventy females were used to compose the lots during the seven weeks of the experiment. The insemination lots were formed with the semen diluted in BTS (35 females) and BTS added with phytic acid at 525 μ M/100mL (35 females). For results evaluation, the following aspects were considered: 1) fertility rate; 2) farrowing rate; 3) total number of piglets/delivery; 4) number of live birth piglets/delivery. It was observed that the fertility and farrowing rates, as well as the prolificacy of sows inseminated with BTS and BTS added with phytic acid did not differ statistically ($p>0.05$). The addition of phytic acid to the BTS diluent did not influence the reproductive results of swine. Therefore, further studies must be performed to evaluate the efficacy of different phytic acid concentrations on the fertility and prolificacy of sows.

Keywords: Ejaculated, swine semen, phytic acid, BTS, farrowing rate.

INTRODUÇÃO

A produção nacional de carne suína, em 2016 cresceu 2,47% em relação a 2015, passando de 3,64 milhões para 3,73 milhões de toneladas, sendo o Brasil o quarto maior

Recebido: jun./2021.

Publicado: jun./2022.

produtor e o quarto maior exportador de carne suína do mundo (ABPA, 2017). Com isso, a suinocultura brasileira cresce em qualidade e volume de produção utilizando-se de novas tecnologias.

Na tentativa de reduzir os custos envolvidos na cadeia produtiva, bem como de aumentar o padrão genético e a qualidade do produto final, foi introduzida na suinocultura a prática da inseminação artificial (IA). No Brasil, a IA, em escala comercial, foi introduzida somente a partir de 1975, principalmente na região sul do país, devido a uma forte concentração de criadores com alto nível de tecnificação e com taxas elevadas de produtividade (SCHEID, 1992).

A manutenção do sêmen suíno sob condições de refrigeração tem se mostrado uma técnica eficiente para a difusão do material genético, através dos programas de inseminação artificial. Quando o sêmen é adequadamente processado, é possível a obtenção de altos resultados de fertilidade e de prolificidade, com resultados, no mínimo, semelhantes aos obtidos com o uso da monta natural (BORTOLOZZO *et al.*, 2005).

Numerosos trabalhos têm sido efetuados com a finalidade de desenvolver um diluente para o sêmen de diferentes machos domésticos (PINART *et al.*, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2016). O uso de várias substâncias adicionadas ao diluente, tais como diferentes antioxidantes (JEONG *et al.*, 2009; JOFRÉ *et al.*, 2019), crioprotetores e aminoácidos (FAGUNDES *et al.*, 2010; SANGEETA *et al.*, 2015), vem sendo feito na conservação do sêmen de diversas espécies animais.

A célula espermática possui grande sensibilidade às espécies reativas ao oxigênio, podendo este fato ser explicado por duas razões: primeiro pela quantidade de ácidos graxos poli-insaturados presentes em sua membrana plasmática; e segundo pelas baixas concentrações de enzimas antioxidantes em seu reduzido citoplasma (AITKEN e FISHEL, 1994). Justifica-se, assim, a utilização dos antioxidantes adicionados aos diluentes de sêmen, na tentativa de minimizar os efeitos deletérios sobre os espermatozoides (JOFRÉ *et al.*, 2019).

O ácido fítico, presente em grandes concentrações no farelo de gérmen de milho desengordurado, é visto como um potente antioxidante natural, devido a sua capacidade de sequestrar radicais livres (AHN *et al.*, 2004) e de quelação de metais (FIGUEIRAS *et al.*, 2009; KUMAR *et al.*, 2010), permanecendo ativo tanto em meio sólido quanto em solução (QUIRRENBACH *et al.*, 2009). Além disso, já foi evidenciado seu efeito protetor contra genotoxicidade e distúrbios bioquímicos induzidos em ratos (FARGHALY *et al.*, 2010) e sobre a manutenção da motilidade e integridade da membrana de espermatozoides suínos *in vitro* (DIAS *et al.*, 2019).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação do ácido fítico adicionado ao diluente do sêmen, conservado sob refrigeração, através da avaliação dos resultados de fertilidade de fêmeas suínas inseminadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Reprodutores e coleta de sêmen

Foi utilizado o sêmen de quatro reprodutores (Agroceres), individualmente, para a inseminação artificial. Os animais se encontravam em coleta regular de sêmen e apresentavam

Recebido: jun./2021.

Publicado: jun./2022.

boa saúde. Os machos eram alimentados com ração balanceada de boa qualidade, com os níveis proteicos, energéticos e minerais dentro dos padrões estipulados para reprodutores em sistema de trabalho (3.150 Kcal/Kg de energia metabolizável e 14% de PB; 2,5Kg/dia de ração/dia divididos em dois arraçoamentos) e possuíam água à vontade. A coleta foi realizada pela técnica da mão enluvada em recipiente coberto por filtro e protegido por copo térmico. Foi aproveitado o ejaculado total após a separação da parte gelatinosa. As coletas dos ejaculados dos reprodutores utilizados e as inseminações artificiais foram realizadas na Granja Suinícola Regina, no município de Maranguape/CE.

A qualidade do ejaculado de cada reprodutor, em cada coleta, foi avaliada pelas seguintes características: concentração ($\times 10^6$ spz/mL), volume (mL), total de espermatozoides ($\times 10^9$ spz), vigor espermático (0 a 5) e total de células móveis (% - motilidade). Só foram aproveitados, para a produção das doses inseminantes, os ejaculados que apresentavam valores de $\geq 3,0$ para o vigor espermático e $\geq 80\%$ para motilidade espermática (porcentagem de espermatozoides móveis).

Inseminação Artificial

Neste trabalho, foi utilizado um total de 72 fêmeas adultas (entre a segunda e a nona parição), igualmente distribuídas na formação dos lotes de inseminação. As fêmeas foram inseminadas no decorrer de quatro semanas, sendo nove fêmeas/semana/tratamento (total = 18 fêmeas/semana). Os lotes de inseminação artificial foram formados da seguinte maneira: Tratamento 01: com o sêmen diluído no Beltsville Thwaing Solution (BTS) (T1: controle, n=36); e Tratamento 02: BTS acrescido de ácido fítico (T2 = 525 μ M/100mL, n=36). Cada fêmea recebeu três inseminações por cio, com um total de $3,5 \times 10^9$ spz/IA.

Cada reprodutor teve seu sêmen coletado quatro vezes, sendo as coletas feitas uma vez por semana, durante quatro semanas. Semanalmente, o sêmen de cada reprodutor era utilizado para preparar doses de $3,5 \times 10^9$ spz, e servir de quatro a cinco fêmeas, com três inseminações/cio em dois diferentes tratamentos. Foi preparado um total de 216 doses de sêmen, divididas de forma equilibrada entre os quatro reprodutores e os dois tratamentos (108 doses/tratamento, T1 e T2), sendo inseminadas um total de 36 fêmeas/tratamento, com três inseminações/cio/fêmea. As três doses de sêmen, utilizadas por fêmea/IA, eram provenientes de um mesmo reprodutor. Os intervalos entre IA foram de 12 horas, com os seguintes tempos contados após a fêmea apresentar reação positiva ao reprodutor e tratador: primeira IA = 24 horas; segunda IA = 36 horas; e terceira IA = 48 horas.

Todas as fêmeas receberam 2,0kg/dia de ração (gestação) até 85 dias de cobertas, após isso, até 114 dias de gestação, receberam 3,0kg/dia de ração (gestação), em seguida a ração gestação foi substituída pela ração de lactação.

Avaliação da taxa de fertilidade, parição e prolificidade

As seguintes variáveis foram analisadas: 1) Taxa de fertilidade; 2) Taxa de parição; 3) Número total de leitões nascidos; e 4) Número de leitões nascidos vivos. Para o cálculo da taxa de fertilidade, dividiu-se a quantidade de fêmeas consideradas gestantes pelo total de fêmeas inseminadas. Foram consideradas gestantes as porcas que não retornaram ao cio até o 28º dia após a cobertura, adotando margem de sete dias posteriores ao período de ciclo regular da fêmea

Recebido: jun./2021.

Publicado: jun./2022.

suína (21 dias). As verificações de retorno de cio foram realizadas diariamente com o auxílio de um rufião. Já a taxa de parição foi obtida pela relação entre fêmeas que pariram e o total de fêmeas inseminadas.

Análise Estatística

O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, as médias foram submetidas à análise de variância, aplicando-se o teste de Tukey; já para a análise de frequência (taxa de fertilidade e parição) se utilizou o teste do qui-quadrado. Foi utilizado, também, o programa Stat View (versão 5.0.1; SAS Institute Inc. 1992-1998), com intervalo de confiança de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de fertilidade, parição e prolificidade não apresentaram diferenças significativas entre os grupos formados pelos diferentes diluentes utilizados ($p > 0,05$), embora a taxa de fertilidade com BTS e BTS acrescido de ácido fítico (AF) tenha diferido em 5,1 pontos percentuais.

Estudos demonstraram que a atividade antioxidante total do plasma seminal mantém relação com a fertilidade, sendo maior em machos férteis. Além disso, já é comprovado que a terapia com antioxidantes pode melhorar a taxa de fertilidade de subférteis (SUBRAMANIAN *et al.*, 2018). Nesse sentido, esperava-se que o sêmen diluído e conservado em BTS acrescido de ácido fítico, como antioxidante, trouxesse melhores resultados nas taxas de fertilidade, parição e prolificidade, no entanto, isso não foi observado neste estudo. Os resultados de fertilidade podem ser vistos na Tab. 01.

Tabela 01: Taxa de fertilidade de fêmeas suínas inseminadas com sêmen diluído em BTS e BTS acrescido de ácido fítico (AF, 525 μ M/100mL).

Tratamentos	Taxa de fertilidade (%)	
	(+)	(-)
BTS	93,3	6,7
BTS + AF	100,0	0,0
Média	96,7	0,3

Em um estudo *in vitro*, o ácido fítico, à concentração de 525 μ M/100mL de BTS, foi eficiente na manutenção da motilidade e da integridade de membrana espermática (DIAS *et al.*, 2019), assim, esperava-se, neste estudo, alguma vantagem ao se avaliar parâmetros em teste *in vivo*. Da mesma forma, Arando *et al.* (2020), embora tenham observado pequeno impacto da adição de antioxidantes ao diluente de sêmen sobre a motilidade espermática *in vitro*, relataram que isto não se traduziu em uma melhoria da taxa de fertilidade das fêmeas ovinas inseminadas.

Hicks *et al.* (2018) e Spinaci *et al.* (2018) observaram que antioxidantes de origem vegetal podem interferir na produção de embriões suínos *in vitro*, deste modonesse sentido, antioxidantes adicionados ao diluente podem contribuir para a manutenção de um ambiente

favorável a uma produção de embriões *in vivo*. Sendo assim, a adição do ácido fítico ao diluente BTS, poderia proporcionar um ambiente favorável à conservação das células espermáticas e de seu potencial fecundante, entretanto, isto não foi observado na prática.

Sabe-se que a taxa de parição, em uma granja comercial, deve alcançar valores iguais ou superiores a 90% (SILVEIRA, 2007), de forma a obter resultados economicamente viáveis. Por outro lado, a taxa de parição pode ser influenciada por fatores específicos causadores de diferentes falhas reprodutivas (não relacionadas ao sêmen), além de outras variáveis externas (SOMMERFELT e REMPEL, 2015). Dessa forma, com as fêmeas sob mesmo manejo e condições ambientais, a taxa de parição se manteve semelhante entre os grupos avaliados (Tab. 02).

Tabela 02: Taxa de parição de fêmeas suínas inseminadas com sêmen diluído em BTS e BTS acrescido de ácido fítico (AF, 525µM/100mL).

Tratamentos	Taxa de parição (%)	
	(+)	(-)
BTS	90,0	10,0
BTS + AF	90,0	10,0
Média	90,0	10,0

Os resultados de prolificidade podem ser vistos na Tab. 03. Em relação ao número total de leitões nascidos vivos, observou-se 1,8 leitões a mais no lote de porcas inseminadas com BTS em relação ao lote com BTS+AF, embora não tenham diferido estatisticamente ($p>0,05$). Os resultados de prolificidade deste estudo são inferiores aos recomendados para uma suinocultura tecnificada, que seria de 14,1 a 14,3 leitões nascidos no total e de 12,4 a 12,5 leitões nascidos vivos por parto, com o uso de fêmeas hiperprolíficas (ANRAIN *et al.*, 2015), fato que pode estar relacionado ao material genético utilizado na granja e à ordem de parição das fêmeas, que variaram de dois a nove partos. Em suínos, sabe-se que a eficiência reprodutiva aumenta ao longo da idade e posteriormente declina, a partir da sexta ou sétima ordem de parição (MELLAGI *et al.*, 2013).

Tabela 03: Prolificidade de fêmeas suínas inseminadas com sêmen diluído em BTS e BTS acrescido de ácido fítico (AF, 525µM/100mL).

Tratamentos	Número de leitões	
	Nascidos totais	Nascidos vivos
BTS	11,7±1,5	11,1±1,7
BTS + AF	10,9±2,3	10,0±2,7
Média	11,3±1,9	10,5±2,2

Recai sobre a prolificidade fatores ligados à genética dos animais, tanto em relação aos nascidos totais quanto aos nascidos vivos (ANRAIN *et al.*, 2015). Estudos da estimativa de

parâmetros genéticos vinculados à característica leitões nascidos vivos, durante o período de seis parições consecutivas de porcas, observaram uma tendência de aumento da leitegada até a quarta parição, declinando estes valores na sequência de gestações (RIBEIRO *et al.*, 2008; RAZMAITE *et al.*, 2012). Desse modo, a prolificidade é influenciada tanto por fatores maternos e, fatores ambientais, como pela qualidade da dose inseminante e capacidade de fertilização dos espermatozoides. Neste estudo, tentou-se melhorar a qualidade da dose inseminante com a adição de ácido fítico para o teste *in vivo*, entretanto, isso não resultou em melhoras das taxas reprodutivas e, conseqüentemente, não influenciou o tamanho da leitegada.

CONCLUSÕES

O ácido fítico adicionado ao diluente BTS não influenciou os resultados reprodutivos de fêmeas suínas. Dessa forma, trabalhos adicionais devem ser realizados a fim de se verificar a eficácia de diferentes concentrações do ácido fítico, que possam influenciar os resultados de fertilidade e prolificidade de fêmeas suínas inseminadas.

REFERÊNCIAS

- AHN, H.; KIM, J.; JO, C.; KIM, M.; BYUN, M. Comparison of irradiated phytic aid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chemistry*, v.88, n.2, p.173-178, 2004.
- AITKEN, R.J.; FISHEL, H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioassays*, v.16, p.259-267, 1994.
- ANRAIN, M.; BERGMANN, J.A.G.; IRGANG, R.; VALENTE, B.D. Parâmetros genéticos para características de prolificidade nas raças Landrace e Large White. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.67, n.3, p.846-854, 2015.
- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. 2017. Relatório Anual, 2017. 133p. Disponível em: <http://abpar.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2018.
- ARANDO, A.; DELGADO, J.V.; BERMÚDEZ-ORIA, A.; LEÓN, J.M.; FERNÁNDEZ-PRIOR, A.; NOGALES, S.; PÉREZ-MARÍN, C.C. Effect of olive-derived antioxidants (3,4-dihydroxyphenylethanol and 3,4 dihydroxyphenylglycol) on sperm motility and fertility in liquid ram sperm stored at 15 °C or 5 °C. *Reproduction in Domestic Animals*, v.55, n.3, p.325-332, 2020.
- ARAÚJO, L.R.S.; BARROS, T.B.; GUIMARÃES, D.B.; CANTANHÊDE, L.F.; DIAS, A.A.; TONIOLLI, R. Uso de diluentes e temperaturas alternativas na conservação prolongada do sêmen do varrão. *Ciência Animal Brasileira*, v.17, n.1, p.26-35, 2016.
- BORTOLOZZO, F.P.; UEMOTO, D.A.; BENNEMANN, P.E.; POZZOBON, M.C.; CASTAGNA, C.D.; PEIXOTO, C.H.; BARIONI, JR, W.; WENTZ, I. Influence of time of insemination relative to ovulation and frequency of insemination on gilt fertility. *Theriogenology*, v.64, n.9, p.1956-1662, 2005.

Recebido: jun./2021.

Publicado: jun./2022.

DIAS, A.V.; GUIMARÃES, D.B.; ARAÚJO, L.R.S.; CANTANHÊDE, L.F.; BARROS, T.B.; TONIOLLI, R. Uso de diluentes alternativos e do ácido fítico adicionado ao sêmen suíno conservado. *Ciência Animal*, v.29, n.3, p.22-37, 2019.

FAGUNDES, B.; SILVA, J.F.S.; SHIMOYA, A.; CUNHA, I.C.N.; SOUZA, G.V.; TILBURG, M.F. VAN. Adição de alanina, glicina e glutamina ao meio crioprotetor seminal de garanhões Mangalarga Marchador. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.2, p.279-284, 2010.

FARGHALY, A.A.; ABO-ZEID, M.A.; SALMAN, A.S.; MOHAMED, N.E. Phytic Acid Ameliorates Acrylamide-Induced Genotoxicity and Biochemical Disturbance in Mice. *Nature and Science*, v.8, n.9, p.168-177, 2010.

FIGUEIRAS, C.T.; SOARES, A.L.; SHIMOKOMAKI, M.; IDA, E.I.; CASAGRANDE, R. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de milho. *Química Nova*, v.32, n.7, p.1787-1791, 2009.

HICKS E.; WINN E.; WHITAKER B. 146 Quercetin supplementation during boar semen thawing and incubation improves the *in vitro* production of pig embryos. *Reproduction, Fertility and Development*, v.31, p.198-198, 2018.

JEONG, Y.J.; KIM, M.K.; SONG, H.J.; KANG, E.J.; OCK, S.A.; KUMAR, B.M.; BALASUBRAMANIAN, S.; RHO, G.J. Effect of α -tocopherol supplementation during boar semen cryopreservation on sperm characteristics and expression of apoptosis related genes. *Cryobiology*, v.58, n.2, p.181–189, 2009

JOFRÉ, I.; CUEVAS, M.; CASTRO, L.S.; LOSANO, J.D.A.; TORRES, M.A.; ALVEAR, M.; SCHEUERMANN, E.; ANDRADE, A.F.C.; NICHI, M.; ASSUMPCÃO, M.E.O.; ROMERO, F. Antioxidant effect of a polyphenol-rich Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.) extract and its effect on the regulation of metabolism in refrigerated boar sperm. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v.01, p.1-15, 2019.

KUMAR, V.; SINHA, A.K.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: a review. *Food Chemistry*, v.120, n.4, p.945-959, 2010.

MELLAGI, A.P.G.; PANZARDI, A.; BIERHALS, T.; GHELLER, N.B.; BERNARDI, M.L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P. Efeito da ordem de parto e da perda de peso durante a lactação no desempenho reprodutivo subsequente de matrizes suínas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65, n.3, p.819-825, 2013.

PINART, E.; YESTE, M.; PRIETO-MARTÍNEZ, N.; REIXACH, J.; BONET, S. Sperm quality and fertility of boar seminal doses after 2 days of storage: Does the type of extender really matter? *Theriogenology*, v.83, p.1428–1437, 2015.

QUIRRENBACH, H.R.; KANUMFRE, F.; ROSSO, N.D.; CARVALHO FILHO, M.A. Comportamento do ácido fítico na presença de Fe (II) e Fe (III). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.29, n.1, p.24-32, 2009.

RAZMAITE, V.; JATKAUSKIENE, V.; JUOZAITIENE, V. Prolificacy of old genotype lithuanian white sows in small closed population. *Acta Veterinaria*, v.62, n.3, p.355-363, 2012.

Recebido: jun./2021.

Publicado: jun./2022.

RIBEIRO, J.C.; CARVALHO, L.E.; SOUSA, K.C.; NEPOMUCENO, R.C. PROLIFICIDADE de fêmeas suínas na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. *Archivos de Zootecnia*, v.57, n.220, p.537-40, 2008.

SANGEETA, S.; ARANGASAMY, A.; KULKARNI, S.; SELVARAJU, S. Role of amino acids as additives on sperm motility, plasma membrane integrity and lipid peroxidation levels at pre-freeze and post-thawed ram semen. *Animal Reproduction Science*, v.161, p.82-88, 2015.

SCHEID, I.R. Commercial swine artificial insemination in Brazil: Development and current use. *Reproduction in Domestic Animals*, v.27, n.5, p.299-301, 1992.

SILVEIRA, P.R.S. Fatores que interferem na taxa de parição em rebanhos suínos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1, p.32-37, 2007.

SOMMERFELT, I.M.; REMPEL, C. Efeito da temperatura do ambiente sobre a gestação de fêmeas suínas e impactos econômicos relacionados. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v.9, n.3, p.450-464, 2015.

SPINACI, M.; MUCCILLI, V.; BUCCI, D.; CARDULLO, N.; GADANI, B.; TRINGALI, C.; TAMANINI, C.; GALEATI, G. Biological effects of polyphenol-rich extract and fractions from an oenological oak-derived tannin on in vitro swine sperm capacitation and fertilizing ability. *Theriogenology*, v.108, p.284-290, 2018.

SUBRAMANIAN, V.; RAVICHANDRAN, A.; THIAGARAJAN, N.; GOVINDARAJAN, M.; DHANDAYUTHAPANI, S.; SURESH, S. Seminal reactive oxygen species and total antioxidant capacity: Correlations with sperm parameters and impact on male infertility. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, v.45, n.2, p.88-93, 2018.