

INFLUÊNCIA DA GENÉTICA E DOS MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO SOBRE A QUALIDADE DO SÊMEN SUÍNO

(Influence of genetics and conservation methods on the quality of swine semen)

Nayra de Paula Montijo de Oliveira BARBOSA; Letícia Ferrari CROCOMO*

Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG),
Av. Universitária, 1.000. Bairro Universitário, Montes Claros/MG. CEP: 39.404-547.

*E-mail: leticia.crocomo@gmail.com

RESUMO

A demanda do mercado impulsionou o melhoramento genético na suinocultura caracterizado pelo cruzamento entre linhagens e raças distintas a fim de possibilitar o aproveitamento da heterose. Esse melhoramento acelerado ocorreu em decorrência da inseminação artificial e manipulação do sêmen, associado ao emprego de diluentes e técnicas de refrigeração. Sendo assim, esta revisão tem como objetivo compilar o conhecimento acerca da influência genética e dos métodos de conservação sobre a qualidade do sêmen suíno, além de discutir a composição e eficiência dos principais diluentes e crioprotetores destinados à conservação espermática nesta espécie. Inicialmente, os animais eram selecionados baseados em características produtivas como habilidade materna, qualidade de carcaça e desempenho. Contudo, a fertilidade do reprodutor, caracterizada pela qualidade espermática e libido, é extremamente importante para indústria suinícola uma vez que determina o potencial produtivo do plantel indiretamente. Evidências demonstram que os parâmetros espermáticos sofrem influência da genética, sendo que cada raça se destaca numa determinada característica seminal. Além disso, o manejo, idade, alimentação, sazonalidade, as características intrínsecas do espermatozoide e os métodos de conservação do ejaculado também determinam sua viabilidade. Apesar de preconizado devido à fácil execução e ótimos resultados, o sêmen refrigerado tem como limitador a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio. Da mesma forma, o congelamento do ejaculado promove alterações espermáticas em virtude do choque térmico. Sendo assim, o emprego de diluentes e crioprotetores propícios que possibilitem a manutenção a longo prazo da viabilidade espermática é imprescindível para ambos os processos.

Palavras-chaves: Diluentes, inseminação artificial, melhoramento genético, suinocultura.

ABSTRACT

The market demand promoted the genetic improvement in swine farming characterized by the crossing between different strains and breeds to make possible the use of heterosis. This accelerated improvement occurred due to artificial insemination and semen manipulation, associated with the use of extenders and refrigeration techniques. Therefore, this review aims to compile knowledge about the genetic influence and conservation methods on the quality of swine semen, besides discussing the composition and efficiency of the main extenders and cryoprotectants intended for sperm conservation in this species. Initially, animals were selected based on productive traits such as maternal ability, carcass quality, and performance. However, male fertility, characterized by sperm quality and libido, is extremely important for the swine industry as it determines the productive potential of the herd indirectly. Evidences demonstrates that sperm parameters are influenced by genetics, with each race standing out in certain seminal trait. In addition, the management, age, feeding, seasonality, the intrinsic characteristics of the sperm cell, and the methods of ejaculate conservation also determine its viability. Despite being recommended due to its easy execution and excellent results, refrigerated semen has the excessive production of reactive oxygen species as a limiter. Likewise, the ejaculate freezing promotes sperm changes due to heat shock. Therefore the use of suitable extenders and cryoprotectants that allow the long-term maintenance of sperm viability is essential for both processes.

Keywords: *Extenders, artificial insemination, genetic improvement, swine farming.*

INTRODUÇÃO

A conservação e distribuição da genética líquida representa um desafio na suinocultura, sendo o resfriamento o principal método comercial preconizado para conservação espermática. Para a realização desse método, o sêmen deve ser diluído em solução apropriada capaz de preservar a viabilidade, em temperaturas entre 15 e 18 °C, por até, no máximo, cinco dias (JOHNSON *et al.*, 2000). Outra maneira de conservar o sêmen suíno é por meio do

congelamento, porém, devido às suas características físico-químicas, como distribuição assimétrica de colesterol ao longo da membrana plasmática e maior quantidade de ácidos graxos insaturados, o espermatozoide suíno não é tolerante à criopreservação (DE LEEUW *et al.*, 1990).

A qualidade do ejaculado é um fator de suma importância para o processo de resfriamento ou congelamento, visto que irá determinar a sobrevivência dos espermatozoides. Desse modo, quanto maior a qualidade do ejaculado, maior a chance de viabilidade espermática aceitável após o descongelamento. Segundo Flowers (2008) e Smital (2009), a qualidade do ejaculado está diretamente relacionada à genética animal, visto que existem variações espermáticas significativas entre raças e linhagens de suínos reprodutores, e que nenhuma raça suína consegue ser superior em todos os parâmetros espermáticos. Além disso, fatores como manejo, idade, alimentação, sazonalidade e, até mesmo, a manipulação do sêmen podem comprometer a viabilidade espermática (HUANG *et al.*, 2010).

Além desses fatores, os métodos de conservação do sêmen refrigerado e congelado também determinam a qualidade e, conseqüentemente, o potencial fecundante das doses inseminantes (GADEA, 2003). Embora o resfriamento do sêmen promova redução do metabolismo dos espermatozoides, estes ainda necessitam de nutrientes e continuam a gerar metabólitos, que se acumulam no meio intra e extracelular, causando danos irreversíveis às células espermáticas e limitando o tempo de armazenamento (KNOX, 2015). Já no que diz respeito ao congelamento, devido às particularidades estruturais, o espermatozoide suíno é muito suscetível ao choque térmico causado por baixas temperaturas, havendo necessidade do uso de crioprotetores para manutenção da integridade da membrana plasmática e, conseqüentemente, da homeostase celular (YESTE, 2016).

Dessa forma, dada a relevância do tema e a escassez de informações, esta revisão tem como objetivo compilar e explicar aspectos relacionados à influência da genética e dos métodos de conservação sobre a qualidade do sêmen suíno, assim como apresentar e discutir a composição e eficiência dos principais diluentes e crioprotetores destinados à conservação espermática nessa espécie.

DESENVOLVIMENTO

Influência da genética no potencial reprodutivo do macho

O melhoramento genético em suínos começou no Brasil, em 1958, com a criação da Associação Brasileira de Criadores de Suínos (ABCS), que promoveu a implantação do controle genealógico e a importação de novas raças. Entretanto, somente na década de 70, ocorreu o desenvolvimento de novas técnicas de melhoramento genético, como o Teste de Progênie, além da melhor interação produtor-indústria, que ajudou na disseminação das genéticas; da substituição das fêmeas de raça pura por fêmeas híbridas (F1); e da implantação da primeira Central de Inseminação Artificial, que possibilitou maior difusão de material geneticamente superior (FÁVERO e FIGUEIREDO, 2009).

O Teste de Performance em Estações Centrais, estabelecido em 1976, foi instituído com o intuito de testar e comparar diferentes reprodutores quanto à qualidade do material genético, de modo que aqueles com material genético superior eram destinados à reposição dos plantéis. Nos machos reprodutores, esse teste é realizado a partir da progênie oriunda de, pelo

menos, três leitegadas diferentes. Para isso, são abatidos três filhotes inteiros, na faixa dos 90Kg, e a carcaça é avaliada quanto à conversão alimentar, ganho de peso, tamanho de pernil e área do olho de lombo. Dessa forma, filhotes com qualidade superior, constituem um indicativo de que o seu progenitor possui boa genética (PORTER, 1993; FÁVERO, 2000).

Já se reconhece que grande parte das características reprodutivas dos suínos são herdadas da fêmea, como tamanho de leitegada, número de leitões nascidos e o peso dos leitões ao nascer, enquanto as características de crescimento são derivadas dos machos e influenciam na qualidade da carne e no teor de gordura da carcaça, sendo essas as principais exigências do mercado para a espécie suína (BORTOLOZZO *et al.*, 2005; TORRES FILHO *et al.*, 2005). Com isso, os cruzamentos foram introduzidos com o objetivo principal de aproveitar a heterose, ou seja, filhotes oriundos de raças diferentes com desempenho melhor que o de seus genitores (BALAGUER, 2014; OKORO e MBAJIORGU, 2017).

Geralmente, durante a seleção de animais para o cruzamento, o foco maior está voltado para as qualidades maternas e qualidades de crescimento e de carcaça. Entretanto, uma característica muito importante para a indústria suinícola, que consiste na fertilidade do macho, é ignorada no sistema de cruzamentos (GONZÁLEZ-PENÁ *et al.*, 2015). Robinson e Buhr (2005), questionaram se esse foco no melhoramento da carcaça de suínos poderia afetar a fertilidade do macho, uma vez que, em outras espécies, existe correlação entre maior ganho de peso e infertilidade do macho. Os mesmos autores apresentaram um estudo realizado por Barbato *et al.* (1998), com galos entre 14 e 42 dias de idade, no qual foi constatado que os animais com rápido ganho de peso tiveram baixa fertilidade, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, além de menor quantidade de espermatozoides por ejaculado.

Segundo Smital *et al.* (2004), a qualidade do sêmen difere entre raças suínas, e uma melhor qualidade espermática pode ser obtida por meio da heterose. Da mesma forma, Kawęka *et al.* (2008) constataram que animais híbridos, de cruzamento entre Duroc e Pietran, apresentam melhor qualidade seminal quando comparados a outros animais híbridos e a animais Duroc e Pietran de raça pura. Evidências indicam, ainda, que animais híbridos apresentam melhor libido, puberdade precoce e maior tamanho de testículos quando comparados a animais de raça pura (KAMANOVÁ *et al.*, 2016).

Uma das maneiras de avaliar a fertilidade do macho suíno é pelo monitoramento da qualidade do sêmen. O sêmen pode variar quanto à qualidade devido a fatores como manejo, idade, alimentação, genética e sazonalidade (HUANG *et al.*, 2010). As características mais importantes, no que diz respeito à qualidade do ejaculado, são: volume, motilidade dos espermatozoides, concentração e morfologia espermática (GONZÁLEZ-PENÁ *et al.*, 2015); sendo que um ejaculado de boa qualidade deve possuir motilidade >70% e anormalidade espermática <30% (RUIZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2006). Segundo Grandijot *et al.* (1997) e Wolf (2009, 2010), os valores da herdabilidade para essas características são, respectivamente: 0,15 a 0,25; 0,13 a 0,26; 0,05 a 0,18; e 0,4 a 0,12. Essa baixa herdabilidade deve-se ao fato dessas características serem suscetíveis à variação individual e ao efeito de fatores extrínsecos.

Nesse contexto, a aferição do perímetro ou volume testicular consiste numa alternativa para seleção de reprodutores para melhoramento genético, visto que, além de apresentar maior magnitude de herdabilidade, está diretamente relacionada à produção de células de Sertoli e, conseqüentemente, à espermatogênese, garantindo obtenção de maior quantidade de doses inseminantes e de fêmeas inseminadas com um único ejaculado (ALTHOUSE, 2014;

GONZÁLEZ-PENÃ *et al.*, 2015). A consistência testicular também deve ser verificada, visto que, apesar do grande volume testicular, este pode apresentar degeneração ou fibrose, o que pode alterar a espermatogênese e prejudicar a qualidade espermática, culminando em um possível descarte do macho (WEITZE, 2010; PERKINS *et al.*, 2017).

Ainda, no que diz respeito à qualidade do sêmen, nenhuma raça consegue ser superior em todos os parâmetros espermáticos. Cada raça possui uma característica seminal superior em relação às demais. Segundo Smital (2009), animais das raças Pietran, Czech Meat Pig e Czech Large White possuem número total de espermatozoides maior quando comparados aos de outras raças. Animais da raça Duroc possuem menor volume de ejaculado, porém, alta concentração espermática, principalmente, quando comparados a animais da raça Yorkshire, que apresentam maior volume de ejaculado e baixa concentração espermática (KENNEDY e WILKINS, 1984; KONDRACKI, 2003; LI *et al.*, 2019). As raças Large White e Landrace apresentam o maior volume de ejaculado e maior número total de espermatozoides por ejaculado dentre todas as raças suínas (SMITAL *et al.*, 2004; PINART e PUIGMULÉ, 2013).

Estima-se que o coeficiente de variação para volume seminal entre as raças de suínos seja de 6 a 8% (WOLF, 2009). Na Tab. 01, pode-se observar as médias, encontradas na literatura, do volume espermático de algumas raças suínas.

Tabela 01: Média do volume do ejaculado nas diferentes raças de reprodutores suínos.

Raças	Volume (mL)
Czech Landrace	267±96,60 (Wolf, 2009); 333,03±146,58 (Kamanová <i>et al.</i> , 2016)
Czech Large White	267,34±0,93 (Smital, 2009); 274±97,0 (Wolf, 2009); 257±108,20 (Kamanová <i>et al.</i> , 2016)
Duroc	185,11±7,46 (Smital, 2009); 198±71,50 (Wolf, 2009); 162,75±50,52 (Banaszewska e Kondracki, 2012); 145,87±44,78 (Wysokinska e Kondracki, 2013); 220,91±88,89 (Kamanová <i>et al.</i> , 2016)
Hampshire	272,16±6,76 (Smital, 2009); 268,79±88,06 (Banaszewska e Kondracki, 2012); 229,24±80,80 (Wysokinska e Kondracki, 2013)
Pietrain	260,34±8,86 (Smital, 2009); 264±92,40 (Wolf, 2009); 257,97±109,58 (Banaszewska e Kondracki, 2012); 191,67±57,10 (Wysokinska e Kondracki, 2013)
Yorkshire	213,11±77,74 (Li <i>et al.</i> , 2019)

Além da questão racial, outros fatores que podem afetar o volume espermático são: temperatura e idade do macho. Animais em clima tropical alcançam a maturidade sexual com idade entre 30 e 36 meses e possuem menor volume de ejaculado quando comparados com animais criados em clima temperado, que demoram mais para alcançar a maturidade sexual, em torno de 38 a 46 meses, e possuem maior volume de ejaculado (HUANG *et al.*, 2010).

Em relação à produção total de espermatozoides por ejaculado, as raças, podem ser classificadas da maior para a menor da seguinte forma: Pietrain (115×10^9), Czech Large White (110×10^9), Czech Landrace (109×10^9), Duroc (104×10^9) e Hampshire (102×10^9) (SMITAL, 2009; WOLF, 2009; KAMANOVÁ *et al.*, 2016). Segundo Smital *et al.* (2004), a porcentagem média de espermatozoides inviáveis para inseminação artificial observada no ejaculado suíno é

de 26%. Quando se trata de concentração espermática (número de espermatozoides/mL) a raça Duroc é a que apresenta os maiores valores, apesar do baixo volume de ejaculado e do baixo número de espermatozoides totais, sendo estas as principais características da raça (SMITAL, 2009; KONDRACKI *et al.*, 2012). Segundo Wolf (2009), o coeficiente de variação para concentração espermática e número total de espermatozoides entre as raças de suínos é de 17%. As médias de concentração espermática, para algumas raças suínas, podem ser observadas na Tab. 02, segundo informações obtidas na literatura.

Tabela 02: Média da concentração espermática nas diferentes raças de reprodutores suínos.

Raças	Concentração ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
Czech Landrace	417 \pm 168,0 (Wolf, 2009); 330,27 \pm 146,52 (Kamanová <i>et al.</i> , 2016)
Czech Large White	426,93 \pm 4,99 (Smital, 2009); 424 \pm 161,90 (Wolf, 2009); 355,29 \pm 157,82 (Kamanová <i>et al.</i> , 2016)
Duroc	502,56 \pm 13,04 (Smital, 2009); 490 \pm 175,20 (Wolf, 2009); 754,15 \pm 186,87 (Wysokinska e Kondracki, 2013); 471,74 \pm 187,01 (Kamanová <i>et al.</i> , 2016)
Hampshire	394,29 \pm 11,82 (Smital, 2009); 492,24 \pm 136,72 (Wysokinska e Kondracki, 2013)
Pietrain	454,31 \pm 15,49 (Smital, 2009); 443 \pm 155,80 (Wolf, 2009); 600,13 \pm 178,43 (Wysokinska e Kondracki, 2013)

É difícil estimar a porcentagem média de espermatozoides anormais no ejaculado para as diferentes raças suínas, devido à escassez de informação na literatura (PINART e PUIGMULÉ, 2013). Sabe-se apenas que o coeficiente de variação é o maior dentre as características seminais, em torno de 24% (WOLF, 2009). Segundo Kondracki *et al.* (2012), a raça Duroc apresenta maiores alterações morfológicas nos espermatozoides quando comparada raça Pietrain. Entretanto, Kawęcka *et al.* (2008) constataram maior quantidade de espermatozoides com defeito de gota proximal para a raça Pietrain em comparação aos animais Duroc. Vale ressaltar, contudo, que essa anomalia espermática é transitória e está associada à maturação incompleta do espermatozoide, causada por estresse ou coletas seminais sucessivas (FLOWERS, 2004; KNOX, 2003).

Quanto à motilidade, existe pouca diferença entre raças, de modo que corresponde à característica seminal com um dos menores coeficientes de variação, em torno de 9% (SMITAL, 2009). O ranking das raças, da maior para a menor motilidade, é: Yorkshire (77,36%), Pietrain (75,64%), Hampshire (75,60%), Czech Large White (75,14%), Czech Landrace (74,81%) e Duroc (73,60%) (SMITAL, 2009; WOLF, 2009; BANASZEWSKA e KONDRACKI, 2012; WYSOKINSKA e KONDRACKI, 2013; KAMANOVÁ *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2019). Segundo Flowers (2020), a motilidade corresponde à característica espermática mais suscetível ao estresse, de modo que situações de estresse severo podem comprometer os espermatozoides armazenados no epidídimo e, conseqüentemente, a produção espermática e do animal por algumas semanas.

Métodos de conservação do sêmen suíno e efeitos sobre sua viabilidade

Desenvolvida na década de 30, a inseminação artificial (IA) possibilitou o crescimento do setor suinícola de forma extraordinária, em virtude da otimização do macho reprodutor e, conseqüentemente, do maior número de matrizes fecundadas por lote, da redução da transmissão de enfermidades pelo contato e da criação de novas linhagens suínas (LEVIS, 2000; KNOX, 2016). Isso só foi possível, contudo, em decorrência do desenvolvimento de diluentes seminais que possibilitaram a conservação e manutenção da viabilidade do ejaculado por mais tempo (GADEA, 2003). Na suinocultura, o sêmen pode ser utilizado a fresco, refrigerado ou congelado, a depender do método empregado para inseminação, que pode ser intracervical ou intrauterina (pós-cervical ou profunda) (KNOX, 2016).

No que diz respeito ao tipo de sêmen, atualmente, na indústria suinícola, o sêmen refrigerado é mais utilizado devido ao maior tempo de conservação, comparado ao sêmen fresco, e à melhor qualidade espermática, comparado ao congelado (MOREIRA *et al.*, 2013; KNOX, 2016). Já com relação ao método de IA, a intracervical (IAIC) ou tradicional é a mais difundida em virtude da facilidade de execução e alta eficiência, com taxa de prenhez acima de 90%, seja com sêmen fresco ou refrigerado, na concentração usual de 3 bilhões de espermatozoides diluídos em 80 a 100mL por dose inseminante (BORTOLOZZO *et al.*, 2015; KNOX, 2016). Em comparação, a IA pós-cervical (IAPC) e intrauterina profunda (IAIUP), embora possibilitem a otimização do ejaculado, com doses inseminantes de sêmen refrigerado em torno de 1,0 a 1,5 bilhões e 150 milhões de espermatozoides, respectivamente, requerem treinamento para execução da técnica e apresentam restrição para o uso em primíparas e nulíparas. A IAIUP é indicada quando se deseja trabalhar com sêmen congelado ou sexado, uma vez que a IAPC com sêmen refrigerado possibilita taxa de prenhez similar à IAIC quando bem executada (ROCA *et al.*, 2003; BORTOLOZZO *et al.*, 2015; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019).

O sêmen fresco para inseminação artificial é utilizado, em especial, por pequenos produtores, por não requerer tecnificação, sendo necessária apenas a coleta do sêmen seguida pela divisão do ejaculado em doses inseminantes, de acordo com a quantidade de fêmeas a serem inseminadas. Dependendo da raça utilizada, pode-se obter de seis a oito doses inseminantes (80 a 100mL) com o sêmen fresco (SELK, 2007). Após a obtenção das doses, estas devem ser utilizadas imediatamente ou em até três horas, no máximo (GORDON, 1999). Além do curto tempo de conservação, a utilização do sêmen fresco apresenta como empecilho a necessidade de várias matrizes em estro no momento da coleta do ejaculado. Além disso, na ausência de microscópio, é realizada apenas a avaliação visual macroscópica do sêmen, o que não possibilita distinguir se este realmente está apto para fecundação (SELK, 2007).

O sêmen refrigerado tornou-se mais comum na indústria suinícola, pois possibilita a inseminação de várias fêmeas ao mesmo tempo, de modo que um macho pode produzir, em média, de 20 a 24 doses inseminantes com 3×10^9 de espermatozoides cada, considerando a inseminação artificial tradicional (intracervical) (DALLANORA, 2014). Isso porque na preparação do sêmen refrigerado são utilizados diluentes com a função de aumentar o volume do ejaculado, nutrir e conservar os espermatozoides, além de regular o pH e a osmolaridade do ambiente durante determinado período de tempo, de acordo com o diluente utilizado (JOHNSON *et al.*, 2000; GADEA, 2003).

As doses inseminantes, no caso do sêmen refrigerado, devem ser mantidas em temperaturas mais baixas, entre 15 e 18 °C, a fim de reduzir o metabolismo dos espermatozoides e a consequente produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênios (EROS), que interferem, de modo irreversível, na integridade da membrana e do DNA dos espermatozoides, reduzindo sua viabilidade (JOHNSON *et al.*, 2000; MAES *et al.*, 2011; DE AMBROGI *et al.*, 2006).

Em relação ao sêmen congelado, este não é utilizado com muita frequência devido à baixa viabilidade espermática, após o descongelamento, e às baixas taxas de fecundação (KNOX, 2015). Essa redução da viabilidade deve-se à intolerância do espermatozoide suíno às temperaturas abaixo de 15 °C, devido à menor proporção e distribuição assimétrica do colesterol na membrana plasmática, além da grande quantidade de ácidos graxos insaturados nos fosfolipídios da membrana (DE LEEUW *et al.*, 1990; JONHSON *et al.*, 2000). Isso favorece o aumento da permeabilidade da membrana plasmática, em decorrência do choque térmico, possibilitando a perda de cátions (Ca⁺) e enzimas, e afetando a osmolaridade da célula (YESTE *et al.*, 2017). Devido a isso, quando se trata do sêmen congelado, são acrescentados crioprotetores aos diluentes, para evitar o choque térmico e reduzir os danos, por congelamento, aos espermatozoides (GADEA, 2003).

Histórico e composição dos diluentes para sêmen suíno

Quando se trata do sêmen refrigerado, a diluição do ejaculado corresponde à etapa mais importante, pois interfere na preservação e viabilidade dos espermatozoides, o que irá refletir diretamente nos resultados da inseminação artificial (REIS, 1997). Segundo Knox (2011), para reprodutores saudáveis, que não são coletados excessivamente, a produção média mínima aceitável, dependendo da genética, varia entre 30 e 60 bilhões de espermatozoides por ejaculado, o que possibilita taxas de diluição entre 1:4 e 1:10. Nesse contexto, no que diz respeito aos diluentes para sêmen suíno, hoje existem no mercado diluentes de curta duração (um a três dias) e de longa duração (quatro a sete dias) (DALLANORA, 2014).

Os diluentes de curta duração são os mais usados rotineiramente para a reprodução, enquanto os de longa duração são utilizados para transporte a longas distâncias (GADEA, 2003). Na Tab. 03 é possível observar a relação dos diluentes mais utilizados comercialmente, de acordo com o tempo de conservação.

Tabela 03: Classificação dos diluentes de acordo com o tempo de conservação.

Curta Duração (1-3 dias)	Longa duração (4-7 dias)
Illinois Variable Temperature (IVT)	Androhep [®]
Beltsville Thawing Solution (BTS)	Modena
Beltsville Liquid (BL-1)	MR-A [®]
Kiev	Reading
---	Zorlesco
---	ZORPVA

Fonte: Adaptado de Gadea (2003).

De acordo com Foote (2002), os primeiros diluentes foram criados na Rússia e eram feitos à base de glucose, soluções contendo potássio, tartarato de sódio ou sulfato de sódio e peptonas, além de baixos níveis de eletrólitos. A partir de 1950, começaram a ser desenvolvidos diluentes à base de gema de ovo, fosfato ou citrato, e leite. Essas alterações ajudaram na constituição de um diluente específico para suínos.

O primeiro diluente de curta duração para suínos foi o Illinois Variable Temperature (IVT), cuja função era a conservação do sêmen em temperatura ambiente. Foi desenvolvido a partir de modificações realizadas no IVT para bovinos, sendo constituído por gema de ovo, soluções de glucose, citrato e bicarbonato, entretanto, necessitava receber quantidades de CO₂ para reduzir o metabolismo dos espermatozoides (DU MESNIL DU BUISSON e DAUZIER, 1959). Em 1960, ocorreu uma grande inovação na criação dos diluentes: a adição de agentes quelantes (EDTA), cuja função era o bloqueio do cálcio como mediador na capacitação espermática e nas reações acrossomais. Isso levou à criação do diluente Kiev, sendo este o principal responsável pela expansão da inseminação artificial em suínos (PLISKO, 1965).

Treze anos depois, Pursel *et al.* (1973) desenvolveram o precursor dos diluentes para a conservação do sêmen em ambiente refrigerado (BL-1), e dois anos depois, para a congelamento (BF-5) (PURSEL e JOHNSON, 1975). Além disso, foram os criadores do diluente mais utilizado no mercado atualmente, o Beltsville Thawing Solution (BTS), cujo propósito original era servir como solução para o descongelamento do sêmen, sendo depois adaptado para a conservação do sêmen em ambientes refrigerados (JOHNSON *et al.*, 2000). A principal característica desse diluente é a presença de potássio em pequenas quantidades, evitando, assim, a perda de potássio intracelular do espermatozoide e reduzindo a perda da motilidade espermática (ALVAREZ e STOREY, 1982).

O motivo que fez com que o BTS se tornasse muito utilizado no mercado foi o baixo custo de produção e os ótimos resultados relacionados à motilidade espermática durante o armazenamento (WOELDERS, 1992). Na Tab. 04, é possível observar a composição dos diluentes de curta duração, de acordo com as informações disponíveis na literatura

Tabela 04: Composição dos diluentes de curta duração para sêmen suíno.

Composição (g L ⁻¹)	IVT	Kiev	BTS
Glucose	3	60	37
Citrato de Sódio	24,3	3,7	6,0
EDTA	-	3,7	1,25
Bicarbonato de sódio	2,4	1,2	1,25
Cloreto de Potássio	0,4	-	0,75
Acetilcisteína	0,05	-	-
mOsm	290	380	330
pH	-	7,2	7,2

Fontes: Adaptado de Du Mesnil du Buisson e Dautzier (1959), Plisko (1965) e Pursel e Johnson (1975).

Dos diluentes de longa duração, o Zorlesco foi o primeiro a ser criado, possuindo na sua composição: tris(hidroximetil) aminometano (Tris), albumina de soro bovino (BSA), cisteína e compostos do grupo das sulfridilas (GOTTARDI *et al.*, 1980). De acordo com

Jonhson *et al.* (2000), a adição de sulfridilas auxilia na estabilização da membrana plasmática e inibição da capacitação espermática. Entretanto, esse diluente não se mostrou muito eficaz devido à baixa osmolaridade (240mOsm). Moretti (1981), tentou contornar o problema da pressão osmótica do Zorlesco, o que acarretou na criação do diluente Modena, com acréscimo de mais glucose e remoção do BSA da composição. Entretanto, este ainda apresentou resultados insatisfatórios. Ao mesmo tempo, ocorreu a criação do diluente MR-A[®], na Espanha, por Martín Rillo (1984), mas não se conhece ao certo sua composição devido ao sigilo comercial.

Alguns anos depois, ocorreu a criação de outros dois diluentes de longa duração: ZORPA (CHENG, 1985) e Reading (REVELL e GOSSOP, 1989). Os dois foram criados com base no Modena, porém, tiveram a adição de álcool polivinílico (PVA), de modo a reduzir danos ao acrossomo durante o resfriamento e conservação. Porém, por possuírem preço de fabricação elevado comparado aos outros diluentes de curta duração, e resultados próximos a estes, o uso destes diluentes não se tornou comum (REED e CURNOCK, 1990). O diluente Androhep[®], criado por Weitze (1990), é um dos poucos diluentes de longa duração que apresentou ótimo desempenho, devido à presença do BSA para compensar o efeito da diluição do plasma seminal, e à sua natureza levemente hipertônica (309 mOsm), além da presença de agentes tamponantes do grupo ácido sulfônico zwitteriônico (Hepes).

Sabe-se que, ao longo dos anos, foram criados novos diluentes de curta e de longa duração que apresentaram bons resultados, entretanto, por motivos de sigilo comercial, os componentes e as quantidades utilizadas na preparação não foram revelados (GADEA, 2003). Na Tab. 05, é possível constatar a composição de alguns diluentes de longa duração, com base nas informações disponíveis na literatura.

Tabela 05: Composição dos diluentes de longa duração para sêmen suíno.

Componentes (g L ⁻¹)	Zorlesco	Modena	ZORVPA	Reading	Androhep [®]
Glucose	11,5	25*	11,5	11,5	26
Citrato de Sódio	11,7	6,90	11,65	11,65	8,0
EDTA	2,3	2,25	2,35	2,35	2,4
Bicarbonato de sódio	1,25	1,00	1,75	1,75	1,2
Cloreto de Potássio	-	-	-	0,75	-
Hepes	-	-	-	-	9,0
BSA	5,0	3,00	-	-	2,5
Tris	6,5	5,65	5,5	5,5	-
Citrato	4,1	2,00	4,1	4,1	-
Cisteína	0,1	0,05	0,7	0,7	-
Trealose	-	-	-	1	-
PVA	-	-	1	1	-
mOsm	240	282	275	300	309
pH	-	6,9	-	-	6,8

*Obs.: Glucose monohidratada. Fonte: Adaptado de Gottardi *et al.*, (1980), Moretti (1981), Cheng (1985), Revell e Gossop (1989), e Weitze (1990).

No sêmen suíno refrigerado, o uso de antibióticos é de suma importância, uma vez que, devido à presença de glucose e à temperatura na qual é armazenado, pode ocorrer crescimento de bactérias Gram-negativas (Gram⁻) e Gram-positivas (Gram⁺), principalmente as

bactérias *Escherichia coli*, *Straphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. (ALTHOUSE e LU, 2005). Essa contaminação pode ocorrer durante a coleta e processamento do sêmen efetuados sem o devido cuidado e higienização (COLLARES *et al.*, 2017). A contaminação bacteriana do sêmen causa perda de motilidade, maiores taxas de aglutinação, acidificação do meio e aumento da proporção de acrossomos anormais (GADEA, 2003; TONIOLLI *et al.*, 2006).

Quando se trata de sêmen congelado, a adição de crioprotetores aos diluentes é obrigatória, a fim de reduzir os prejuízos causados pelo choque térmico, no âmbito celular, aos espermatozoides suínos (YESTE, 2015). Nesse contexto, Pursel e Jonhson (1975) criaram o diluente BF-5 para auxiliar no congelamento do sêmen, o qual contém gema de ovo, glucose e Tris. Segundo Knox (2015), o uso de substâncias como antioxidantes, hormônios, açúcares, proteínas e alguns lipídeos, como crioprotetores, ajudam na conservação da integridade da membrana plasmática do espermatozoide.

Existem dois tipos de crioprotetores: permeáveis ou penetrantes e impermeáveis ou não penetrantes. Os permeáveis promovem alteração no meio intracelular, de forma a reduzir o efeito da osmolaridade e a concentração de eletrólitos, dificultando a formação de cristais de gelo intracelular (WATSON, 1995). O glicerol, é o crioprotetor penetrante mais utilizado em baixas concentrações, entre 2 e 3%, devido ao estresse osmótico que promove e ao seu grau de toxicidade, que pode reduzir o potencial fecundante do espermatozoide (MAZUR, 1984; PURDY, 2006). Outro crioprotetor penetrante bastante utilizado, em especial, em outras espécies, é a dimetilacetamida, que além de apresentar menor peso molecular e viscosidade que o glicerol, estabelece coligação mais fácil e eficaz com as moléculas de água devido à presença do grupamento amina (BALL e VO, 2001).

Já os crioprotetores impermeáveis ou não penetrantes, estes agem no meio extracelular, otimizando o funcionamento dos crioprotetores intracelulares (BENSON *et al.*, 2012). Deste modo, promovem aumento da osmolaridade do meio extracelular, estimulando a saída de água intracelular para o meio externo, reduzindo, assim, a formação de cristais de gelo no interior dos espermatozoides (AMANN e PICKETT, 1987). Os crioprotetores não penetrantes mais comuns são: leite em pó desnatado, gema de ovo e açúcares (YESTE, 2016).

As proteínas presentes no leite, como as lectinas e lipoproteínas, promovem proteção da célula espermática contra o choque térmico, além dessas, uma outra proteína, a caseína, ajuda a conservar os lipídeos da membrana durante o congelamento (MEMON e OTT, 1981; BERGERON *et al.*, 2007). As proteínas presentes na gema do ovo protegem o espermatozoide contra o choque térmico, em decorrência da presença de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que se aderem à membrana plasmática durante a congelação (MOUSSA *et al.*, 2002). Os açúcares são importantes na criopreservação, pois, além de promoverem maior pressão osmótica no meio extracelular, ajudando na desidratação da célula, atuam, também, como substrato energético (FULLER, 2004; MALO *et al.*, 2010). Os açúcares simples, como frutose e glicose, e os açúcares não penetrantes, como lactose, rafinose e trealose, são os mais utilizados no processo de criopreservação seminal (SQUERES *et al.*, 2004).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da comprovação da influência da genética na qualidade do sêmen em reprodutores suínos, nenhuma raça ou linhagem consegue ser superior em todos os parâmetros

espermáticos. Ademais, independente da questão racial, os métodos de conservação, por resfriamento ou congelamento, também afetam a viabilidade espermática, seja pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio ou pelo choque térmico, havendo necessidade do uso de diluentes com composição apropriada para os diferentes tempos de conservação, no caso do sêmen refrigerado, e da associação de crioprotetores permeáveis e impermeáveis, no caso do sêmen congelado.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ J.G.; STOREY, B.T. Spontaneous lipid peroxidation in rabbit epididymal spermatozoa: its effect on sperm motility. *Biology of Reproduction*, v.27, n.5, p.1102-1108, 1982.

ALTHOUSE, G.C.; LU, K.G. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology*, v.63, n.2, p.573–584, 2005.

ALTHOUSE, G.C. Applied andrology in swine. In: CHENOWETH, P.J; LORTON, S.P. *Animal Andrology: Theories and Applications*. 1ª ed., CAB International. London, p.404-417, 2014.

AMANN, R.P.; PICKETT, B.W. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *Equine Veterinary Science*, v.7, n.3, p.145-173, 1987.

BALAGUER, C.M. Genetic analyses of growth, carcass and meat quality traits in maternal lines of rabbits and their diallel cross/análisis genético de caracteres de crecimiento. 2014. 260p. (Tese de Doutorado). Universitat Politècnica de València, 2014.

BALL, B.A.; VO, A. Osmotic tolerance of equine spermatozoa and the effects of soluble cryoprotectants on equine sperm motility, viability and mitochondrial membrane potential. *Journal of Andrology*, v.22, n.6, p.1061-1069, 2001.

BANASZEWSKA, D.; KONDRACKI, S. An assessment of breeding maturity of insemination boars based on ejaculate quality changes. *Folia Biologica (Kraków)*, v.60, n.3/4, p.151-162, 2012.

BARBATO, G.F.; CRAMER, P.G.; HAMMERSTEDT, R.H. A practical in vitro sperm binding assay that detects subfertile males. *Biology of Reproduction* v.58, n.3, p.686–99, 1998.

BENSON, J.D.; WOODS, E.J.; WALTERS, E.M.; CRITSER, J.K. The cryobiology of spermatozoa. *Theriogenology*, v.78, n.8, p.1682–1699, 2012.

BERGERON, A.; BRINDLE, Y.; BLODIN, P.; MANJUNATH, P. Milk caseins decrease the binding of the major bovine seminal plasma proteins to sperm and prevent lipid loss from the sperm membrane during sperm storage. *Biology of Reproduction*, v.77, n.1, p.120-126, 2007.

BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; FERREIRA, F.M.; BENNEMAMM, P.E.; BERNARDI, M.L. Exame do ejaculado. In: BORTOLOZZO, F.P; WENTZ, I.; BENNEMAMM, P.E.; BERNARDI, M.L.; WOLLMANN, E.B.; FERREIRA, F.M.; BORCHARDT NETO, G. *Suínocultura em ação. Inseminação artificial na suínocultura tecnificada*. In: BORTOLOZZO,

F.P.; WENTZ, I.; FERREIRA, F.M.; BENNEMAMM, P.E.; BERNARDI, M.L. 1ª ed., Porto Alegre: Palloti, cap.7. p.69-87, 2005.

BORTOLOZZO, F.P.; MENEGAT, M.B.; MELLAGI, A.P.G.; BERNARDI, M.L.; WENTZ, I. New artificial insemination technologies for swine. *Reproduction in Domestic Animals*, v.50, n.2, p.80-84, 2015.

CHENG, T.T.K. In vitro fertilization of farm animal oocytes. 1985. 154p. (PhD Thesis). Council for National Academic Awards. UK, 1985.

COLLARES, B.B.; GIELH, D.Z.; KRATZ, L.R. Qualidade e contaminação bacteriana de sêmen suíno com o uso de dois diluentes. In: Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão – SIEPE. 9, 2017, Anais... Santana do Livramento/RS. Universidade Federal do Pampa, v.9, n.2, p.1-9, 2017.

DALLANORA, D. Manejo reprodutivo da fêmea suína: Manejo da inseminação artificial: princípios, protocolos e cuidados. In: ABCS. Produção de Suínos: Teoria e Prática. 1ª ed., Brasília: ABCS. cap.7, p.297-301, 2014.

DE AMBROGI, M.; SPINACI, M.; GALEATI, G.; TAMANINI, C. Viability and DNA fragmentation in differently sorted boar spermatozoa. *Theriogenology*, v.66, n.8, p.1994-2000, 2006.

DE LEEUW, F.E.; CHEN, H.C.; COLENBRANDER, B.; VERKLEIJ, A.J. Cold-induced ultrastructural changes in bull and boar sperm plasma membranes. *Cryobiology*, v.27, n.2, p.171-183, 1990.

DU MESNIL DU BUISSON, F.; DAUZIER, L. Improvement of practical use of preservation techniques for boar semen by saturation of the diluent with carbondioxide. *Annales de Zootechnie*, v.8, p.81-96, 1959.

FÁVERO, J.A. Abate de suínos machos inteiros – Visão brasileira. In: Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína. 1, 2000, Anais... Concordia/SC. Embrapa Aves e Suínos, v.1, p.212-220, 2000.

FÁVERO, J.A.; FIGUEIREDO, E.A.P. Evolução do melhoramento genético de suínos no Brasil. *Revista Ceres*, Vicososa, v.56, n.4, p.420-427, 2009.

FOOTE, R.H. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science. Biography and History Series*, v.80, n.2, p.1-10, 2002.

FLOWERS, W.L. Detailed Description of Sperm Motility/Morphology and Causes of Abnormalities. In: Proceedings of the Midwest Boar Stud Conference II. Missouri, USA. p.15-22, 2004.

FLOWERS, W.L. Genetic and phenotypic variation in reproductive traits of AI boars. *Theriogenology*, v.70, n.8, p.1297–1303, 2008.

FLOWERS, W.L. Reproductive management of swine. In: BAZER, F.W.; LAMB, C.G.; WU, G. *Animal Agriculture: Sustainability, Challenges and Innovations*. Elsevier Inc., p.283–297, 2020.

FULLER, B.J. Cryoprotectants: the essential antifreezes to protect life in the frozen state. *Cryo Letters*, v.25, n.6, p.375–388, 2004.

GADEA, J. Review: Semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Spanish Journal of Agricultural Research*, v.1, n.2, p.17-27, 2003.

GARCÍA-VÁZQUEZ, F.A.; MELLAGI, A.P.G.; ULGUIM, R.R.; HERNÁNDEZ-CARACAVA, I.; LLAMAS-LÓPEZ, P.J.; BORTOLOZOO, F.P. Post-cervical artificial insemination in porcine: The technique that came to stay. *Theriogenology*, v.129, p.37-45, 2019.

GONZÁLEZ-PEÑA, D.; KNOX, R.V.; MACNEIL, M.D.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L. Genetic gain and economic values of selection strategies including semen traits in three and fourway crossbreeding systems for swine production. *Journal of Animal Science*, v.93, n.3, p.879-891, 2015.

GORDON, I. Inseminación artificial como método reproductor. In: *Reproducción controlada del ganado vacuno y búfalos*. 1ª ed., Zaragoza: Acriba, cap. 2, p.41-57, 1999.

GOTTARDI L.; BRUNEL L.; ZANELLI L. New dilution média for artificial insemination in the pig. In: *9th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination (ICAR)*. 1980. *Annals ... Madrid*, v.5, p.49-53, 1980.

GRANDJOT, G.; BRANDT, H.; GLODEK, P. Genetic and phenotypic investigation of performance, sêmen and fertility characters of artificial insemination boars. *Archives Animal Breeding*, v.40, n.5, p.421–432, 1997.

HUANG, Y.H.; LO, L.L.; LIU, S. H.; YANG, T.S. Age-related changes in semen quality characteristics and expectations of reproductive longevity in Duroc boars. *Animal Science Journal*, v.81 n.4, 432–437, 2010.

JOHNSON, L.; WEITZE, K.; FISER, P.; MAXWELL, W.M. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, v.62, n.1/3, p.143–172, 2000.

KAMANOVÁ V.; HADAŠ Z.; NEVRKLA P. Influence of genotype on production and quality of boar semen. Mendel University in Brno, Department of Animal Breeding, Czech Republic. *Research in Pig Breeding*, v.10, n2, p.14-17, 2016.

KAWĘCKA, M.; PIETRUSZKA, A.; J ACYNTO, E.; CZARNECKI, R. KAMYCZEK, M. Quality of semen of young boars of the breeds Pietrain and Duroc and their reciprocal crosses. *Archiv fur Tierzucht*. v.51, n.1, p.42-54, 2008.

KENNEDY, B.W.; WILKINS, J.N. Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. *Canadian Journal of Animal Science*, v.64, n.4, p.833–843, 1984.

KONDRACKI, S. Breed differences in semen characteristics of boars used in artificial insemination in Poland. *Pig News Information*, v.24, n.4, p.119-122, 2003.

KONDRACKI, S.; IWANINA, M., WYSOKINSKA, A., HUSZNO, M. Comparative analysis of Duroc and Pietrain boar sperm morphology. *Acta Veterinaria Brno*, v.81, n.2, p.195–199, 2012.

KNOX, R.V. The fertility of frozen boar sperm when used for artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, v.50, n.2, p.90–97, 2015.

KNOX, R.V. Artificial insemination in pigs today. *Theriogenology*, v.85, n.1, p.83–93, 2016.

LEVIS, D. Liquid boar semen production: current extender technology and where do we go from here? In: *Boar semen preservation IV, 2000, Proceedings IV International Conference on Boar Semen Presentation*, Maryland: Allen Press; p.267. 2000.

LI, X.; JIANG, B.; WANG, X.; LIU, X.; ZHANG, Q.; CHEN, Y. Estimation of genetic parameters and season effects for semen traits in three pig breeds of South China. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, v.136, n.3, p.183-189, 2019.

MAES, D.; LOPEZ RODRIGUEZ, A.; RIJSSELAERE, T.; PHILIP, V.Y.T.; SOOM, A. Artificial Insemination in Pigs. In: MANAFI, M. (Ed.), *Artificial Insemination in Farm Animals*. 1^a ed., InTech Open, p.79-94, 2011.

MALO, C.; GIL, L.; GONZALEZ, N.; CANO, R.; De BLAS, I.; ESPINOSA, E. Comparing sugar type supplementation for cryopreservation of boar semen in egg yolk based extender. *Cryobiology*, v.61, n.1, p.17–21, 2010

MARTÍN RILLO, S. How AI is progressing in Spain. *Pig International*, v.5, p.24-28, 1984.

MAZUR, P. Freezing of living cells: Mechanisms and implications. *American Journal of Physiology*, v.247, n.3, p.125–142, 1984.

MEMON, M.A.; OTT, R.S. Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. *World Review of Animal Production*, v.17, n.1, p.19-25, 1981.

MORETTI, J. (cited by Johnson L.A.; Aalberts J. G., 1984). Artificial insemination of swine: fertility using several liquid semen diluents. 8th IPVS Congress Ghent, Belgium, p.293, 1981.

MOREIRA, F.; FERREIRA, C.E.R.; PANZARDI, A.; CORCINI, C.D. Técnicas de inseminação artificial e uso de diferentes doses. *Science and animal health*. v.1, n.1 p.50-69, 2013.

MOUSSA, M.; MARINET, V.; TRIMECHE, A.; TAINTURIER, D.; ANTON, M. Low density lipoproteins extratec from hen egg yolk an easy method cryoprotective effect on frozen - thawed bull semen. *Theriogenoly*, v. 57, n.6, p. 1695-1706,2002.

OKORO, V.M.O.; MBAJIORGU, C.A. Estimates of crossbreeding parameters for growth and conformation traits in Nigerian indigenous and exotic pig breeds. *Applied Ecology and Environmental Research*, v.15, n.4, p.117-128, 2017.

PERKINS, G.A.; DIVERS, T.J; SMITH, M.C.; CALLAN, R.J. Examination of the surgical patient. In: FUBINI, S.L; DUCHARME, N.G. *Farm animal surgery*. 2^a ed., Missouri: Elsevier Inc., cap.1, p.1-22, 2017.

PINART, E.; PUIGMULÉ, M. Factors Affecting Boar Reproduction, Testis Function, and Sperm Quality. *Boar Reproduction*, In: HOLT, W.; BONET, S.; CASAS, I.; YESTE, M. *Boar Reproduction Fundamentals and New Biotechnological Trends*, 1^a ed., Springer, p.109–202, 2013.

PORTER, V. Pigs: A handbook to the breeds of the world. Cornell University, 1ª ed., Nova York: Ithaca, 1993. 256p.

PURDY, P.H. A review on goat sperm cryopreservation. Small Ruminant Research, (in press), v.63, n.3, p.215-225, 2006.

PURSEL, V.G.; JOHNSON, L.A.; SCHULMAN, L.L. Fertilizing capacity of boar semen stored at 15 °C. The Journal of Animal Science. v.37, n.2, p.532-535, 1973.

PURSEL, V.G.; JOHNSON, L.A. Freezing of boar spermatozoa: fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. The Journal of Animal Science v.40, n.1, p.99-102, 1975.

PLISKO, N.T. Method of prolonging the viability and fertilizing capacity of boar spermatozoa. Svinovodstvo v.9, p.37-41, 1965.

REIS, F.T. Colheita, avaliação e manipulação do ejaculado de suínos. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.21, n.3, p.22-29, 1997.

REED, H.C.B.; CURNOCK, R.M. Comparison of three liquid semen diluents in a national semen delivery service in Great Britain. Reproduction in Domestic Animals, v.1, p.369-373. 1990.

REVELL, S.G.; GLOSSOP, C.E. A long-time ambiente temperature diluent for boar semen. Animal Production. v.48, n.3, p.579-584, 1989.

ROBINSON, J.A.B.; BUHR, M.M. Impact of genetic selection on management of boar replacement. Theriogenology, v.63, n.2, p.668-678, 2005.

ROCA, J.; CARVAJAL, G.; LUCAS, X.; VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A. Fertility of weaned sows after deppe intrauterina insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. Theriogenology, v.60, n.1, p.77-87, 2003.

RUIZ-SÁNCHEZ, A.L.; O'DONOGHUE, R.; NOVAK, S.; DYCK, M.K.; COSGROVE, J.R.; DIXON, W.T.; FOXCROFT, G.R. The predictive value of routine semen evaluation and IVF technology for determining relative boar fertility. Theriogenology, v.66, n.4, p.736-748, 2006.

SELK, G. Using fresh and frozen semen in a swine A.I. program. Oklahoma State University: Division of Agiruclutal Sciences nd Natural Resources - Cooperative Extension Service, 2007, 7p. (Boletim Técnico, 7).

SMITAL, J.; DE SOUSA, L.; MOHSEN, A. Differences among breeds and manifestation of heterosis in AI boar sperm output. Animal Reproduction Science, v.80, n.1-2, 121-130, 2004.

SMITAL, J. Effects influencing boar semen. Animal Reproduction Science, v.110, n.3/4, p.335-346, 2009.

SQUERES, E.L.; PICKETT, B.W.; GRAHAM, J.K.; VANDERWALL, D.K.; MCCUE, P.M., BRUEMMER, J.E. Cooled and fozen stallion semen. Fort Collins: Colorado State University. Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, Bulletin, n.9, p.80, 2004.

TORRES FILHO, R.A.; TORRES, R. A.; LOPES P. S.; PEREIRA C.S.; EUCLYDES, R.F.; ARAÚJO, C.V.; SILVA, M.A; BREDA, FC. Estimativas de parâmetros genéticos para características reprodutivas de suínos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.57, n.5, p.684-689, 2005.

TONIOLLI, R.; AIRES, F. P.; CHAVES, R. N.; FONTENELLE, C. V.; FREITAS, F. V. Avaliação da toxicidade antibiótica sobre a viabilidade espermática da dose inseminante de sêmen suíno. Ciência Animal, v.16, n.1, p.27-33. 2006

WATSON, P.F. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing functions. Reproduction, Fertility and Development. v.7, n.4, p.871-891, 1995.

WEITZE, K.F. Long-term storage of extended boar semen. Reproduction in Domestic Animals n.1, p.231-253, 1990.

WEITZE, K.F. Seleção de suínos machos jovens como doadores de sêmen. In: Simpósio Satélite do Simpósio Internacional de Suinocultura, 5, 2010, Anais... Porto Alegre, RS. SINSUI, p.1-13, 2010.

WOELDERS, H. Maintaining quality of boar sperm during storage and transportation. PIGS - Misset, v.8, p.22-23, 1992.

WOLF, J. Genetic parameters for semen traits in AI boars estimated from data on individual ejaculates. Reproduction in Domestic Animals, v.44, n.2, p.338-344, 2009.

WOLF, J. Heritabilities and genetic correlations for litter size and semen traits in Czech Large White and Landrace pigs. Journal of Animal Science, v.88, n.9, p.2893-2903, 2010.

WYSOKINSKA, A.; KONDRACKI, S. Assessment of the effect of heterosis on semen parameters of two-breed crosses of Duroc, Hampshire and Pietrain boars Archiv fur Tierzucht. v.56, n.7, p.1-10, 2013.

YESTE, M. Recent advances in boar sperm cryopreservation: state of the art and current perspectives. Reproduction in Domestic Animals, v.50, n.2, p.71-79, 2015.

YESTE, M. Sperm cryopreservation update: Cryodamage, markers, and factors affecting the sperm freezability in pigs. Theriogenology, v.85, n.1, p.47-64, 2016.

YESTE, M.; RODRÍGUEZ-GIL, J. E.; BONET, S. Artificial insemination with frozen-thawed boar sperm. Molecular Reproduction and Development, v.84, n.9, p.802-813, 2017.