

---

# OXITOCINA NO SÊMEN SUÍNO HETEROSPÉRMICO RESFRIADO A 15 °C \*

LUIS DAVID SOLIS MURGAS<sup>1</sup>, MÁRCIO GILBERTO ZANGERÔNIMO<sup>2</sup>,  
ANNA GRACIELA OLIVEIRA SANTOS<sup>3</sup> E SILVIO LUIZ DE OLIVEIRA<sup>4</sup>

---

\* Colaboração da Minitub do Brasil Ltda.

1. Professor do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA

2. Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da UFLA

3. Aluna de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da UNIFENAS

4. Aluno do Curso de Doutorado em Zootecnia da UFLA.

Departamento de Medicina Veterinária – UFLA, Caixa Postal 37 – CEP 37200-000, Lavras, MG

---

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da oxitocina sobre a qualidade do sêmen suíno heterospérmico diluído em BTS e armazenado a 15 °C. Foram utilizadas três misturas de dois ejaculados, coletados de quatro animais mestiços. As doses contendo o sêmen foram armazenadas em geladeira, em garrafas plásticas, sem oxitocina (T1) e outra com adição de oxitocina (T2) na concentração de 2,5 UI/dose. Amostras de sêmen foram retiradas nos tempos zero, 24 e 48 horas para avaliações de fertilidade. Os valores médios encontrados para motilidade, vigor, percentagem de

espermatozoides vivos e integridade de acrossoma foram respectivamente de 63,0%, 2,9, 90,0% e 98,0% no tempo 24 h e 55,0%, 2,7, 90,6% e 97,2% no tempo 48 h de armazenamento. E para o sêmen tratado com oxitocina (T2) os valores médios encontrados foram: 63,0%, 3,0, 90,7% e 97%,1 no tempo 24 h e 58,0%, 2,8, 88,6% e 97,1% no tempo 48 h. As análises estatísticas mostraram que houve diferenças significativas apenas para o vigor espermático, mas que a oxitocina pode ser utilizada como meio de aumentar a taxa de concepção dos animais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Inseminação artificial, suínos, sêmen heterospérmico.

---

## SUMMARY

### OXITOCIN IN HETEROSPERMIC SWINE SEMEN COOLED AT 15 °C

The aim of this study was to evaluate the effect of oxitocin on the quality of heterospermic semen swine extended in BTS at 15 °C. Three mixture of two ejaculated were utilized, collected from four boars. The semen were stored in refrigerator, in plastic bottle, without oxitocin (T1) and other added of oxitocin (T2) in concentration of 2,5 UI/dose. Semen samples were retreated in times 0, 24 and 48 hours for fertility evaluation. The medium values observed for motility

and spermatic vigor, alive sperm percentage and acrossome integrity (NAR) were respectively 63,0 %, 2,9, 90% and 98% after 24 h and 55,0%, 2,7, 90,6% and 97,2% after 48 h of storage. And for the semen with oxitocin the medium values were 63,0%, 3,0, 90,7% and 97,1% after 24 h and 58,0%, 2,8, 88,6% and 97,1% after 48 h. There were statistical diferences ( $P < 0.05$ ) only for spermatic vigor, but oxitocin can be used as form of increase the conception rate of the animals.

**KEY WORDS:** Artificial insemination, swine, heterospermic semen.

## INTRODUÇÃO

A técnica de inseminação artificial na espécie suína representa importante fator econômico, não só pela possibilidade de acelerar o melhoramento genético dos rebanhos suínos com o uso intensivo de machos geneticamente superiores, como também pela diminuição do número de varrões, utilização de animais com sêmen de ótima qualidade e fertilidade comprovada em exames andrológicos periódicos, melho-

res condições de higiene sanitárias, melhor aproveitamento desses machos, pois com um único ejaculado várias fêmeas são inseminadas, e melhor controle zootécnico de porcas improdutivas (Gomes et al., 1976). Por outro lado, não se deve esquecer que, para a sua implantação em uma granja e obtenção de bons resultados, alguns cuidados devem ser tomados, pois, embora seja uma técnica relativamente simples de ser aplicada, há uma série de detalhes e até mesmo um certo grau de sofisticação que envolve a

utilização de alguma aparelhagem, reagentes, medidas de pH, osmolaridade e temperatura, bem como pessoal técnico especializado. Contudo, a utilização da inseminação artificial está limitada pelo tempo de conservação do sêmen, em média 72 horas após colheita e diluição, à temperatura de 15° a 18°C.

No Brasil, a inseminação artificial em suínos tem apresentado crescimento considerável nos últimos anos, notadamente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Espera-se que, nos próximos anos, possa haver maior expansão em toda suinocultura brasileira. Atualmente, estima-se que cerca de 14% a 16% das matrizes suínas no País sejam inseminadas artificialmente, enquanto, em outros países, especialmente os europeus, há rebanhos em que esta biotecnologia alcança 80% das fêmeas suínas em reprodução (Nascimento, 1997).

A eficiência reprodutiva de porcas estimada em número de leitões por parto e no número de partos/porca/ano, com certeza, será gradativamente incrementada com o uso de inseminação artificial, especialmente pelos avanços em tecnologia de sêmen e pelo aperfeiçoamento do manejo reprodutivo. Espera-se para o rebanho brasileiro melhor eficiência do manejo reprodutivo tecnificado, que poderá contribuir significativamente para o aumento da taxa de desfrute, estimada em 40% a 60%, bastante inferior à dos principais países produtores, que alcança números expressivos de até 160%.

Existe uma grande variabilidade no emprego de diferentes machos em programas de inseminação artificial, principalmente no que se refere à taxa de parto e tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas. Aspectos referentes a alterações da morfologia espermática do sêmen desses cachos assumem, ao que parece, maior influência nos resultados observados do que a motilidade avaliada (Dirksen, 1991). Essas diferenças entre machos podem estar relacionadas também com uma variabilidade dos diferentes ejaculados diante das técnicas de processamento e armazenamento.

Tanto o resfriamento como o congelamento do sêmen são eventos atípicos e estressantes na vida das células espermáticas. Nem os processos de adaptação e nem os de evolução têm preparado os espermatozoides de mamíferos para essas agressões. Portanto, é perfeitamente normal que o

espermatozóide preservado através desses meios apresente uma fertilidade menor do que o espermatozóide a fresco (Watson, 1996).

Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas, nos últimos anos, com o objetivo de aumentar a qualidade da conservação do sêmen dos suínos, especialmente no que refere aos crioprotetores. Diversos diluidores têm sido utilizados para diluir, resfriar e armazenar o sêmen suíno. Entretanto, os elementos necessários à sobrevivência espermática do suíno ainda não são totalmente conhecidos. Assim, diversos diluentes têm sido propostos, objetivando sobretudo o efeito crioprotetor (Nascimento, 1997).

É bem conhecido que a membrana do espermatozóide fica mais permeável após o resfriamento (Ortman & Rodriguez-Martines, 1994). Isto sugere que muitas substâncias atravessam a membrana e são responsáveis por eventos intracelulares como a indução da capacitação promovida pelo íon cálcio. As diferenças parecem estar relacionadas à composição química e molecular das membranas plasmática e mitocondrial, especialmente os ácidos graxos e os fosfolípidos (Poulos et al., 1973). Em consequência do choque térmico, lesões irreversíveis são observadas, especialmente no acrossoma, com desprendimento e perda de conteúdo (Pursel et al., 1972; Watson & Plummer, 1985).

A sensibilidade ao choque térmico pode ser influenciada pelo plasma seminal (Pursel et al., 1973a). Polge (1956) assinala que os espermatozoides do ejaculado total são mais sensíveis ao resfriamento do que os presentes na fração rica. No entanto, Pursel et al. (1984) observaram que a integridade do acrossoma é maior nos espermatozoides de ejaculado total do que naqueles originários somente da fração rica. Watson et al. (1996) acreditam que o plasma possui fatores sensibilizantes e fatores de resistência no choque térmico.

A função básica do diluidor é prolongar a viabilidade dos espermatozoides, fornecendo-lhes nutrientes e substâncias crioprotetoras ou fatores de resistência (Varner et al., 1987). O diluidor e a temperatura ideais capazes de oferecer maior longevidade aos espermatozoides ainda não são totalmente conhecidos, especialmente a baixas temperaturas. Um dos diluidores mais utilizados é o Beltsville Thawing

Solution (BTS), que, na proporção de 1:1 e mantido em refrigeração a 15° C, apresenta melhores resultados, conservando a capacidade fertilizante do sêmen por até cinco dias após a colheita (Gonsales et al., 1993).

Há necessidade do desenvolvimento de técnicas e soluções que permitam a utilização do sêmen resfriado e congelado sem alterações dos resultados de fertilidade e esta é uma característica importante na área de reprodução, em particular na tecnologia do sêmen suíno.

A oxitocina apresenta como propriedade a estimulação da contratilidade uterina, e é utilizada no tratamento da atonia do útero. Essa atividade possibilita sua utilização conjunta à inseminação artificial, o que facilita o transporte espermático, permitindo assim que mais espermatozoides cheguem à tuba uterina, conseqüentemente, favorecendo a fecundação.

Segundo Arvelo & Melli (1997), a oxitocina é essencialmente útil quando influências externas reduzem o número de células espermáticas viáveis para a fecundação, como nos casos em que a inseminação artificial é conduzida por técnicos inexperientes ou se o sêmen for aplicado com mais de 72 horas após a colheita. Esses pesquisadores observaram um aumento na taxa de concepção, quando se adicionou oxitocina a concentrações reduzidas de espermatozoides vivos. Outros pesquisadores (Podda et al., 1999) observaram que a utilização de oxitocina no sêmen promove um aumento de 5% a 7% nas taxas de gestação e 0,2 a 0,4 leitões por matriz, sugerindo seu uso em larga escala.

A adição de 10 UI de oxitocina ao sêmen diluído mostrou efeito negativo sobre a fertilidade e tamanho da leitegada, enquanto a adição de 5 UI de oxitocina ao sêmen diluído com BTS apresentou uma fertilidade de 97,4 % e uma prolificidade de 11,52 leitões (Vera-Alcaraz, 1994).

Nos trabalhos realizados por Podda et al. (1999), nos quais foram testadas concentrações de 0,5; 1,5 e 2,5 UI por dose inseminante, não foram observadas diferenças significativas sobre a motilidade e o vigor espermáticos. Por outro lado, Costa et al. (1999) observaram aumento no número de leitões nascidos por porca quando foi utilizada a

concentração de 2,5 UI de oxitocina ao sêmen diluído com BTS.

Além de toda a problemática relacionada aos diferentes métodos de processamento de sêmen, há ainda a diferença relacionada à susceptibilidade do sêmen de cada animal durante o armazenamento. É comprovada essa diferença durante o congelamento-descongelamento do sêmen e, segundo Medrano & Holt (1998), essa diferença está na composição química da membrana espermática, o que pode ocorrer também durante o resfriamento. O uso de sêmen heterospérmico pode diminuir esse efeito no sêmen descongelado (Murgas et al., 2001) e acredita-se que possa diminuir também no sêmen resfriado.

Pela literatura consultada, não existem dados de qualidade do sêmen heterospérmico suíno resfriado a 15 °C com adição de oxitocina, dados esses que poderão ser utilizados pelas centrais de inseminação para o estabelecimento de seus respectivos programas.

Assim, desenvolveu-se este trabalho, com o objetivo de avaliar o comportamento do sêmen suíno heterospérmico diluído em BTS, testar sua viabilidade quando se adiciona a oxitocina e promover meios e métodos alternativos para difundir maior aplicação da inseminação artificial suína, utilizando-se alternativas práticas e de baixo custo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados quatro reprodutores suínos mestiços pertencentes ao Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da UFLA. Os animais foram treinados para colheita de sêmen, com a utilização de manequim. A colheita do sêmen foi realizada pelo método da mão enluvada, em garrafas térmicas, pré-aquecidas a 35 °C, e protegidas com gaze para a separação da fração gel. Apenas a fração rica do ejaculado foi utilizada e, no laboratório, foram avaliados a motilidade e o vigor espermáticos. Em seguida, amostras de aproximadamente 30 ml foram retiradas e diluídas com BTS na proporção de 1:1 e então avaliados a motilidade, o vigor, a integridade acrossômica (% NAR) e a viabilidade espermática (% vivos). Os volumes obtidos após a diluição de dois ejaculados, colhidos de animais diferentes, fo-

ram misturados em proporções iguais de volume (sêmen heterospérmico) e então determinou-se a concentração espermática para a preparação das doses. Foram preparadas duas doses de 80 ml contendo 6 bilhões de espermatozoides cada. Após nova diluição do sêmen no meio diluidor BTS, este permaneceu em banho-maria a uma temperatura de 32°C por um período de 15 minutos. Em seguida, o sêmen diluído foi avaliado nos parâmetros que se referem ao tempo zero do experimento, ou seja, os mesmos parâmetros utilizados para o sêmen fracionado em 1:1 (motilidade e vigor espermáticos, integridade acrossômica e viabilidade espermática). As doses foram, a seguir, acondicionadas em garrafas plásticas, onde constituíram os seguintes tratamentos: uma delas foi armazenada sem a adição de oxitocina (T1 = controle) e a outra com adição de oxitocina na concentração de 2,5 UI/dose (T2 = sêmen com adição de 2,5 UI de oxitocina). As garrafas plásticas que continham o sêmen foram incubadas em geladeira a 15°C, de onde foram retiradas amostras nos tempos 24 e 48 horas, para novas avaliações da motilidade e vigor espermáticos, da integridade acrossômica em microscópio de contraste de fase e avaliação da viabilidade espermática. Antes dessas novas avaliações terem sido realizadas, as amostras retiradas dos tratamentos permaneceram em banho-maria a 32°C por um período de 20 minutos para que o sêmen retomasse sua atividade.

Para verificação da qualidade espermática procedeu-se à avaliação dos seguintes itens:

a) motilidade espermática: avaliada através do exame de uma gota de sêmen, entre lâmina e lamínula pré-aquecidas, em microscopia de campo claro com aumento de 20x. As avaliações foram realizadas em triplicata, independentemente, por dois avaliadores, e expressas em percentual de células móveis da amostra;

b) concentração espermática: determinada por contagem, em hemocitômetro, da amostra de sêmen diluído a 1:100, com o resultado expresso em número de células/ml de sêmen;

c) integridade acrossômica: realizada em microscopia de contraste em aumento de 1.000 x, através da contagem diferencial de 200 células de amostras previamente fixadas em solução de formol citrato;

d) viabilidade espermática: preparou-se um esfregaço a partir de uma gota de sêmen e uma gota de corante eosina-nigrosina, determinando-se a proporção entre células coradas e não coradas (células mortas e vivas, respectivamente) em microscópio de campo claro em aumento de 40x.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 3 x 3 (oxitocina x sêmen heterospérmico x tempo).

O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + O_j + T_k + (AO)_{ij} + (AT)_{ik} + (OT)_{jk} + (AOT)_{ijk} + E_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  = variável resposta;

$\mu$  = média geral;

$A_i$  = efeito das amostras, sendo  $i = 1, 2$  e  $3$ ;

$O_j$  = efeito da oxitocina, sendo  $j = 1$  e  $2$ ;

$T_k$  = efeito do tempo, sendo  $k = 1, 2$  e  $3$ ;

$(AO)_{ij}$  = efeito da interação da amostra  $i$  com o uso de oxitocina  $j$ ;

$(AT)_{ik}$  = efeito da interação da amostra  $i$  com o tempo  $k$ ;

$(OT)_{jk}$  = efeito da interação da oxitocina  $j$  com o tempo  $k$ ;

$E_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação, considerando;

normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

Os parâmetros seminais nos tratamentos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa Sisvar (1999) e o teste de Tukey para comparação entre médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os valores para a motilidade e vigor espermáticos do sêmen *in natura* dos animais utilizados no experimento. Segundo a IPVS (1996), a qualidade do sêmen deve ser realizada analisando a coloração, o volume e a motilidade espermática imediatamente após a colheita. Durante o experimento, foram avaliados a motilidade e o vigor espermático, a morfologia acrossômica (NAR) e a viabilidade espermática. Os ejaculados

contaminados com sangue ou urina foram descartados.

Valenzuela (1982) assinalou valores entre 70% e 80% para a motilidade de um ejaculado normal, valores próximos de 3,7 para o vigor espermático. Costa et al. (1999) observaram a motilidade espermática média de 88,33% e vigor espermático 4. Portanto, os animais utilizados neste experimento apresentam bons índices de qualidade espermática (motilidade e vigor).

Na Tabela 2 são apresentados os dados que qualificam o sêmen antes de serem processadas as doses. Segundo Lima, citado por Valenzuela (1982), a ocorrência de anomalias acrossômicas em varrões Yorkshire mostrou uma média de 0,77%. Gadea et al. (1998) observaram valores próximos de 91% para a integridade acrossômica (NAR) do sêmen proveniente de animais com alta fertilidade. Neste

experimento não se observou nenhum animal apresentando valores abaixo dessa média.

Quanto à integridade de membrana, Gadea et al. (1998) observaram valores acima de 80% para o teste de proporção de espermatozoides vivos/mortos quando utilizado o corante eosina-nigrosina. Os valores desses parâmetros encontrados neste trabalho foram superiores, comprovando a boa qualidade dos ejaculados antes de receberem os tratamentos.

As Tabelas 3, 4, 5 e 6 mostram os dados médios referentes à motilidade e vigor espermáticos, integridade acrossômica e viabilidade espermática (% vivos) para cada tratamento, respectivamente. Os valores encontrados para motilidade e vigor espermático no tempo 0 hora de avaliação foram similares aos observados por Figueirôa et al. (2001) e Moreira et al. (2001), em seus trabalhos, quando utilizaram BTS nas mesmas condições.

**TABELA 1.** Motilidade e vigor espermáticos médios (desvio-padrão) do sêmen *in natura* dos animais experimentais e seus respectivos números de ejaculados.

Animal	Número de ejaculados	Motilidade espermática (%)	Vigor espermático
A	6	80,8 (11,3)	3,8 (0,9)
B	3	75,0 (4,1)	3,7 (0,5)
C	6	90,0 (9,1)	4,5 (0,5)
D	3	86,7 (4,7)	4,3 (0,5)
Média total	83,53 (10,5)	4,11 (0,7)	

**TABELA 2.** Motilidade e vigor espermáticos médios (desvio-padrão), morfologia e viabilidade espermática média (desvio-padrão) dos ejaculados após a primeira diluição.

Animal	Motilidade espermática média (%)	Vigor espermático médio	% vivos	NAR (%)
A	79,2 (6,1)	4,0 (0,6)	92,7 (4,7)	100 (0,0)
B	71,7 (6,2)	3,3 (0,5)	94,3 (1,7)	100 (0,0)
C	85,8 (8,4)	4,7 (0,5)	92,2 (4,5)	99,8 (0,4)
D	85,0 (7,1)	4,3 (0,5)	92,0 (1,4)	99,0 (1,4)
Média total	81,11 (8,8)	4,17 (0,7)	92,67 (3,9)	99,78 (0,7)

Para as variáveis motilidade e viabilidade espermática e para integridade acrossômica, a análise estatística não mostrou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, ou seja, o sêmen apresentou o mesmo comportamento quando adicionado ou não de oxitocina durante o período de armazenamento (48 h). A significativa perda de motilidade ao longo do tempo já era esperada, mas também pode ter sido influenciada pelo efeito da raça Large White que, segundo Figueirôa et al. (2001), evidencia maior sensibilidade quando o sêmen é submetido à temperatura de 17 °C. Segundo esses autores, os valores de motilidade espermática para os animais dessa raça após 48 horas de armazenamento em BTS a 17 °C foram muito reduzidas, o que inviabilizou o uso desse sêmen após esse tempo de armazenamento. De acordo com o Manual para Exame Andrológico e Avaliação do Sêmen Animal, citado por esses mesmos autores, recomenda-se pelo menos 50 % de motilidade espermática no sêmen refrigerado suíno para que ele possa ser utilizado na inseminação artificial. Os valores

de motilidade espermática, utilizando sêmen heterospermico, foram superiores a 50 % até o período de 48 horas, o que mostra a viabilidade do sêmen até esse período para o uso na inseminação artificial. A melhora observada nesse parâmetro pode ser conseqüência da redução da influência da raça (Large White) pela utilização de sêmen heterospermico, realizada neste experimento.

Para a variável vigor espermático, houve uma conservação da qualidade do sêmen ao longo do tempo quando se adicionou a oxitocina ( $P < 0,01$ ), porém não houve diferenças quanto à adição deste hormônio quando se levaram em consideração os tempos isoladamente ( $P > 0,05$ ).

Para os valores encontrados nas Tabelas 5 e 6 não houve diferenças significativas pelo teste Tukey ao nível de 5 % ( $P > 0,05$ ), por causa da alta variabilidade dos valores encontrados entre as amostras. Comparando esses dados com os observados por Gadea et al. (1998), pode-se dizer que o sêmen manteve sua qualidade ao longo do tempo experimental.

**TABELA 3.** Motilidade espermática média (desvio-padrão) do sêmen heterospermico de varrões nos tempos 0, 24 e 48 horas de armazenamento com e sem adição de oxitocina.

Tratamento	Tempo de avaliação		
	0 hora	24 horas	48 horas
Sem oxitocina	70,0 (8,96)a	63,0 (6,71)ab	55,0 (7,24)b
Com oxitocina	70,0 (8,96)a	63,0 (9,16)ab	58,0 (8,85)b

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1%.

**TABELA 4.** Vigor espermático médio (desvio-padrão) do sêmen heterospermico de varrões nos tempos 0, 24 e 48 horas de armazenamento com e sem adição de oxitocina.

Tratamento	Tempo de avaliação		
	0 hora	24 horas	48 horas
Sem oxitocina	3,9 (0,68)a	2,9 (0,73)ab	2,7 (0,83)b
Com oxitocina	3,9 (0,68)a	3,0 (0,67)a	2,8 (0,79)a

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1%.

**TABELA 5.** Integridade acrossômica média (desvio-padrão) do sêmen heterospermico de varrões nos tempos 0, 24 e 48 horas de armazenamento com e sem adição de oxitocina.

Tratamento	Tempo de avaliação		
	0 hora	24 horas	48 horas
Sem oxitocina	98,3 (1,49)	98,0 (1,56)	97,2 (1,75)
Com oxitocina	98,3 (1,49)	97,1 (2,42)	97,1 (1,73)

Não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

**TABELA 6.** Viabilidade espermática média (desvio-padrão) do sêmen heterospermico de varrões nos tempos 0, 24 e 48 horas de armazenamento com e sem adição de oxitocina.

Tratamento	Tempo de avaliação		
	0 hora	24 horas	48 horas
Sem oxitocina	98,3 (1,49)	98,0 (1,56)	97,2 (1,75)
Com oxitocina	90,1 (3,48)	90,5 (2,59)	88,5 (3,06)

Não significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

## CONCLUSÃO

A análise deste experimento mostrou que a oxitocina apenas preservou o vigor espermático do sêmen heterospermico de varrões e que não influenciou a qualidade referente aos outros parâmetros de avaliação. No entanto, outros trabalhos devem ser realizados para verificar a influência da oxitocina nos índices de fertilidade.

Do ponto de vista econômico, a oxitocina poderia ser utilizada para aumentar a taxa de concepção pelas marrãs, uma vez que não prejudicou a qualidade do sêmen de varrões e por apresentar baixo custo ao produtor.

## REFERÊNCIAS

ARVELO, F.; MELLI, P. M. Multi-phase improves fertility. *Pig International*, v. 27, n. 2, p. 27-28, 1997.

COSTA, E. P.; VILELA, C. G.; CARVALHO, F. F. Oxitocina no sêmen diluído de varrões. II- Influência na taxa de repetição de estros e número de leitões nascidos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: ABRAVES, 1999. p. 345-346.

DIRKSEN, G. Langzinteinsatz von eberfluessisperma unter besonderer beruecksichtigung von lagerungsdauer. Verduennermedium und samenspende, Hannover, *Tieraerztl. Hochsch, Diss*, 1991.

FIGUEIRÔA, P. T. B.; SALVIANO NETO, P.; OLIVEIRA, R. R. Avaliação da viabilidade do sêmen suíno submetido à refrigeração. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 25, n. 3, p. 442-443, 2001.

GADEA, J.; MATÁS, C.; LUCAS, X. Prediction of porcine semen fertility by homologous *in vitro* penetration (hIVP) assay. *Animal Reproduction Science*, v. 56, 1998. p. 95-108.

GOMES, S. Z.; WAMLING, I.; SOUTO, G. A. SILVEIRA, P. R. *Projeto catarinense de inseminação artificial de suínos*. Concórdia, SC: ACCS, 1976. 24p.

GONSALES, J. A. C.; BORDIGNON, V.; DIAZ, M. Fertilidade do sêmen de suíno preservado em diluente contendo trealose e armazenado a temperatura de 5 °C. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., CBRA, Belo Horizonte. *Anais...* BH: CBRA. 1993.

- MEDRANO, A.; HOLT, W. V. Variación individual en la susceptibilidad del semen porcino al congelado-descongelado. *Arch. Zootec.* v. 47, p. 319-327, 1998.
- MOREIRA, F. R. C.; TONIOLLI, R.; DUARTE, A. B. G. Tempos de equilíbrio no processamento de sêmen suíno. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 25, n. 3, p. 444-445, 2001.
- MURGAS, L. D. S.; SELLÉS, E.; GADEA, J.; RUIZ, S. Crioconservación espermática en la espécie porcina: estudio de dos sistemas de congelación con semen heterospermico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 10., Porto Alegre, 2001. *Anais...* Porto Alegre: ABRAVES, 2001.
- NASCIMENTO, E. F. *Efeitos de diluidores e do resfriamento a 16 °C e 5 °C sobre as características espermáticas de varrões.* 1997, 96p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- ORTMAN, K.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Membrane damage during dilution cooling and freezing-thawing of boar spermatozoa packages in plastic bag. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 41, p. 37-47, 1994.
- PODDA, M. C. A.; COSTA, E. P.; PINHEIRO, R. W. et al. Oxitocina no sêmen diluído de varrões. I - Influência nos aspectos físicos do sêmen e morfológicos dos espermatozoides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 9., 1999. Belo Horizonte: *Anais ...* Belo Horizonte: ABRAVES, 1999. p. 343-344.
- POLGE, C. Artificial Insemination in pigs. *Vet. Rec.*, v. 68, n. 4, p. 62-75, 1956.
- POULOS, A.; DARIN-BENNETT, A.; WHITE, I. G. The phospholipid-bound fatty acids and aldehyds of mammalian spermatozoa. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 4613, p. 541-549, 1973.
- PURSEL, V. G.; JOHNSON, L. A.; RAMPACEK, G. B. Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *Journal of Animal Science*, v. 34, n. 2, p. 278-283, 1972.
- PURSEL, V. G.; JOHNSON, L. A.; SCHULMAN, L. L. Effect of dilution seminal plasma and incubation period on cold shock susceptibility of boar spermatozoa. *Journal of Animal Science*, v. 37, n. 2, p. 528-531, 1973a.
- PURSEL, V. G.; SCHULMAN, L. L.; JOHNSON, L. A. Effect of holding time on storage of boar spermatozoa at 5 °C. *Journal of Animal Science*, v. 37, p. 785-789, 1973b.
- PURSEL, V. G. Preservation of boar semen above 15 °C. Effects of storage temperature extender and container. *Journal Animal Science*, v. 57, n. 1, p. 125-126, 1984.
- IPVS – INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY. Semen de verraco bajo el microscopio, *Revista Indústria Porcina*, v. 16, n. 2, p. 9-10, 1996.
- SISVAR. *Sistema de Análise de Variância.* Departamento de Ciências Exatas, UFLA. versão 4.0, 1999.
- VALENZUELA, B. *Características físicas e morfológicas do sêmen do varrão.* 1982. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- VARNER, D. D.; BLANCHARD, D. T.; LOVE, C. L. Effects on semen fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology*, v. 28, n. 5, p.709-723, 1987.
- VERA-ALCARAZ, E. Efecto de la adición de oxitocina en el sêmen de verracos sobre la fertilidad y prolificidad en la cerda. *Veterinária Mexico*, v. 25, n. 3, p. 292, 1994.
- WATSON, P. F.; PLUMMER, J. M. The response of boar sperm membranes to cold shock and cooling. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON DEEP FREEZING OF BOAR SEMEN, 1985, Uppsala. *Proceedings ...* Uppsala, 1985. p. 113-125.
- WATSON, P. F. Cooling of spermatozoa and fertilizing capacity. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 32, p. 135-140, 1996.