

## **BIOTECNOLOGIA DO SÊMEN E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM AVES**

(Semen biotechnology and avian artificial insemination)

**Carlos Tadeu Bandeira de LAVOR<sup>1\*</sup> Suiany Rodrigues CÂMARA<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade Terra Nordeste (FATENE)

<sup>2</sup>Universidade Potiguar (UnP).

\*E-mail: tadeulavor@bol.com.br

### **RESUMO**

A biotecnologia animal, de aplicação mais importante, inclui a coleta de sêmen, para a avaliação, preservação e para a inseminação artificial (IA). A IA é aplicada em aves e têm sido amplamente revisada. Os pioneiros na biotecnologia de reprodução avícola desenvolveram o método de massagem abdominal, para coletar sêmen de galos. A conservação da variabilidade genética é um desafio para a produção sustentável de recursos alimentares e para a preservação da biodiversidade. A necessidade para preservação de sêmen avícola terá como foco, o progresso em prognósticos satisfatórios para sêmen congelado; criação de métodos padronizados de congelamento de sêmen de outras espécies diferentes de galos; incremento de criobancos de sêmen de aves; preservação de espécies raras; manutenção de aceitável variabilidade genética selecionada de linhas puras; disponibilidade a longo prazo de potencial genético de animais excepcionais e; suporte financeiro para pesquisa.

Palavras-chave: Água de coco em pó; espermatozoide; diluidor; conservante.

### **ABSTRACT**

The animal biotechnology, the most important application, including the collection of semen for the evaluation, preservation and artificial insemination (AI). The AI is applied in birds and have been widely reviewed. The pioneers in biotechnology poultry breeding have developed the method of abdominal massage, to collect semen from

roosters. The conservation of genetic variability is a challenge for the sustainable production of food resources and the preservation of biodiversity. The need for preservation of semen will focus on poultry, progress satisfactory predictions for frozen semen, the creation of standardized methods for freezing sperm of other species of roosters; criobancos increase in semen of birds, and conservation of rare species, maintenance of acceptable genetic variability in selected inbred lines; long-term availability of genetic potential and exceptional animal; financial support for research.

Key words: Powder coconut water; spermatozoa; dilution ; preservative.

## INTRODUÇÃO

Os pioneiros na biotecnologia de reprodução avícola são Burrows e Quinn (1937), que desenvolveram o método de massagem abdominal e pressão na região da cloaca, para coletar sêmen de galos. Com a técnica de coletar sêmen de aves, o rápido manuseio e o transporte desse sêmen de um lote de machos para onde se encontram as fêmeas, permitiu flexibilidade para quem trabalha com inseminação artificial e propiciou o desenvolvimento de procedimentos eficientes para preservar o sêmen de aves em condições *in vitro* por algumas horas (Rutz et al., 2007). A inseminação artificial nessas condições é utilizada com sêmen fresco. Esta técnica é utilizada em criações de perus por dificuldades de acasalamento por monta natural e em capotes pela sazonalidade da monta natural. Espermatozoides de aves criopreservados produzem baixa fertilidade de ovos e seu uso ainda é experimental (Gill et al., 1999). A inseminação artificial é aplicada em aves e a coleta de sêmen e seu processamento, foram amplamente revisados por Sexton (1979), Lake (1986) e por Donoghue e Wishart (2000).

A conservação da variabilidade genética em espécies de animais domésticos é um desafio para a produção sustentável de recursos alimentares para os humanos, para o manejo animal e muito mais para a preservação da biodiversidade (Blesbois et al., 2007).

Metade das raças de aves domésticas está sendo considerada em risco de extinção (Dohner, 2001). Um total de 154 raças e linhagens de galinhas foram descritas

na França (Tixier-Boichard et al., 2001), representando uma grande diversidade de populações. Pequenas populações também estão expostas ao fracasso, mas estes recursos poderiam ser preservados através de programas de conservação (Pisenti et al., 1999; Alderson et al., 2003; Blackburn; 2004, Blackburn, 2006; Woelders et al., 2006).

Apesar da abundância de aves aquáticas em todo o mundo (154 espécies são atualmente reconhecidas (Ellis-Joseph et al, 1992), a sobrevivência de muitas espécies está ameaçada. De acordo com Ellis-Joseph et al., (1992), espécies de aves aquáticas ameaçadas de extinção incluem o ganso havaiano (*Branta sandvicensis*), pato havaiano (*Anas wyvlliana*), pato real da ilha Laysan (*Anas laysanensis*), ganso de pluma macia (*Anser albifrons gambelli*) e o cisne trompetista (*Olor bucinador*). Outras espécies, como o Pato do norte (*Anas acuta*) estão sujeitos a decréscimos de população não-cíclicos, indicativo de espécies ou populações que ainda não estão em perigo, mas podem tornar-se num futuro próximo (USA Fish and Wildlife Service, 1999). Enquanto as populações diminuem de tamanho (na natureza ou em cativeiro), a endogamia pode ocorrer que, por sua vez, pode reduzir a aptidão reprodutiva (Nei et al., 1975), incluindo a fecundidade e a sobrevivência (Ralls & Ballou, 1986). Quando a variação genética é mantida ou aumentada, o vigor da população e a capacidade de adaptação às mudanças ambientais são reforçadas. Desafios no manejo de aves aquáticas incluem a hibridação do cruzamento entre espécies (Ankney et al. 1986), que pode resultar em uma perda de singularidade das espécies, em especial adaptação, em características de aptidão, e em fracasso de reprodução no cativeiro devido a problemas comportamentais associados ao confinamento (Hediger, 1965). Uma solução para estes desafios de manejo é a utilização de técnicas de reprodução assistida, incluindo a preservação de espermatozoides juntamente com a inseminação artificial. Tais estratégias podem complementar os programas de reprodução em cativeiro, preservando genes valiosos de indivíduos para infundir as gerações futuras; reduzindo do risco de transmissão de doenças através do transporte de material genético, em vez de transporte de aves entre os bandos, e fornecendo uma reposição de material genético para as espécies ainda não ameaçadas mas que podem ser ameaçadas, eventualmente, por hibridização inesperada (com espécies comuns) ou por uma catástrofe natural. Embora existam informações disponíveis sobre a fisiologia básica do espermatozoide de aves zootecnicamente importantes, em especial galos (*Gallus gallus*) e perus (*Meleagris gallopavo*) (Bakst,

1990), existe uma escassez de informações sobre as aves não domésticas. Se a inseminação artificial é para ser uma ferramenta eficaz no manejo e conservação de espécies raras, as pesquisas em reprodução devem ser prioridade se concentrando na coleta adequada e consistente de sêmen e na adequação da sensibilidade espermática ao resfriamento e congelamento-descongelamento. Vários estudos têm abordado a questão das técnicas de desenvolvimento de criopreservação para aves domésticas (Polge, 1951) e cisnes domésticos (*Cygnus olor*) (Tai et al, 1983; Tselutin et al, 1995; Watanabe et al, 1981). Todavia, poucos estudos têm sido realizados sobre as espécies de aves não-domésticas (Sexton & Gee, 1978; Gee, 1983) e menos ainda para as aves aquáticas não-domésticas como o ganso do Alasca canadense (*Branta canadensis*), (Gee & Sexton, 1990).

A criopreservação representa um excelente suporte complementar de conservação e pode também ser usada em programas de seleção (Alderson et al., 2003; Danchin-Burge & Hiemstra, 2003). O único método corrente praticável no manejo de populações de aves é a criopreservação de sêmen, que tem sido principalmente estudado na espécie *Gallus gallus*. Alguns experimentos com sucesso têm sido executados em outras espécies de aves domésticas e silvestres, com grandes diferenças efetivas de acordo com a espécie e condições de criação (Massip et al., 2004; Blesbois et al., 2005).

Várias revisões foram feitas com espermatozoides de aves domésticas (Lake, 1986; Bellagamba et al., 1993; Hammerstedt, 1995; Surai & Wishart, 1996; Donoghe & Wishart, 2000; Blesbois & Labbé, 2003; Massip et al., 2004). Esses métodos foram primeiramente desenvolvidos em galos *Gallus gallus* e depois aplicados em espermatozoides de perus *Meleagris gallopavo*, patos *Cairina moschata*, gansos *Anser anser* e capotes *Numida meleagris*. Apesar do intenso investimento da comunidade científica em pesquisas de criopreservação de sêmen avícola, esses métodos têm sido pouco utilizados em produções avícolas. Uma das razões para isso é o fato de a inseminação artificial não ser amplamente usada em muitas espécies de aves domésticas. Embora a inseminação artificial com sêmen fresco seja usada amplamente em algumas espécies ou cruzamentos delas como perus, capotes e patos domésticos, esse método é pouco empregado em galos, patos de pekin *Anas platyhynchos*, gansos, codornas *Coturnix coturnix*, avestruzes *Struthio camelus* e emas *Rhea americana*. Além disso, o sucesso do procedimento de congelamento aplicável para galos é altamente

variável e depende das espécies e as linhagens específicas a serem criadas. Além do que os custos de vários estágios na preparação, estocagem e uso de ejaculados congelados em galos permanecem relativamente altos, comparados com o preço de mercado do pinto de um dia (Blesbois, 2007).

Brillard (2006) examinou a aplicação de técnicas ligadas à biotecnologia na reprodução de aves. Dentre as técnicas a serem consideradas estão àquelas envolvidas com o armazenamento de sêmen.

Independentemente de restrições, no entanto, a ratificação do acordo internacional sobre biodiversidade na conferência “Rio de Janeiro - 1992” provocou um novo interesse no desenvolvimento de métodos de conservação de sêmen de aves domésticas (Blesbois, 2007).

Em 2007, a Organização Mundial para Agricultura e Alimentação - FAO que age sob orientação de países membros, patrocinou a Conferência Técnica Internacional em Recursos Genéticos Animais. Desta conferência, 109 países adotaram o Plano Global de Ação (GPA) que detalha as providências para conservação de recursos genéticos animais pedindo o estabelecimento e o fortalecimento de programas de preservação por criopreservação de gametas para todas as espécies domésticas (FAO, 2007).

Desde que a técnica de inseminação artificial foi estabelecida por Quinn e Burrows, (1936), ela tem sido extensamente adotada para aves domésticas assim como em outras espécies de aves foram executados vários estudos. Parks et al., (1986) trabalharam na criopreservação de sêmen de falcão peregrino (*Falco peregrinus*); Entre 1989 e 1992, a inseminação artificial foi usada por St. Jalme et al., (1994) na reprodução em duas sub espécies de “Houbara bustard” (*Chlamydotis undulata macqueenii and Chlamydotis undulate undulata*) no National Wildlife Research Center, Taif, Arábia Saudita; Jamieson et al., (1995) analisou a ultraestrutura de espermatozoides de três espécies de aves psitacíformes; O’Brien et al., (1999) coletaram sêmen de pinguim de Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) caracterizaram e criopreservaram os espermatozoides; Blanco et al., (2000) compararam a variação osmótica, crioprotetores e taxas de tolerância ao resfriamento de sêmen de galos (*Gallus domesticus*), perus (*Meleagris gallopavo*), águia dourada (*Aquila chrysaetos*), águia de Bonelli (*Hieraaetus fasciatus*), águia imperial (*Áquila adalberti*) e falcão peregrino

(*Falco peregrinus*); (Cheng et al., (2002) promoveram o cruzamento por inseminação artificial do pato (*Anas platyrhynchos*) com o pato (*Cairina moschata*); Sontakke et al., (2004) estudaram as características, o sucesso com a criopreservação e a inseminação do sêmen de pombos (*Columbia Livia*); Cavalcante (2006) verificou os índices reprodutivos entre perdizes (*Rhynchotus rufescens*) acasaladas e inseminadas artificialmente; Zhang (2006) caracterizou e estocou sêmen de “Cabot tragopan” (*Tragopan caboti*), faisão do sudeste da China ameaçado de extinção; Góes, (2008) pesquisou antioxidantes enzimáticos em sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*); Liu et al., (2008) estudaram a habilidade fertilizadora do sêmen de gansos; Madeddu et al., (2009) estudaram ejaculados de “Griffon vultures”, (*Gyps fulvus*), abutres do nordeste da ilha de Sardenha no mar Mediterrâneo, coletados, criopreservados e analisados após descongelamento; Gerzilov (2010) pesquisou a influência de vários crioprotetores na motilidade do sêmen de patos domésticos (*Cairina moschata*); Madeddu et al., (2010) compararam a viabilidade, conteúdo de ATP e a integridade do DNA de sêmen de galos (*Gallus gallus domesticus*) e perdiz da Barbária (*Alectoris Barbara*); Lukaszewicz et al., (2010) obtiveram sucesso na coleta e análise de sêmen de “Capercaillie” (*Tetrao urogallus*), ave Galliforme da família Tetraonidae e; em décadas posteriores aos relatos de Quinn e Burrows, (1936) também tem sido aplicada inseminação artificial em aves domésticas e não domésticas dos grupos *Struthioniformes*, *Sphenisciformes*, *Cassuariformes*, *Anseriformes*, *Falconiformes*, *Galliformes*, *Gruiformes*, *Columbiformes*, *Psittaciformes*, e *Passeriformes* (Gee & Temple, 1978; O’Brien et al., 1999; Rozenboim et al., 2003; St. Jalme et al., 2003, Stelzer et al., 2005).

É extensiva a lista de diluidores, conservantes, crioprotetores e de protocolos diferentes usados para melhorar o desempenho do sêmen de diversas espécies de aves, tentando otimizar a produção de proteína animal para o consumo humano e também otimizar a preservação da diversidade de espécies ainda existentes. Dentre esses diluidores soma-se a água de coco que transformada em material pulverizado (água de coco em pó - ACP®), mantida as propriedades fundamentais do líquido *in natura* com estabilidade e longevidade, que pode ser empregada em processos biotecnológicos, substituindo produtos importados, quimicamente constituídos e com preços elevados (Moreira-Neto et al., 2009).

Por ser uma solução natural estéril, ligeiramente ácida, composta de

proteínas, sais, açúcares, vitaminas, gorduras neutras, além de indutores da divisão celular e eletrólitos diversos, que lhe conferem densidade e pH compatíveis com o plasma sanguíneo, a água de coco fornece os nutrientes necessários para manter a sobrevivência e a viabilidade dos gametas masculinos e femininos criopreservados.

Foi isolada da água de coco uma molécula pertencente ao grupo das auxinas, o ácido-3-indol-acético, o qual confere aos espermatozoides um incremento na motilidade e porcentagem de espermatozoides vivos, aumentando a taxa de fertilidade (Salgueiro et al., 2004).

Protocolos com ACP<sup>®</sup> vêm sendo utilizados na tentativa de preservar sêmen canino (Montezuma Jr. et al., 1994; Uchoa et al., 2002; Uchoa, 2004; Salgueiro, 2004; Cardoso et al., 2003; Cardoso et al., 2006), sêmen suíno (Kotzias-Bandeira et al., 1999; Toniolli, 1989b; Toniolli & Mesquita, 1990; Salgueiro 2004), sêmen de peixes (Farias et al., 1999; Salgueiro, 2004), sêmen caprino (Freitas, 1988; Toniolli, 1989a; Salles, 1989; Araújo, 1990; Rodrigues et al., 1994; Salgueiro, 2004), sêmen ovino (Freitas, 1992; Cruz, 1994; Sousa et al., 1994; Salgueiro, 2004), também sêmen humano (Salgueiro, 2004) e sêmen eqüino (Sobreira Neto, 2008).

## **CONCLUSÃO**

Para a conservação da biodiversidade das aves com gestão racional da biotecnologia, os desafios, para todos que pesquisam, são imensos diante da existência das inúmeras espécies de aves, das diferenças anatômicas entre os órgãos copuladores, da variabilidade dos espermatozoides, como também da falta de publicações sobre o assunto. A indústria avícola, a natureza e as aves clamam por pesquisas. Só resta enfrentar esses desafios.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALDERSON, L.; ARAV, A.; CARDELLINO, R.; DANCHIN-BURGE, C.; GAJDA, B.; GANDINI, G.; GROENEVELD, E.; GRIGALIUNAITE, I.; HIEMSTRA, S. J.; MAKI-TANILA, A.; MARTIN, A.; MICEIKIENE, I.; PA'SZTOR, F.M.; PIZZI, D.; PLANCHENault, R.; RUIZ DE VILLALOBOS ZABALA, T.; A. SCHMIDT, S.;

TOWNSEND, M.; TVEDT, J.; WINDIG, AND H. WOELDERS. Guidelines for the Constitution of National Cryopreservation Programmes for Farm Animals. 1<sup>st</sup> input TS, 2<sup>nd</sup> SH, 3<sup>rd</sup> CDB, 4<sup>th</sup> TS, 5<sup>th</sup> SH, 6<sup>th</sup> Lelystad meeting. Hiemstra S.T., Lelystad, the Netherlands. 2003.

ANKNEY, C. D.; DENNIS, D. G.; WISHARD, L. N.; SEEB, J. E. Low genetic variation between black ducks and mallards *Auk* 103 p. 701–709, 1986.

ARAÚJO, A. A. Utilização da água de coco “in natura” com adição de gema de ovo como diluidor do sêmen caprino. Fortaleza, 1990. Dissertação (Mestrado em Produção e Reprodução de Pequenos Ruminantes da Universidade Estadual do Ceará – UECE), 1990.

BAKST, M. R. Preservation of avian cells. In *Poultry Breeding and Genetics*. p. 91–108 Ed. RD Crawford. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 1990.

BELLAGAMBA, F.; CEROLINI, S.; CAVALCHINI, L. G. Cryopresevation of poultry semen: a review. *World’s Poultry Science Journal* 49: 157-166, 1993.

BLACKBURN, H. D. Development of national animal genetic resource programs. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:27–32, 2004.

BLACKBURN, H. D. The national animal germplasm program: Challenges and opportunities for poultry genetic resources. *Poultry. Science.* 85:210–215, 2006.

BLANCO, J. M.; GEE, G.; WILDT, D. E.; DONOGHUE, A. M. Species Variation in Osmotic, Cryoprotectant, and Cooling Rate Tolerance in Poultry, Eagle, and Peregrine Falcon Spermatozoa. *Biology of Reproduction.* 63: 1164-1171, 2000.

BLESBOIS, E.; LABBÉ, C. Main improvements in semen and embryo cryopreservation for fish an fowl. In.: *Cryopreservation of animal genetic resources in Europe*, Ed D. Planchenault, SIA 23 Fervier 2003, BRG Paris. p. 55-66, 2003.

BLESBOIS, E.; I. GRASSEAU, I.; SEIGNEURIN, F. Membrane fluidity and the ability to survive cryopreservation in domestic bird spermatozoa. *Reproduction* 129:371–378, 2005.



BLESBOIS, E. Current status in avian semen cryopreservation. *World's Poultry Science Journal*, v. 63 p. 213-222, 2007.

BLESBOIS, E.; SEIGNEURIN, F.; GRASSEAU, I.; LIMOUSIN, C.; BESNARD, J.; GOURICHON, D.; COQUERELLE, G.; RAULT, P.; TIXER-BOIXARD, M. Semen cryopreservation for ex situ management of genetic diversity in chicken: creation of the French Avian Cryobank. *Poultry Science* 86: 555-564, 2007.

BRILLARD J. P. Biotechnologies of reproduction in poultry: dreams and reality. *In: World Poultry Science Association Scientific Day, 2006, Pretoria, South Africa. Proceedings ... Pretoria: WPSA, 2006.*

BURROWS, W. H.; QUINN, J. P. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*. 26:19–24, 1937.

CARDOSO, R. C. S.; SILVA, A. R.; UCHOA, D. C.; SILVA, L. D. M. Cryopreservation of canine semen using a coconut water extender with egg yolk and three different glycerol concentrations. *Theriogenology*, Stoneham, v. 59, n. 3-4, p. 743-751, 2003.

CARDOSO, R. C. S.; SILVA, A. R.; SILVA, L. D. M. Comparison of two dilution rates on canine semen quality after cryopreservation in a coconut water extender. *Animal Reproduction Science*, v. 92, p. 384-391, 2006.

CAVALCANTE, A. K. S. Parâmetros reprodutivos de perdizes machos (*Rhynchotus rufescens*) criados em cativeiro: comparação entre os índices reprodutivos de animais acasalados e inseminados. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2006. 98 f, 2006.

CHENG, Y. S.; ROUVIER, R.; POIVEY, J. P.; TAI, J. J. L.; TAI, C.; HUANG, S. C. Selection responses for the number of fertile eggs of the Brown Tsaiya duck (*Anas platyrhynchos*) after a single artificial insemination with pooled Muscovy (*Cairina moschata*) semen. *Genet. Sel. Evol.* v. 34: p. 597-611, 2002.

CRUZ, J. F. Conservação e fertilidade do sêmen ovino mantido à temperatura de +4 °C

por um período de 48 horas diluído em frações ativas da água de coco. Fortaleza, 1994. Tese (Mestrado em Produção e Reprodução de Pequenos Ruminantes da Universidade Estadual do Ceará – UECE), 1994.

DANCHIN-BURGE, C.; HIEMSTRA, S. J. Cryopreservation of domestic animal species in France and Netherlands: Experience, similarities and differences. Pages 15–28 in Workshop on Cryopreservation of Animal Genetic Resources in Europe. D. Planchenault, ed. Online. <http://www.brg.prd.fr/brg/textePdfs/SiaColloqueDocument.pdf>. 2003.

DOHNER, J. V. The encyclopaedia of historic and endangered livestock and poultry breeds. Yale Univ. Press, New Haven, CT. 2001.

DONOGHUE, A. M.; WISHART, G. J. Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science* v. 62: p. 213–232, 2000.

ELLIS-JOSEPH, S.; HEWSTON, N.; GREEN, A. In: Global Waterfowl Conservation Assessment Management Plan p 2. Captive Breeding Specialist Group, Apple Valley, MN. 1992.

FAO. Global Plan of Action for Animal Genetic Resources and the Interlaken Declaration. Adopted by the International Technical Conference on Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO, Rome, Italy. 2007.

FARIAS, J. O.; NUNES, J. F.; CARVALHO, M. A. M. Avaliação “in vitro” e “in vivo” do sêmen de Tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER) conservado à temperatura ambiente e criopreservado em água de coco. *Revista Científica de Produção Animal*, v.1, p.44-58, 1999.

FREITAS, J. V. F. Sincronização do ciclo estral e fertilidade de cabras submetidas a dois níveis de gonadotrofina coriônica (eCG) inseminadas artificialmente. Fortaleza, 1988. Monografia (Especialização em Produção e Reprodução de Pequenos Ruminantes da Universidade Estadual do Ceará – UECE), 1988.

FREITAS, J. V. F. Parâmetros andrológicos e avaliação “in vitro” do sêmen de ovinos deslanados criados na região litorânea do Nordeste brasileiro em estação seca e

chuvosa. Fortaleza, 1992. Tese (Mestrado em Produção e Reprodução de Pequenos Ruminantes da Universidade Estadual do Ceará – UECE), 1992.

GEE, F.; TEMPLE, S.. Artificial insemination for breeding non-domestic birds. Symp. Zool. Soc. Lond. v.43: p. 51–72, 1978.

GEE, G. Avian artificial insemination and semen preservation. In IFCB Symposium on Breeding Birds in Captivity pp 375–398 Eds AC. Risser, Jr and F.S. Todd. International Foundation for the Conservation of Birds, North Hollywood, C.A. 1983.

GEE G.; SEXTON T. J. Cryogenic preservation of semen from the Aleutian Canada Goose (*Branta canadensis leucopareia*) Zoo Biology 9 361–371, 1990.

GERZILOV, V. Influence of various cryoprotectants on the sperm mobility of Muscovy semen before and after cryopreservation. Agricultural Science and Technology. v. 2 n. 2 p. 57-60, 2010.

GILL, S. P.; HAMMERSTEDT, R. H.; AMANN, R. P. Poultry artificial insemination: Procedures, current status and future needs. In: Proc. Annu. Mtg. Soc. Theriogenology, Nashville, TN. pp. 353–362, 1999.

GÓES, P. A. A. Dosagem dos níveis de anti-oxidantes enzimáticos e resistência celular ao estresse oxidativo, do sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro e suplementadas com selênio. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2008. 114 f. 2008.

HAMMERSTEDT, R. H.. Cryopreservation of poultry semen – current status and economics. In: Proceedings First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry, Poultry Science Association, Savoy Illinois US, Ed Bakst, M. R. and Wishart, G. J. 229-250, 1995.

HEDIGER, H. Environmental factors influencing the reproduction of zoo animals. In Sex and Behavior pp 319–354 Ed. FA Beach. John Wiley and Sons, New York. 1965.

JAMIESON, B. G. M.; KOEHLER, L.; TODD, B. J. Spermatozoal ultrastructure in

three species of parrots (Aves, psittaciformes) and its phylogenetic implication v. 241, n. 4, p. 461–468, 1995.

KOTZIAS-BANDEIRA, E.; WABERSKI, D.; WEITZE, K. F.; BARRETO, M. B. P. Pré-diluição e congelação de sêmen suíno em água de coco *in natura*, após três diferentes pré-tratamentos de incubação. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v.36, n.3, p.149-152, 1999.

LAKE, P. E. The history and future of the cryopreservation of avian germ plasm. Poultry Sci. 65:1–15, 1986.

LIU, S. J.; ZHENG, J. X.; YANG, N. Semen Quality Factor as an Indicator of Fertilizing Ability for Geese. Poultry Science. 87: 155-159, 2008.

LUKASZEWICZ, E.; KOWALCZYK, A.; RZONCA, Z. Successful semen collection from Capercaillie (*Tetrao urogallus* L.) kept in an aviary system. Ornis Fennica 87: 1-6, 2010.

MADEDDU, M.; BERLINGUER, F.; LEDDA, M.; LEONI, G. G.; SATTÀ, V.; SUCCU, S.; ROTTA, A.; PASCIO, V.; ZINELLU, A.; MUZZEDDU, M.; CARRU, C.; NAITANA, S. 2009. Ejaculate collection efficiency and post-thaw semen quality in wild-caught Griffon vultures from the Sardinian population. Reproductive Biology and Endocrinology. Disponível em <<http://www.rbej.com/content/7/1/18> > Acesso em 27 Abr. 2011.

MADEDDU, M.; BERLINGUER, F.; PASCIO, V.; SUCCU, S.; SATTÀ, V.; LEONI, G. G.; ZINELLU, A.; MUZZEDDU, M.; CARRU, C.; NAITANA, S. Differences in semen freezability and intracellular ATP content between the rooster (*Gallus gallus domesticus*) and the Barbary partridge (*Alectoris barbara*). Theriogenology. 74: 1010-1018, 2010.

MASSIP, A.; LEIBO, S. P.; BLESBOIS, E. Cryobiology and the breeding of domestic animals. Pages 371–392 in Life in the Frozen State. E. Benson, B. Fuller, and N. Lane, ed. Taylor and Francis Group, London, UK. 2004.

MONTEZUMA Jr., P. A.; VIANA NETO, R.; NUNES, J. F. Utilização da água de coco

“in natura”, com adição de gema de ovo, como diluente de congelação do sêmen canino, em paillets de 0,5ml. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. *Anais...* Olinda, p.535, 1994.

MOREIRA-NETO, J. J. S.; GONDIM, J. O.; RADDI, M. S. G.; PANSANI, C. A. Viability of human fibroblasts in coconut water as a storage medium. *International Endodontic Journal*, v. 42, n. 9, p. 827-830, 2009.

NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations *Evolution* 29 1–10, 1975.

O'BRIEN, J. K.; OEHLER, D. A.; MALOWSKI, S. P.; ROTH, T. L. Semen Collection, Characterization, and Cryopreservation in a Magellanic Penguin (*Spheniscus magellanicus*). *Zoo Biology*. 18: 199-214, 1999.

PARKS, J. E.; WILLARD R.; HARDASWICK, V. Cryopreservation of peregrine falcon semen and post-thaw dialysis to remove glycerol. *Raptor Research* v. 20 n. 1 p. 15-20, 1986.

PISENTI, J. M.; DELANY, M. E.; TAYLOR, R. L.; ABBOTT, U. K.; ABPLANALP, H.; ARTHUR, J. A.; BAKST, M. R.; BAXTER-JONES, C.; BITGOOF, J. J.; BRADLEY, F. A.; CHENG, K. M.; DIETERT, R. R.; DODGSON, J. B.; DONOGHE, A. M.; EMSLEY, A. B.; ETCHES, R. J.; FRAHM, R. R.; GERRITZ, R. J.; GOETINCK, P. F.; GRUNDER, A. A.; HARRY, D. E.; LAMONT, S. J.; MARTIN, G. R.; MCGUIRE, P. E.; MOBERG, G. P.; PIERRO, L. L.; QUALSET, C. O.; QURESHU, M. A.; SHULTZ, F. T.; WILSON. B. W; Avian genetic resources at risk: An assessment and proposal for conservation of genetic stocks in the USA and Canada. Report no. 20. Univ. California Div. Agric. Nat. Res., Genet. Resources Conserv. Program, Davis, CA. 1999.

POLGE C. Functional survival of fowl spermatozoa after freezing at  $-79^{\circ}\text{C}$  *Nature* 331 70–72, 1951.

QUINN, J.; BURROWS, H.. Artificial insemination of fowls. *Journal. Hered.* 27: p. 31–37, 1936.

RALLS, K.; BALLOU, J. D. Preface to the proceedings of the workshop on genetic management of captive populations *Zoo Biology* 5 81–86, 1986.

RODRIGUES, A. P. R., TORRES, M. Z. G., OLIVEIRA, L. F., et al. Água de coco sob a forma estabilizada de gel e sua fração ativa adicionada ou não de gema de ovo como diluidores do sêmen caprino. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Anais...** Olinda, p. 540, 1994.

ROZENBOIM, I.; NAVOT, A. N.; SNAPIR, A.; ROSENSTRAUCH, M.; HALAWANI, G.; GVARYAHU; DEGEN, A. Method for collecting semen from the ostrich (*Struthio camelus*) and some of its quantitative and qualitative characteristics. *British Poultry Science*. 44: 607–611, 2003.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; XAVIER, E. G.; ROLL, V. F. B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 307-317, 2007.

SALGUEIRO, C. C. M.; GONDIM, J. M.; NUNES, J. F. Conservação de sêmen em água de coco em pó. *Pesquisas Funcap*. Ano 6. n. 1 p.17-20, 2004.

SALLES, M. G. F. Água de coco (*Cocos nucifera* L.) “*in natura*” e sob a forma de gel e estabilizada como diluidor de sêmen caprino. Porto Alegre, 1989. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRS), 1989.

SAINT JALME, M.; GAUCHER, P.; PAILLAT, P. Artificial insemination in houbara bustards (*Chlamydotis undulata*) influence of the number of spermatozoa and insemination frequency on fertility and ability to hatch. *Journal reprod fertil* 100:93-103, 1994.

SANIT JALME, M.; LECOQ, R.; SEIGNEURIN, F.; BLESBOIS, E.; PLOUZEAU, E. Cryopreservation the semen from endangered pheasants: The first step towards a cryobank for endangered avian species. *Theriogenology*. 94: 89–99, 2003.

SEXTON, T. J.; GEE, G. A comparative study on the cryogenic preservation of semen from the sandhill crane and the domestic fowl Symposium of the Zoological Society of

London 43 89–95, 1978.

SEXTON, T. J. Preservation of poultry semen—a review. In: H. W. Hawk (ed.) *Animal Reproduction*. Beltsville Symposia in Agricultural Research, No. 3. pp 159–170. Allanheld, Osmun & Co., Montclair, NJ. 1979.

SOBREIRA NETO, J. A. Avaliação *in vitro* do sêmen eqüino diluído em água de coco em pó (ACP - 105) e resfriado a 5 °C. Brasília, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília UNB), 2008.

SONTAKKE, S. D.; UMAPATHY, G.; SIVARAM, V.; KHOLKUTE, S. D.; SHIVAJI, S. Semen characteristics, cryopreservation, and successful artificial insemination in the Blue rock pigeon (*Columba livia*). *Theriogenology*. 62: 139-153, 2004.

SOUSA, N. M.; TEIXEIRA, M. D. A.; OLIVEIRA, L. F. Água de coco sob a forma de fração ativa liofilizada adicionada ou não de gema de ovo e gel, como diluidor do sêmen ovino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., Anais... Olinda, p.583, 1994.

STELZER, G.; CROSTA, L.M.; BUERKLE; M. E. KRAUTWALD. Attempted semen collection using the massage technique and semen analysis in various psittacine species. *J. Avian Med. Surgery*. v. 19: p.7–13, 2005.

SURAI, P.; WISHART, G. J. Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. *World's Poultry Science Journal* 52: 27-43, 1996.

TAI, J. J.; SU, Y. M.; HUANG, H. H.; TERADA, T.; WATANABE, M. Studies on the cryopreservation of drake semen. New strategies for improving animal production for human welfare Proceedings of the 5th World Conference on Animal Production pp 183–184, 1983.

TIXIER-BOICHARD, M.; COQUERELLE, G.; DURAND-TARDIF, M.; PLANCHENAULT, D.; JAMILLOUX, V.; BLESBOIS, E.; BOULAY, M.; CHAPUIS, H.; REFFAY, M. Biodiversity of domestic birds. *British Poultry Science*. v. 42: p. 29–31, 2001.

TONIOLLI, R. Estudos das características “*in vitro*” do sêmen caprino de raças nativas do Nordeste brasileiro diluído em água de coco sob a forma “*in natura*”, estabilizada e de gel. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* v. 13, p. 209-220, 1989a.

TONIOLLI, R. Conservação do sêmen suíno em água de coco. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. *Anais...* Belo Horizonte, p.138-142, 1989b.

TONIOLLI, R.; MESQUITA, D. S. M. Fertility of sows inseminated with diluted semen in coconut water or B.T.S. extender. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 14, p. 249–254, 1990.

TSELUTIN, K.; NARUBINA, L.; MAVRODINA, T.; TUR, B. Cryopreservation of poultry semen *British Poultry Science* 36 805–811, 1995.

UCHOA, D. C.; SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S.; PEREIRA, B. S.; SILVA, L. D. M. Conservação do sêmen canino a 37 °C em diluentes à base de água de coco. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, n.1, p.91-95, 2002.

UCHÔA, D. C. Inseminação artificial em cadelas com sêmen a fresco com diluentes à base de água de coco. Fortaleza, 2004. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará – UECE), 2004.

US FISH AND WILDLIFE SERVICE. Status of Ducks Office of Migratory Birds Annual Report. 1999.

WATANABE, M.; MATSUMOTO, Y.; TAKESHITA, N.; TERADA T. Fertility of Muscovy semen frozen for about three years *Journal of the Faculty of Applied Biological Science* 20 81–85, 1981.

WOELDERS, H.; ZUIDBERG, A.; HIEMSTRA, S. J. Animal genetic resources conservation in the Netherlands and Europe: Poultry perspective. *Poultry Science*. 85:216–222, 2006.

ZHANG, Y. Y. Semen characterization and sperm storage in Cabot’s Tragopan. *Poultry Science*. 85: 892-898, 2006.