

Comparação de Diluentes, Diluições e Tempo de Armazenamento do Sêmen sobre Fertilidade, Eclodibilidade e Nascimento de Pintos em Matrizes Pesadas

Elsio Antonio Pereira de Figueiredo^{1, 3}, Francisco Militão de Sousa², Antonio Lourenço Guidoni¹, Paulo Sérgio Rosa¹

RESUMO - O objetivo deste trabalho foi identificar o melhor diluente, a diluição e o tempo de armazenamento para sêmen de galo. Um total de 60 galos e 630 galinhas com 55 semanas de idade foi artificialmente inseminado, uma vez por semana, por seis semanas consecutivas, utilizando-se 0,05 mL de sêmen/galinha. Os tratamentos foram: T1 = sêmen diluído com diluente comercial-DC; T2 = sêmen diluído com diluente Beltsville Poultry Sêmen Extender-BPSE; T3 = sêmen diluído com solução de Lake-LAKE; e T4 = sêmen fresco puro (Testemunha). Os níveis de diluição (D) foram D=0 (não-diluído), D=2 (1 parte de sêmen: 2 partes de diluente) e D = 4 (1 parte de sêmen: 4 partes de diluente). O tempo de repouso (H) do sêmen foi H = 0, sem repouso, H = 1, IA 1 hora após a coleta e H=24, IA 24 horas após a coleta (conservado em refrigerador entre 2 e 5°C). Os ovos foram avaliados por ovoscopia e ao nascer com quebra de ovos não-eclodidos. O sêmen puro, não-diluído e sem repouso, produziu os melhores resultados para fertilidade e nascimento, 87,2 e 79,5%, respectivamente. As médias de fertilidade e nascimento de pintos para sêmen diluído na proporção 1:2, com 2 horas de repouso, foram 84,8 e 76,3; 81,7 e 73,6; e 76,0 e 65,9%, respectivamente, para os diluentes LAKE, DC e BPSE. Quando se usou sêmen diluído, a diluição 1:2 produziu melhor resultado que 1:4. O período de repouso do sêmen, após a diluição, deve ser o menor possível. O diluente de Lake apresentou os melhores resultados entre os diluentes, equiparando-se ao uso de sêmen puro não-diluído e inseminado logo após a coleta.

Palavras-chave: aves de corte, galinhas, galos, inseminação artificial, reprodução, sêmen

Comparison of Diluents, Dilutions and Storage Time of Heavy Broiler Breeder Semen on Fertility, Hatchability and Chick Production

ABSTRACT- The objective of this work was to identify the best semen extender, the dilution rate and the storage time for rooster semen. A total of 60 roosters and 630 hens with 55 weeks of age were artificially inseminated, once a week, by six consecutive weeks, using .05 mL of semen/hen. The treatments were: T1=semen diluted with commercial extender-DC; T2 =semen diluted with Beltsville Poultry Semen Extender-BPSE; T3=semen diluted with Lake solution-LAKE and T4=pure fresh semen (Control). The dilution levels (D) were D=0 (undiluted), D=2 (1 part of semen: 2 parts of extender) and D=4 (1 part of semen: 4 parts of extender). Storage time (H) was H=0, no rest, H=1, IA 1 hour after collection and H=24, IA 24 hours after collection (preserved in refrigerator between 2 and 5°C). The eggs were evaluated by candling and at birth including the egg breaking for the no hatchable eggs. The fresh undiluted semen without storage produced the best averages for fertility (87.2) and birth (79.5%). The averages fertility and birth of the chicks for the semen diluted in the proportion of 1:2 with 24 hours of storage time were 84.8 and 76.3; 81.7 and 73.6 and 76.0 and 65.9, respectively for the extenders LAKE, DC and BPSE. When diluted semen was used, the dilution 1:2 produced better results than 1:4. The rest time for the semen, after dilution should be the minimum as possible. The Lake solution presented the best results among the extenders being equivalent to the use of fresh undiluted semen and inseminated just after the collection.

Key Words: meat poultry, hen, rooster, artificial insemination, reproduction, semen

Introdução

A seleção para rápido crescimento juvenil em linhas de frangos de corte tem conduzido ao desenvolvimento de galos excessivamente pesados, o que tem criado dificuldades para fertilização das galinhas via acasalamento natural, especialmente durante a segunda metade do período reprodutivo (Van WAMBEKE, 1984). No caso da produção industrial de perus, esse

desajuste tem sido contornado pelo uso exclusivo da inseminação artificial. No caso da produção industrial de frangos de corte, em larga escala, faz-se necessário estender ao máximo o poder de fertilização de cada galo. SEXTON (1977) concluiu ser viável a fertilização de, aproximadamente, 138 galinhas por ejaculado, o que sem dúvida produz grande economia do ponto de vista de custo de galo. Logicamente que existe maior demanda de mão-de-obra, quando se utiliza deste artifício.

¹Pesquisador da Embrapa/CNPQA, Caixa Postal, 21 - 89700-000 - Concórdia, SC.

²Professor da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE.

³Bolsista do CNPq.

Van WAMBEKE (1967) foi o primeiro a demonstrar que o sêmen de galos diluído poderia ser armazenado *in vitro* por até 24 horas a 0°C, sem perdas críticas de fertilidade, porém, anos antes, alguns autores já haviam demonstrado que o pH (BOGDONOFF e SHAFFNER, 1954; HOBBS e HARRIS, 1963) e a osmolaridade (HOBBS e HARRIS, 1963) influenciavam a fertilidade. Esses autores concluíram que o espermatozóide de galos retinha sua capacidade total de fertilização em meios que variavam amplamente em pH e osmolaridade.

WILCOX (1960) demonstrou que a adição de frutose (2,4 mg/mg) ao diluente, antes do armazenamento a 10°C ou da inseminação, resultou em níveis de fertilidade mais altos que o controle. Esse autor também relatou que a adição de 10% de albúmem de ovo ao tampão fosfatado preservava a habilidade fertilizante do sêmen diluído e armazenado a 10°C. No trabalho de SEXTON e FEWLASS (1978), os constituintes do BPSE que mais contribuíram para a preservação do sêmen foram glutamato de sódio e fosfato de potássio. O alto nível de potássio no BPSE também foi crítico para a sobrevivência dos espermatozóides durante o armazenamento em baixas temperaturas. Embora a frutose não tenha sido fator importante durante o armazenamento, as tentativas de substituí-la por outro hidrato de carbono resultou em redução de fertilidade. A adição de sulfato de gentamicina (100 a 200 mg/mL) ou leite pasteurizado (10% v/v) ao BPSE não alterou a capacidade fertilizante do sêmen armazenado por 24 horas, ao passo que níveis semelhantes de ovo integral, gema de ovo, albúmem de ovo ou plasma seminal apresentaram efeito depressivo na fertilidade. O nível mais alto de fertilidade foi obtido para BPSE com 4 horas de armazenamento (90%), contra 87% para armazenamento por zero hora e 62% para armazenamento por 24 horas (SEXTON e FEWLASS 1978).

Apesar de a inseminação artificial (IA) ser amplamente utilizada em espécies avícolas como perus, marrecos e galinha d'Angola, nas galinhas de corte seu uso tem sido limitado. É necessário aperfeiçoar a técnica, melhorando o rendimento do sêmen e da mão-de-obra e as taxas de fertilidade, especialmente no terço final do ciclo de produção.

Os estudos sobre inseminação artificial de matrizes de corte avançam na linha de identificar um bom diluidor e o tempo ideal de armazenagem do sêmen diluído antes da inseminação, uma vez que já se conhecem o volume de sêmen necessário para cada dose, a quantidade ideal de espermatozóides por dose e o intervalo de cada inseminação

(SEXTON, 1977). O sêmen pode ser multiplicado tanto por meio da diluição, como da redução do número de espermatozóides por dose. Diluições de até 1:10 sêmen:diluente foram testadas satisfatoriamente em galinhas, porém necessitando, nesse caso, de grande volume de sêmen (0,1 a 0,4 mL). Por outro lado, o número mínimo de espermatozóides por dose de sêmen diluído, para garantir altos níveis de fertilidade, em inseminações semanais, tem sido reportado na amplitude de 25 a 170 milhões de células, porém nunca em taxas de diluição superiores a 1:1. SEXTON (1977) verificou que 20 milhões de espermatozóides foram suficientes para se obterem altos níveis de fertilidade, quando a temperatura de armazenagem era 5°C, e 50 milhões de espermatozóides, para temperatura de 25°C, e que uma taxa de diluição de 1:4, com dose de 20 milhões de espermatozóides, foi a extensão máxima possível para o sêmen diluído com BPSE. Naquele caso, como os galos produziram, em média, 0,39 mL de sêmen com $2,76 \times 10^9$ espermatozóides por mL, esse autor concluiu ser possível inseminar cerca de 138 galinhas por ejaculado, produzindo grande economia. HUGHES (1978) testou o efeito da inseminação artificial em matrizes de corte, utilizando 0,05 mL de sêmen a cada sete dias contra 0,05 mL de sêmen a cada seis dias e 0,07 e 0,09 mL de sêmen a cada sete dias, concluindo que a fertilidade e a eclodibilidade, sob inseminação artificial a cada sete dias com 0,05 mL de sêmen, embora menores do que com acasalamento natural, foram superiores às demais.

Entre os diluentes mais estudados estão o Belstville Poultry Sêmen Extender-BPSE (SEXTON, 1988), a solução de Lake (LAKE e RAVIE, 1982) e o instrumento médico veterinário (IMV), que é um diluente comercial.

AUSTIN e NATARAJAN (1991) constataram que, para sêmen diluído com Tris ou com Citrato de sódio, nas taxas de diluição 1:1, 1:3 e 1:5, a motilidade do sêmen armazenado a 5°C por zero e 24 horas foi maior no pH 6,75 que no pH 7,4 e decresceu com o aumento da diluição.

Este trabalho teve como objetivo identificar os melhores diluentes, a taxa de diluição e o período de repouso antes da inseminação, para sêmen de galo, avaliando-se a fertilidade (FERT), eclodibilidade (ECLO) e o nascimento de pintos (NASC) de ovos fertilizados por inseminação artificial (IA) com sêmen fresco, puro e diluído, no final do ciclo reprodutivo, em matrizes de corte.

Material e Métodos

Foram utilizados 60 galos uniformes em peso e treinados, com genótipo e idade iguais, previamente selecionados pela quantidade e aparência do sêmen, e 630 galinhas uniformes em peso e treinadas, também com genótipo e idade iguais, ambos mantidos em gaiolas individuais. As aves foram treinadas antes do experimento, pois sempre produziram ovos fertilizados por inseminação desde o início da produção (24 semanas de idade). Houve três semanas de intervalo nas inseminações antes do início do experimento, o qual teve início quando estas apresentavam 55 semanas de idade. As inseminações continuaram semanalmente com 0,05 mL de sêmen/galinha (HUGHES, 1978). As galinhas foram divididas em 42 parcelas de 15 aves cada e a cada três parcelas foi aplicada uma das 14 combinações de tratamentos, em delineamento inteiramente ao acaso com estrutura fatorial (três diluentes x duas diluições x dois intervalos de repouso) e mais o tratamento testemunha, aplicado nos intervalos de repouso zero (0) e uma (1) hora. As avaliações foram efetuadas na 55^a, 56^a, 57^a, 58^a, 59^a, 60^a e 61^a semana de idade, utilizando-se os ovos incubáveis (cerca de 60 por parcela de 15 galinhas), que foram coletados de segunda-feira até domingo, e armazenados em câmara fria (15°C) até o dia da incubação (segunda-feira à noite).

Os tratamentos foram: T1 = sêmen diluído com diluente comercial-DC; T2 = sêmen diluído com diluente Beltsville Poultry Sêmen Extender-BPSE; (SEXTON, 1977); T3 = sêmen diluído com solução de Lake-LAKE (LAKE e RAVIE, 1982); e T4 = sêmen fresco puro (Testemunha). Os níveis de diluição (D) foram D = 0 (não-diluído), D = 2 (1 parte de sêmen: 2 partes de diluente) e D = 4 (1 parte de sêmen: 4 partes de diluente). O tempo de repouso (H) do sêmen foi H = 0, sem repouso, H = 1, IA 1 hora após a coleta e H = 24, IA 24 horas após a coleta (conservado em refrigerador entre 2 e 5°C).

O procedimento para diluição e inseminação seguiu o seguinte protocolo: nas segundas feiras às 14 h, no aviário, o sêmen de vários galos (cerca de 30 galos) era coletado num único tubo de ensaio e levado ao laboratório para se procederem às diluições. No laboratório homogeneizava-se o sêmen e retiravam-se alíquotas deste pool de sêmen para preparação de dois tubos de ensaio para cada diluente, sendo um para inseminação logo após (H=1) e o outro para repousar em refrigerador até as 14 h de terça-feira, quando era levado para o aviário e, então, efetuada a

inseminação (H=24). Nessa ocasião era coletado novo pool de sêmen de outros galos para inseminação de três parcelas com sêmen fresco puro (H=0).

A pressão osmótica da solução de Lake era de 385 mosmol/kg H₂O e o pH, 7,0, ao passo que a pressão osmótica do BPSE era de 355 mosmol/kg H₂O e o pH, 7,5.

As características avaliadas foram fertilidade (número de ovos férteis/número total de ovos incubados), eclodibilidade (número de pintos nascidos/número de ovos férteis) e nascimento, popularmente denominado eclosão (número de pintos nascidos/sobre número total de ovos incubados). As avaliações foram efetuadas em duas etapas por incubação, sendo a primeira por ovoscopia e quebra dos ovos brancos no décimo quarto dia de incubação e a segunda durante o nascimento, com a quebra dos ovos não-nascidos.

O modelo estatístico utilizado incluiu os efeitos de parcela, tratamento (combinação fatorial de três diluentes, com duas diluições em dois intervalos de repouso mais duas testemunhas, um aplicado sem repouso e outro com repouso de uma hora), idade das aves, interação tratamento x idade e resíduo. O efeito de tratamento foi testado contra a interação tratamento x parcela. As análises estatísticas foram efetuadas utilizando-se o programa SAS (SAS INSTITUTE INC, 1996). As médias foram comparadas pelo teste "t".

Resultados e Discussão

Os dados foram submetidos à análise de variância (Tabela 1), na qual se constatou que o efeito de tratamento influenciou a fertilidade e o nascimento em nível de $P < 0,0001$ e a eclodibilidade em nível de $P = 0,0558$. O desempenho reprodutivo também variou com a idade das aves, e tanto a fertilidade como o nascimento de pintos melhoraram, à medida que a idade avançava, porém a idade não influenciou a eclodibilidade. A interação tratamento x idade influenciou tanto a fertilidade como o nascimento de pintos ($P < 0,0001$), portanto fertilidade e nascimento foram examinados à luz dos dois fatores e são apresentados, respectivamente, nas Figuras 1 e 2.

Constam da Tabela 2 as médias estimadas, bem como os erros-padrão para cada combinação de tratamento. É evidente o pior desempenho dos tratamentos que receberam diluição 1:4 e dos que ficaram em repouso por 24 horas.

Os tratamentos com sêmen puro apresentaram desempenho superior aos com sêmen diluído com diluição 1:4 e também aos que ficaram em repouso

Tabela 1 - Análises das variâncias de fertilidade, eclodibilidade e nascimentos

Table 1 - Analyses of variance of fertility, hatchability and birth

Fonte de variação Source of variation	gl df	Quadrado médio Mean square		
		Fertilidade Fertility	Eclodibilidade Hatchability	Nascimento Birth
Tratamento (T) Treatment	13	10979,58**	647,70*	9656,90**
Parcela (P) Experimental unity				
Interação T x P Erro A Interaction T x P Error A	28	259,31	317,70	267,82
Idade (I) Age	6	4554,59**	341,03	3415,61**
Interação T x I Interaction T x I	78	391,04**	211,82	321,71**
Resíduo Error	168	89,47	175,27	85,54

**=P<0,01 *=p<0,05

Tabela 2 - Média estimada ± erro-padrão para fertilidade, eclodibilidade e nascimentos por tratamento

Table 2 - Least square mean ± standard error for fertility, hatchability and birth rate according to treatment

Tratamento Treatment	Diluição Dilution	Tempo de repouso Resting time	Fertilidade % Fertility	Eclodibilidade % Hatchability	Nascimento % Birth
DC*	2	1	81,7±1,3 ^{abc}	90,1±1,1 ^{ab}	73,6±1,5 ^{abc}
DC	2	24	57,5±5,2 ^e	87,4±2,4 ^{abc}	51,1±4,8 ^f
DC	4	1	66,6±3,3 ^{de}	82,8±2,0 ^{abc}	55,3±3,2 ^{fe}
DC	4	24	29,5±3,2 ^g	79,8±4,3 ^{bcd}	24,7±2,8 ^{gh}
BPSE	2	1	76,0±4,2 ^{bcd}	83,1±4,3 ^{abc}	65,9±4,2 ^{cd}
BPSE	2	24	32,0±5,9 ^g	78,8±6,1 ^{cd}	27,4±5,4 ^g
BPSE	4	1	69,7±3,1 ^d	89,2±1,4 ^{abc}	62,0±2,8 ^{de}
BPSE	4	24	19,0±4,5 ^h	70,9±5,4 ^d	15,1±4,0 ^h
LAKE	2	1	84,8±1,9 ^{ab}	90,1±1,1 ^{ab}	76,3±1,9 ^{ab}
LAKE	2	24	42,5±5,6 ^f	82,0±2,5 ^{abcd}	34,5±4,6 ^g
LAKE	4	1	74,3±2,2 ^b	86,3±1,6 ^{abc}	64,0±2,2 ^{cde}
LAKE	4	24	38,6±3,0 ^{fg}	81,8±2,8 ^{abcd}	31,2±2,6 ^g
PURO	0	1	74,7±2,7 ^{bcd}	91,3±0,9 ^{ab}	68,2±2,5 ^{bcd}
PURO**	0	0	87,2±1,7 ^a	91,0±1,1 ^a	79,5±2,1 ^a
Contraste entre os melhores tratamentos Contrast among the best treatments					
DC*	2	1	81,7±1,3 ^{ab}	90,1±1,1 ^a	73,6±1,7 ^{ab}
BPSE	2	1	76,0±4,2 ^b	83,1±4,3 ^a	65,9±4,2 ^b
LAKE	2	1	84,8±1,9 ^{ab}	90,1±1,1 ^a	76,3±1,9 ^a
PURO	0	0	87,2±1,7 ^a	91,0±1,1 ^a	79,5±2,1 ^a

* Diluente comercial; **Sêmen colhido e aplicado imediatamente.

Médias, na coluna, seguidas de letras diferentes são diferentes (P<0,05) pelo teste t.

* Commercial extender; **Semen collected and used immediately.

Means within a column followed by different letters are different (P.<05) by t test.

por 24 horas. Durante a condução do experimento este fato ficou logo evidente e, por isso, na análise dos dados foram construídos contrastes apenas entre os tratamentos com menor repouso possível e entre os com diluição 1:2. As médias de fertilidade destes tratamentos foram 87,2; 84,8; 81,7; e 76,0%, respectivamente, para sêmen puro sem diluição e para sêmen diluído com solução de Lake, com diluente comercial e com BPSE. As respectivas médias de

porcentagem de nascimento foram 79,5; 76,3; 73,6; e 65,9%. Estes valores são aceitáveis para a faixa de idade das aves do estudo, porém são inferiores ao desempenho esperado de plantéis comerciais alojados em piso e com monta natural. Entretanto, muitos plantéis comerciais têm obtido desempenho semelhante ou até inferior, quando as condições de manejo do plantel não são perfeitas. A característica nascimento de pintos refletiu bem a tendência da caracte-

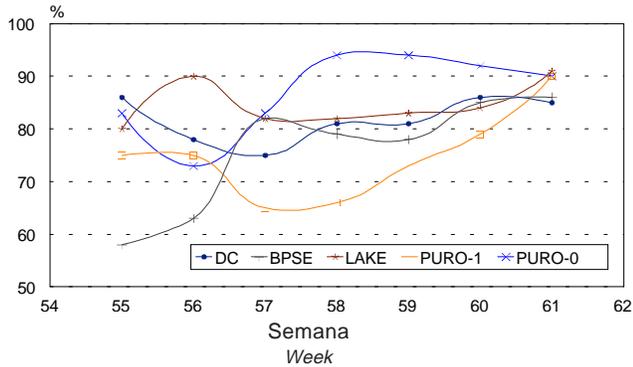


Figura 1 - Porcentagem de fertilidade por idade e tratamento.
Figure 1 - Percent of fertility by age and treatment.

rística fertilidade, uma vez que a mesma sofre influência direta desta. A característica eclodibilidade é, entretanto, independente da fertilidade e os fenômenos capazes de influenciá-la são mais ligados à mortalidade embrionária, como contaminação do sêmen ou dos ovos, seleção e armazenamento dos ovos, operação das incubadoras, temperatura, ventilação e umidade de incubação, efeitos genéticos letais.

Do ponto de vista experimental, outros autores têm obtido fertilidades levemente superiores, porém, na maioria dos casos, utilizaram aves Legorne e não no terço final do ciclo de postura. SEXTON (1977) obteve fertilidades mais altas, para diluições de 1:2 e utilizando o diluente BPSE, que o presente experimento (cerca de 84%); entretanto utilizou aves Legorne em idade madura, que são mais férteis que as de corte, além de serem mais jovens. Nesse experimento, a extensão máxima obtida para o diluente BPSE foi na diluição 1:4 para inseminações semanais com doses de 20 milhões de espermatozoides.

O efeito significativo da interação tratamento x idade sobre fertilidade e nascimento foi estudado via comparação das médias dessa interação. Como apenas aqueles tratamentos com diluição 1:2 e repouso reduzido foram de interesse, além do testemunha, foram construídos gráficos com as médias desses tratamentos, tanto para fertilidade como para nascimento de pintos (Figuras 1 e 2), os quais demonstram desempenho superior no final do período para as aves inseminadas com sêmen puro e sem repouso. Neste caso, a fertilidade e o conseqüente nascimento de pintos das duas primeiras semanas foram semelhantes aos obtidos com sêmen diluído, porém, a partir da terceira semana, este tratamento mostrou melhores resultados. O fato de o plasma seminal, biológica-

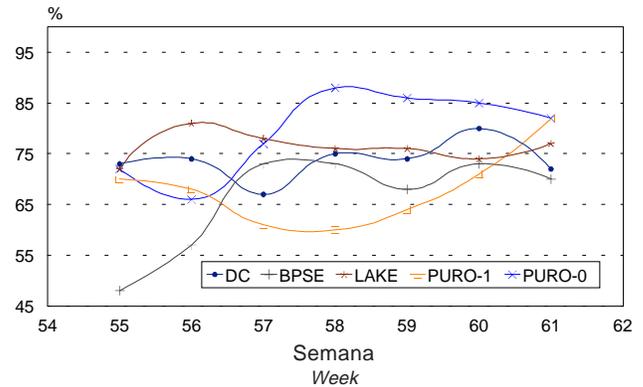


Figura 2 - Porcentagem de nascimento de pintos por idade e tratamento.

Figure 2 - Percent of chicks born by age and treatment.

mente originado do esperma ejaculado, não ter sido removido antes da diluição e armazenagem do sêmen é uma das possíveis explicações para o baixo desempenho dos tratamentos com repouso do sêmen por 24 horas em refrigerador. LAKE e RAVIE (1979) e Van WAMBEKE (1984) obtiveram alta capacidade de fertilidade com sêmen armazenado por 24 horas a 4°C coletando sêmen sem fluido transparente, porém mantendo-se o plasma nas amostras. Efeitos tóxicos do plasma seminal do esperma já têm sido observados em sêmen armazenado (SEXTON, 1988). O plasma seminal, uma vez diluído, pode apresentar efeito negativo sobre a capacidade de fertilidade do sêmen armazenado; neste caso, a substituição do plasma seminal pelo diluente poderia resultar em maior capacidade de fertilidade do que somente diluição. (LAKE e RAVIE, 1982). Uma das alternativas para melhorar a fertilidade do sêmen armazenado por 24 horas seria, talvez, pelo uso de diluentes mais complexos, contendo leite e albúmem de ovo, conforme obtido por Van WANBEKE (1967, 1977).

Outro fator que pode ter reduzido a fertilidade do sêmen armazenado é a influência do pH na taxa metabólica dos espermatozoides, pois estes podem ser inativados por pH ácido (ou baixo) durante o armazenamento e reativado por alcalinização antes da inseminação (LAKE e RAVIE (1979). No presente trabalho, o pH da solução de Lake foi de 7,0, mas a do BPSE, 7,5. Esta foi, provavelmente, a melhor explicação para a tendência de melhor desempenho do tratamento LAKE sobre o BPSE, pois LAKE e RAVIE (1979) encontraram melhor fertilidade com diluentes tamponados para pH 6,8 ou 7,1 em relação aos com pH 5,8 e pH 7,8. Entretanto, a composição dos diluentes, os tipos e o poder dos tampões, a taxa

de diluição do sêmen, a temperatura de armazenamento e a duração deste são fatores que podem resultar em circunstâncias particulares e influenciar a atividade do espermatozóide e o grau de produção de ácido e mudanças no pH do meio durante o período de armazenamento.

Nos experimentos de Van WAMBEKE (1967) com sêmen diluído, o pH foi de 6,25 a 6,65 após 24 horas de armazenamento entre 2 a 5°C. Esse autor obteve bons níveis de fertilidade, embora a pressão osmótica entre os diluentes de pH diferentes possa ter influenciado parcialmente a habilidade fertilizante do sêmen diluído após armazenagem.

Van WAMBEKE (1977) mostrou que não existe sério efeito na fertilidade, quando a pressão osmótica do diluente varia de 340 a 460 mosmol/kg H₂O. Entretanto, HOBBS e HARRIS (1963), usando solução simples de ácido de citrato cítrico de sódio para variar o pH e a pressão osmótica simultaneamente, mostraram que a fertilidade mais alta foi obtida com 425 mosmol/kg H₂O e com pH 6 ou 7, obtendo-se fertilidade de 91,4; 91,5; e 96,1% para pH 6,8; 7,1 e solução fresca diluída e não-tamponada, respectivamente.

Conclusões

O diluente de Lake apresentou os melhores resultados entre os diluentes avaliados, equiparando-se ao uso de sêmen puro aplicado imediatamente após a coleta.

Quando se usou sêmen diluído, a diluição 1:2 (uma parte de sêmen para duas partes de diluente) produziu melhor resultado que a diluição 1:4 (uma parte de sêmen para quatro partes de diluentes).

O tempo de armazenagem do sêmen diluído deve ser o menor possível. O ideal seria diluí-lo e usá-lo imediatamente após a coleta, quando não se fizer a retirada de plasma seminal.

Referências Bibliográficas

- AUSTIN, A.S., NATARAJAN, N. 1991. Effect of buffers and dilution rates on motility percent of chicken spermatozoa. *Ind. J. Poult. Sci.*, 26(1):34-38.
- BOGDONOFF, P.D., SHAFFNER, C.S. 1954. The effect of pH on the in vitro survival, metabolic activity, and fertilizing capacity of chicken semen. *Poult. Sci.*, 33(3):665-669.
- HOBBS, T.D., HARRIS, G.C. 1963. Effect of freezing point depression and pH on motility and fertility of chicken spermatozoa stored in sodium citrate extenders. *Poult. Sci.*, 42(2):254-259.
- HUGHES, B.L. 1978. Efficiency of producing hatching eggs via artificial insemination and natural mating of broiler breeder pullets. *Poult. Sci.*, 57(2):534-537.
- LAKE, P.E., RAVIE, O. 1979. Effect on fertility of storing turkey semen for 24 hours at 5°C in fluids of different pH. *J. Reprod. Fert.*, 57(1):149-155.
- LAKE, P.E., RAVIE, O. 1982. Effect on fertility of storing turkey semen for 24 hours at 10°C in fluids of different pH. *Br. Poult. Sci.*, 23(1):41-47.
- SAS, INSTITUTE INC. *SAS User's guide: statistics*. 6. ed. Cary: 1996. 956p.
- SEXTON, J.T. 1977. A new poultry semen extender. 1. Effect of extension on the fertility of chicken semen. *Poult. Sci.*, 56(5):1443-1446.
- SEXTON, J.T., FEWLASS, T.A. 1978. A new poultry semen extender. 2. Effect of the diluent components on the fertilizing capacity of chicken semen stored at 5 deg C. *Poult. Sci.*, 57(1):277-284.
- SEXTON, T.J. 1988. Comparison of commercial diluents for holding turkey semen 24 hours at 5°C. *Poult. Sci.*, 67(1):131-134.
- Van WAMBEKE, F. 1967. Van The storage of fowl spermatozoa. Preliminary results with new diluents. *J. Reprod. Fert.*, 13(3):571-575.
- Van WAMBEKE, F. 1977. The effect of tonicity of storage media for fowl semen on the occurrence of neck-bending spermatozoa, fertility and hatchability. *Br. Poult. Sci.*, 18(2):163-168.
- Van WAMBEKE, F. 1984. Effect of semen storage time and number of spermatozoa inseminated on the fertility and hatchability of eggs from dwarf broiler breeder hens. *Br. Poult. Sci.*, 25(3):583-587.
- WILCOX, F.H. 1960. Effect on fertility of temperature, handling methods, Lake's storing chicken semen. *Poult. Sci.*, 39(3):459-467.

Recebido em: 12/11/98

Aceito em: 13/04/99