

Uso potencial da água de coco na tecnologia de sêmen *Potential use of coconut water in the semen technology*

T.B. Barros¹, R. Toniolli²

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, FAVET, UECE, Fortaleza, CE, Brasil.

²Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia de Sêmen, FAVET, UECE, Fortaleza, CE, Brasil.

Correspondência: toniolli@roadnet.com.br

Resumo

A produção brasileira de coco sempre foi de fundamental importância na vida e economia das populações do Nordeste do país. Sua utilização abrange as mais diversas áreas do conhecimento. O presente estudo teve por objetivo apresentar o potencial da água de coco em suas várias formas de utilização na área de biotecnologia da reprodução, como diluente seminal de diferentes espécies de animais em processos de conservação. Diversos são os trabalhos que demonstram a eficácia da água de coco na manutenção de características *in vitro* e *in vivo* da célula espermática de várias espécies, mantendo assim sua capacidade fecundante. Sua utilização como diluente é uma importante alternativa para o transporte de sêmen a curta distância e para a realização da inseminação artificial, além do seu fácil preparo e baixo custo. Com este trabalho, foi possível observar que a água de coco apresenta características bioquímicas necessárias a um diluente seminal e sua utilização pode aumentar a difusão dos programas de inseminação artificial em espécies animais de interesse econômico.

Palavras-chave: biotecnologia da reprodução, conservação, diluidor.

Abstract

*The Brazilian coconut production has a fundamental importance in the life and economy of the Northeast people of Brazil. Your use embraces the most several areas of the knowledge. This review had for objective to present the potential use of coconut water in various forms in the biotechnology of reproduction, as a sperm extender in the conservation process from various species. Several works demonstrate the coconut water effectiveness in the maintenance of the *in vitro* and *in vivo* characteristics of the spermatid cell in several species with the maintenance of your fertility capacity. Its utilization as a extender is an important alternative for the semen transport in small distances and your utilization in artificial insemination programs. In addition it is of easy prepare and low cost. With this work we observed that coconut water has the biochemical characteristics needed for a seminal extender and their use may increase the spread of artificial insemination programs in species of economic interest.*

Keywords: *biotechnology of reproduction, conservation, extender.*

Introdução

A água de coco é o líquido do endosperma encontrado dentro da cavidade do fruto, que começa a se formar em torno de dois meses após a abertura natural da inflorescência. Ela corresponde a 25% do peso do fruto, e sua composição básica é de 95,5% de água, 4% de carboidratos, 0,1% de gordura, 0,02% de cálcio, 0,01% de fósforo, 0,5% de ferro, além de aminoácidos, vitamina C, vitaminas do complexo B e sais minerais (Aragão, 2000). Ela possui diversas propriedades funcionais como: solução de hidratação oral, suplemento proteico onde o déficit nutricional é alto e, em casos graves, pode ser utilizada como solução de hidratação intravenosa (Campbell-Falck et al., 2000). Ela ainda se destaca por sua capacidade diurética, seu poder antioxidante e ação protetora em relação ao aparecimento de tumores malignos (Lim-Sylianco et al., 1992).

Na área da biotecnologia da reprodução, ela apresenta características que a classificam como um bom diluente de sêmen, já tendo sido utilizada com sucesso em várias espécies, quais sejam: suínos (Aires e Toniolli, 2005), caprinos (Azevedo e Toniolli, 1999; Nunes e Salgueiro, 1999), ovinos (Braz et al., 2003), bovinos (Alberti, 2004), caninos (Cardoso et al., 2005), felinos (Silva et al., 2007), macacos (Araújo et al., 2007) e humanos (Nunes, 1998).

O processamento do sêmen utilizando diluentes adequados é um dos pontos críticos para o sucesso de um programa de inseminação artificial (Corrêa et al., 2001). Sua utilização tem como objetivos evitar a acidificação do meio e o choque térmico da célula, ocasionados por temperaturas mais baixas (Cavalcanti, 1998). Para tanto, os diluentes são compostos por substâncias quimicamente diferentes entre si, que têm por objetivo aumentar o volume do sêmen, manter seu pH, inibir o crescimento bacteriano e manter a viabilidade da célula

espermática até o momento da inseminação artificial (Bortolozzo et al., 2005).

Processos como refrigeração e congelamento, essenciais para os programas de inseminação artificial, provocam sérios danos às células com a ruptura das membranas espermáticas, particularmente a do acrossoma (Pickett et al., 1987), além das membranas mitocondriais e nucleares. Esses danos levam a uma diminuição da motilidade e do tempo de sobrevivência do espermatozoide no trato reprodutivo da fêmea, afetando seu potencial fecundante. Assim, o desenvolvimento de um diluente que mantenha a viabilidade da célula espermática por um período maior de tempo é uma alternativa importante para a tecnologia da conservação do sêmen de diversas espécies. Esse trabalho teve por objetivo realizar um breve relato sobre a água de coco, avaliar seu potencial em diferentes processos biológicos e sua atuação como diluidor sobre a qualidade seminal em várias espécies domésticas.

Coco: cultura, classificação e perecibilidade

Pelo potencial de dispersão do coqueiro, há divergências de opiniões quanto a sua origem; a África e a América são as mais prováveis. Sua introdução no Brasil ocorreu na Bahia em 1553 pelos portugueses (Gomes, 1992). A cultura do coqueiro constitui uma importante fonte geradora de divisas e também uma farta fonte de proteínas e calorias para a população. No contexto mundial, a produção brasileira de coco, mesmo sendo pequena, pelo fato de o Brasil não produzir óleos a partir desse fruto, sempre foi de fundamental relevância na vida e economia das populações do Nordeste do país (Ferreira e Michereff Filho, 2002). Esta região concentra as maiores plantações de coco, contribuindo com 96% da produção nacional. A produção brasileira se estende por uma área de 300 mil hectares, sendo os estados de Sergipe, Bahia e Alagoas os maiores produtores, respondendo por 75% do total do país (Laguna, 1996).

O coqueiro é constituído de uma só espécie (*Cocos nucifera L.*) e duas variedades principais: a gigante e a anã (Siqueira et al., 1991). O coco é classificado como uma drupa, sendo dividido, de fora para dentro, nas porções do epicarpo, região constituída por uma fina película, lisa e que envolve todo o exterior do fruto; do mesocarpo, camada mais grossa, caracterizada por ser fibrosa, de coloração castanha quando seca; do endocarpo, estrutura mais lenhosa e dura, de coloração escura; e do endosperma, também chamado de albúmen, porção branca, carnosa e comestível. Na parte interna e oca do fruto é encontrado um líquido denominado de água de coco (Laguna, 1996).

A água de coco é uma solução estéril, ligeiramente ácida, contendo proteínas, sais, açúcares, vitaminas, fatores de crescimento (fito-hormônios) e muito pouco fosfolípídeo. Os frutos imaturos contêm substâncias que induzem a diferenciação celular em estado de dormência (Laguna, 1996). A água de coco é extremamente perecível e esta característica está diretamente relacionada às condições às quais os frutos ficam expostos durante a colheita, pós-colheita e comercialização. Temperaturas elevadas, danos mecânicos, manuseio inadequado e condições impróprias de armazenamento aceleram o processo de deterioração da água, diminuindo sua vida útil (Resende et al., 2008).

Utilizações da água de coco nas áreas nutricional, médica, biotecnológica e de cosméticos

Além do seu uso na própria alimentação humana, a água de coco tem apresentado importância significativa com uma ampla utilização em diferentes áreas do conhecimento. Na área médica, as propriedades desse líquido destacam-se por sua capacidade diurética e vêm sendo testadas no tratamento de urolitíases (Magat e Agustín, 1997), além do poder antioxidante, que pode estar associado à presença da vitamina C, mas também à interação com outros possíveis compostos ativos. Entretanto, esta última propriedade ocorre particularmente na água do coco *in natura* e se reduz de forma acentuada com a industrialização do líquido (Carvalho et al., 2006).

Há anos a água de coco vem sendo utilizada pela cultura popular como bebida capaz de combater a desidratação. Estudos recentes comprovaram este conceito, considerando a bebida um importante repositor de eletrólitos. Assim, tem-se levantado a possibilidade do seu uso na reidratação, em casos de diarreia crônica, pois, além da grande quantidade de potássio, possui também glicose (Kuberski et al., 1979). Em virtude disso, ela tem sido recomendada para repor a perda de líquidos do trato gastrointestinal (Khan et al., 2003). Sua utilização como solução no tratamento da desidratação grave ou desnutrição proteica de crianças e idosos ocorre devido à sua composição semelhante ao soro glicosado isotônico (Laguna, 1996).

A água de coco, por apresentar uma grande quantidade de sais minerais, como o sódio, potássio, cálcio, magnésio, manganês, ferro, zinco e cobre, e por conter vitaminas do complexo B e C, vem sendo utilizada em produtos cosméticos, como hidratantes para o corpo e cabelos (Carvalho et al., 2006).

Em virtude da presença de açúcares, ela foi testada na área biotecnológica como meio de cultivo *in vitro* para embriões de *Jatropha curcas L.* (pinhão-mansão). Sua presença proporcionou um melhor crescimento das plântulas (Nunes et al., 2008). Ainda nesta área, uma solução à base de água de coco foi comparada à solução salina quanto a sua eficiência na preservação de folículos pré-antrais (Costa et al., 2002), que correspondem a mais de 90% da população folicular do ovário (Santos et al., 2008). Ambas as soluções mostraram igual eficiência para conservar folículos pré-antrais caprinos a 4°C. No entanto, para conservá-los em temperaturas mais altas, a solução à base de água de coco é mais recomendada (Costa et al., 2002).

Em processos tecnológicos de inseminação artificial, o desenvolvimento de um diluente que mantenha a viabilidade da célula espermática por um período maior de tempo é uma alternativa importante para a tecnologia da conservação do sêmen de diversas espécies. Em virtude das características da água de coco citadas acima, ela vem demonstrando um grande potencial na conservação da célula espermática em diversas espécies de animais domésticos, como os suínos (Toniolli, 1989), ovinos e caprinos (Nunes e Salgueiro, 1999).

Isolamento de um princípio ativo da água de coco (auxina)

O princípio ativo dos fatores de crescimento presentes na água de coco é uma substância com propriedades semelhantes às auxinas e citocininas, que agem regulando conjuntamente o crescimento e provocando divisão celular nos vegetais, fungos e alguns protozoários (Nunes e Salgueiro, 1999). Inicialmente, foi realizado o isolamento da citoquinina na água de coco por Letham em 1974. Em seguida, uma nova fração foi isolada, o ácido 3-indol-acético, uma auxina de origem vegetal inicialmente chamada de JYP e atualmente denominada de IAA (Toniolli et al., 1996).

O uso dessa auxina estimulou a motilidade e manteve uma porcentagem maior de espermatozoides móveis no sêmen de caprinos e ovinos (Nunes e Salgueiro, 1999). Quando adicionado a diluidores tradicionais, como o BTS para a espécie suína, o IAA é responsável pelo aumento na proporção de espermatozoides vivos com acrossoma intacto quando conservado sob refrigeração (Toniolli et al., 1996). Pesquisas têm demonstrado que o IAA apresenta uma ação protetora sobre a célula espermática, proporcionando um maior número de espermatozoides com morfologia normal (Toniolli et al., 1999).

Com o uso do IAA adicionado ao diluente à concentração de 10 ng/mL, inseminando porcas após 5/6 dias de conservação das doses de sêmen a 17°C, melhores resultados de fertilidade foram obtidos relativamente ao uso do BTS. Quanto à prolificidade, não houve diferenças significativas entre os resultados (Toniolli et al., 1996). Quando se utilizou a concentração de 100 ng/mL de IAA adicionado ao diluente BTS, Toniolli e Costa e Moreira (2003) obtiveram melhores resultados de fertilidade (85%) em relação aos resultados da monta natural (81%).

No que se refere ao sêmen suíno congelado, bons resultados de vigor espermático e porcentagem de células móveis foram obtidos por Toniolli et al. (2007) utilizando o IAA em uma concentração de 100 ng/mL, sendo esta substância adicionada ao diluente BTS durante o processo de redução da temperatura e, posteriormente, após a descongelação e ressuspensão do sêmen. Estes bons resultados *in vitro* se traduziram também por porcentagens mais altas de fertilidade de fêmeas inseminadas com o diluidor contendo o IAA.

Diferentes formas e seu uso como diluente de sêmen

Dentre os diversos diluentes de sêmen não importados e de baixo custo já testados no Brasil, a água de coco, após correção da osmolaridade e do pH, vem demonstrando, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo*, resultados positivos na manutenção da viabilidade e poder fecundante dos espermatozoides, sendo possível sua utilização em processos biotecnológicos, como a inseminação artificial, sem os custos elevados com diluentes importados (Nunes, 1998).

Em virtude dessa potencialidade, ela foi testada como diluente em diferentes formas: a) *in natura* (ACN), constituída por 50% de água de coco filtrada + 25% de água destilada + 25% de uma solução de citrato de sódio a 5% (Toniolli, 1994); b) estabilizada (ACE), que é a ACN envazada, passada por um processo de esterilização por ultrafiltração, através de membranas com microporos (Aragão, 2002) e mantida sob refrigeração; c) liofilizada (ACL), em que o produto é congelado e a água é retirada por sublimação; d) sob forma de gel (ACG; Sales, 1989); e) em pó (ACP), obtida por meio da técnica de *spray dry*, método que produz um pó seco a partir de um líquido mediante rápida secagem, com um gás quente (Salgueiro et al., 2007). Neste estudo serão abordadas as formas *in natura*, estabilizada e em pó.

Água de coco *in natura* (ACN) e estabilizada (ACE)

A ACN foi testada como diluente alternativo e comparada ao leite desnatado na avaliação da porcentagem de espermatozoides móveis e motilidade progressiva do sêmen ovino, em diferentes períodos de incubação em banho-maria a 37°C. Embora ambos os diluentes tenham demonstrado resultados satisfatórios na conservação da célula espermática, a ACN se apresentou mais eficiente na manutenção das características avaliadas (Nunes, 1997). Trabalho semelhante foi realizado anteriormente para o sêmen caprino (Nunes e Combarous, 1995), e os testes *in vitro* realizados apresentaram resultados favoráveis na conservação da motilidade progressiva e da motilidade total quando o sêmen estava diluído em ACN, comparado ao leite.

A ACE, suplementada com antibióticos, foi comparada ao leite desnatado adicionado de 100 ng/mL de IAA e leite desnatado puro na espécie caprina. Os diluentes ACE e leite desnatado foram semelhantes quanto ao vigor e à motilidade espermática no período de 48 horas a 37°C, mas ambos foram inferiores ao leite desnatado suplementado com IAA, no mesmo período, colocando assim em evidência o papel desta auxina na conservação

da célula espermática por um período de tempo mais longo (Azevedo e Toniolli, 1999).

A ACN também foi testada como meio de conservação para o sêmen canino, com a manutenção de taxas de motilidade e vigor espermáticos, em quantidades favoráveis à sua utilização em inseminação artificial com o sêmen conservado por até 180 minutos (Uchoa et al., 2002). Em um estudo sobre o índice de prenhez na inseminação artificial de cadelas, foram obtidas taxas de prenhez de 90% quando o sêmen foi refrigerado e estava diluído em meio à base de água de coco, contra 50% quando em meio à base de leite em pó desnatado (Betini et al., 2001).

Com o objetivo de elaborar um método de expansão do ejaculado da espécie *Cebus apella* (macaco-prego), uma solução à base de água de coco foi testada, e os resultados obtidos demonstram que a ACN também foi capaz de manter a viabilidade espermática nesta espécie por até sete horas após a coleta (Araújo et al., 2007), sendo então seu uso interessante para a inserção de protocolos de inseminação artificial para esta espécie animal, em virtude da sua ameaça de extinção (Barnabé et al., 2002).

As águas de coco, *in natura* e estabilizada, foram utilizadas como diluentes para o sêmen suíno e avaliadas quanto à sua ação sobre a viabilidade espermática, sendo comparadas ao diluente tradicional BTS (controle). A ACN e a ACE apresentaram médias superiores de motilidade progressiva em relação ao diluidor BTS, aos 30, 60, 90 e 120 minutos de incubação a 37°C, podendo ser esta uma alternativa tecnológica para o seu emprego na conservação do sêmen da referida espécie (Toniolli et al., 1998).

Entretanto, o uso da água de coco *in natura* apresenta limitações, como a impossibilidade de se estocar o fruto por longos períodos, sendo sua utilização limitada às regiões onde esse fruto é encontrado (Cardoso et al., 2005).

O uso da ACE já foi um avanço tecnológico em relação à ACN, permitindo seu envase e uso em programas de inseminação artificial. Fêmeas inseminadas com a ACE tiveram um retorno ao cio após 21 dias de 11,53% em relação a 23,85% com utilização do diluente BTS. Os resultados de fertilidade foram também significativamente melhores, 86,45% em relação a 74,37%, respectivamente (Toniolli e Mesquita, 1990). No entanto, houve ainda o inconveniente de a ACE apresentar-se em grande volume (frascos de 500 mL), o qual demandava um maior espaço para estocagem em refrigeração. Desta forma, diferentes estudos foram conduzidos para desenvolver uma água de coco em pó (ACP®; Cardoso et al., 2005).

Água de coco em pó (ACP)

A ACP foi desenvolvida com o intuito de simplificar a utilização da água de coco como diluente (Salgueiro et al., 2002). Após sua ressuspensão, ela apresenta características bioquímicas muito similares àquelas encontradas no fruto *in natura*. Além disso, a ACP pode ser facilmente armazenada e enviada para regiões onde o coco não é encontrado (Cardoso et al., 2005). Sua ação como diluente de sêmen foi avaliada para a espécie de capote *Numida meleagris*, submetendo o sêmen a diferentes temperaturas (4 e 15°C), e comparada a um diluente comercial já utilizado para esta espécie. Para todos os parâmetros avaliados, o diluente à base de água de coco em pó a 4°C apresentou melhor desempenho em todos os tempos de conservação. No entanto, mesmo à temperatura de 15°C, os resultados permaneceram acima dos valores mínimos recomendados para a inseminação artificial, resultado também observado para o diluente-controle, o que indica que a ACP pode ser utilizada para a conservação do sêmen de capotes (Rondon et al., 2008).

Seu efeito como diluente também foi testado para a espécie ovina (Braz et al., 2003). Os resultados de motilidade espermática após duas horas de conservação a temperaturas de 4 e 15°C não demonstraram haver diferença significativa, com valores de 48,3 e 60,0%, respectivamente, mantendo índices satisfatórios para a sua utilização em programas de inseminação artificial. Altas taxas de prenhez (88,5%) foram observadas em ovelhas inseminadas com sêmen diluído em meio à base de ACP resfriado a 4°C (Salgueiro et al., 2007).

Avaliações *in vitro* e *in vivo* foram realizadas após a conservação do sêmen do varrão diluído em ACP e BTS, um diluente já utilizado amplamente para a espécie suína (Toniolli et al., 2010). Nesse trabalho, as avaliações de vigor (4,1) e porcentagem de espermatozoides móveis (91%) ficaram acima dos valores exigidos (3,0 e 70%) para a utilização do sêmen de suíno em programas de inseminação artificial, e todas as análises foram superiores às obtidas a partir do diluente BTS. Apesar dos bons resultados *in vitro* com o diluente ACP, este foi inferior ao BTS nos resultados de fertilidade e prolificidade. Os resultados mostraram 10 pontos percentuais e 1,8 leitões a mais no lote de porcas inseminadas com o sêmen diluído em BTS. O baixo número de ejaculados/reprodutor, devido ao maior peso individual de cada macho, teve ação decisiva sobre os resultados de fertilidade. Ao menos em parte, o sêmen de um dos reprodutores, que só foi utilizado no diluente ACP e teve o pior resultado de fertilidade, pode explicar o desempenho mais baixo da ACP (Toniolli et al., 2010), evidenciando, desta forma, o efeito direto do varrão sobre os resultados de fertilidade (Uzu, 1979). Apesar disso a ACP aproximou-se bastante da taxa mínima de fertilidade (87%), que é de 90%.

ACP como meio de criopreservação adicionada de gema de ovo

A eficiência da ACP como diluente na criopreservação do sêmen de cães foi comprovada ao compará-la

com o diluente padrão TRIS por meio da avaliação clássica e do teste de termorresistência após descongelação. Ambos os diluentes mostraram-se eficazes para uso na criopreservação, não apresentando diferença estatística quanto à conservação da qualidade seminal após a descongelação (Silva et al., 2005).

Sua utilização como diluente de sêmen no processo de criopreservação também foi testada para o gato doméstico nas etapas de diluição, resfriamento e glicerolização, e em todas estas etapas testadas a ACP mostrou-se eficiente na manutenção da boa qualidade espermática, com as médias de motilidade e vigor superiores a 70% e 3,5, respectivamente, sendo esses dados compatíveis com sua utilização em programas de inseminação artificial. (Silva et al., 2007).

A criopreservação de sêmen está sendo cada vez mais utilizada, já que permite o transporte de material genético, tanto dentro do país como entre países. Tal processo requer a participação de crioprotetores. Estes devem ser adicionados ao meio diluente para que haja uma proteção do espermatozoide durante os processos de congelamento/descongelamento (Squires et al., 1999). Estas substâncias devem possuir como propriedades uma baixa toxicidade para as células e alta solubilidade em água. Elas são classificadas como intracelular ou permeáveis, como o glicerol, e extracelular ou impermeáveis, como a gema de ovo (Maria, 2005).

A gema de ovo é um importante componente de meios de resfriamento e congelamento para a proteção do sêmen de várias espécies, tendo sido suas propriedades descobertas em 1939 (Bathgate et al., 2006). Desde então, vem sendo testada na conservação e criopreservação de espermatozoides de diversas espécies animais, tais como os cães (Silva et al., 2000) e os suínos (Bathgate et al., 2006).

Apesar de o seu mecanismo de ação ainda não ser bem compreendido, acredita-se que a gema de ovo atue recobrando a superfície da membrana plasmática, estabilizando-a e ajudando a minimizar os possíveis danos celulares causados durante as curvas de resfriamento do sêmen (Watson, 1990; Carolsfeld e Harvey, 1999).

A ACP teve sua ação testada como diluente do sêmen canino, no processo de criopreservação, adicionada de 20% de gema de ovo e 6% de glicerol e comparada à água de coco *in natura* com as mesmas concentrações de crioprotetores. Os diluentes mostraram resultados similares de motilidade e vigor durante os estágios analisados, o que demonstra que a ACP pode ser utilizada com sucesso na criopreservação do sêmen canino (Cardoso et al., 2005).

A qualidade do sêmen canino foi avaliada quando este foi congelado em um meio diluente à base de água de coco utilizando diferentes concentrações de gema de ovo (0, 5, 10 e 20%). Os tratamentos com 5% ($18,1 \pm 3,2$), 10% ($18,5 \pm 2,9$) e 20% ($18,8 \pm 2,5$) de gema de ovo apresentaram um menor percentual de alterações de acrossoma que o tratamento com 0% ($20,1 \pm 2,8$). Estes resultados demonstraram o efeito protetor da gema de ovo ao ser adicionada à água de coco (Barbosa et al., 2007).

A eficiência da ACP foi avaliada na criopreservação do sêmen do gato doméstico quando a ele foram adicionados 20% de gema de ovo e 6% de glicerol. Após descongelamento, foi obtido resultado de $69,5\% \pm 21,4$ de motilidade e $3,8 \pm 0,7$ de vigor, sendo estes dados compatíveis com a sua utilização em processos de inseminação artificial (Silva et al., 2007). Segundo Leung e Jamieson (1991), quando é realizada uma combinação entre os crioprotetores internos e os externos, há uma proteção mais completa ao espermatozoide, a qual atua no nível da membrana celular.

Apesar de seus resultados favoráveis, a ACP não permitiu a completa diluição da gema de ovo, quando esta estava na concentração de 20% na solução, o que levou a uma alteração na viscosidade do diluente, dificultando a avaliação da motilidade (Cardoso et al., 2005). Com este trabalho, foi possível observar o grande potencial da água de coco em diferentes áreas científicas e comprovar sua eficiência na conservação e criopreservação do sêmen em diferentes espécies, como diluidor alternativo para programas de inseminação artificial.

Considerações finais

A água de coco é um material natural de grande potencial biológico, e sua utilização abrange diversas áreas, como a indústria cosmética, de alimentos, médica e biotecnológica. Nesta última área, a água de coco vem apresentando resultados que demonstram sua eficiência como meio para preservação de folículos pré-antrais como diluente seminal em processos de conservação tanto por meio da refrigeração quanto da criopreservação nas diversas espécies estudadas, o que a torna um diluente/conservador alternativo e importante para a difusão de programas de inseminação artificial, já que apresenta uma relação custo-benefício favorável quando comparada aos demais diluentes disponíveis no mercado.

É fundamental que as pesquisas em busca de novos meios diluentes continuem sendo realizadas a fim de que seja possível a conservação do sêmen por um período maior de tempo, diminuindo os custos na manutenção de uma granja, permitindo uma expansão maior da inseminação artificial e tornando produtos de mais alto valor genético de maior acesso a todos os criadores, particularmente os pequenos.

Referências bibliográficas

Aires FP, Toniolli R. Congelamento/descongelamento e conservação de sêmen suíno. In: Reunião Anual da SBPC, 57, 2005, Fortaleza, CE. *Anais...* São Paulo: SBPC/UECE, 2005. Disponível em <http://www.spcnet.org.br/livro/57ra>.



- Alberti K.** *Congelamento do sêmen bovino: novos enfoques em meios diluentes*. 2004. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de São Paulo, FMVZ, Botucatu, SP, 2004.
- Aragão WM.** A importância do coqueiro-anão verde. Disponível em: <http://www.sede.embrapa.br/noticias/artigos/2000/artigo.2004-12-07.2461636373/mostraartigo>. Acesso em: 20 jun. 2000.
- Aragão WM.** *Coco pós-colheita*. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 76p. (Embrapa Informação Tecnológica).
- Araújo LL, Oliveira KG, Lima JS, Pantoja PSP, Araújo JB, Domingues SFS.** Preservação de sêmen de *Cebus apella* (macaco-prego) em diluidor à base de água de coco a 37°C. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba, PR. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2007. Disponível em: <http://www.cbra.org.br>.
- Azevedo DMMR, Toniolli R.** Água de coco estabilizada suplementada com antibióticos e ácido 3-indol acético na conservação de sêmen de caprinos marota. *Ciênc Anim*, v.9, p.37-42, 1999.
- Barbosa CC, Lopes-Neto BE, Madeira, VLH, Lima AHR, Uchoa DC, Silva LDM.** Criopreservação de sêmen canino com diluidor à base de água de coco em pó (ACP-106): efeito da concentração de gema de ovo. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba, PR. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2007. Disponível em: <http://www.cbra.org.br>.
- Barnabe RC, Guimarães MABV, Oliveira CA, Barnabe AH.** Analysis of some normal parameters of the spermogram of captive capuchin monkeys (*Cebus paella*). *Braz J Vet Res Anim Sci*, São Paulo, v.39, p.331-333, 2002.
- Bathgate R, Maxwell WMC, Evans G.** Studies on the effect supplementing boar semen cryopreservation media with different avian egg yolk types on *in vitro* post-thaw sperm quality. *Reprod Domest Anim*, v.41, p.68-73, 2006.
- Betini CM, Moraes GV, Rigolon LP.** Inseminação artificial de cadelas com sêmen fresco diluído em meios formulados com água de coco e leite em pó desnatado. *Rev Bras Reprod Anim*, v.25, p.373-375, 2001.
- Bortolozzo FP, Wentz I, Bennemann, PE, Bernardi ML, Wollmann EB, Ferreira FM, Borchard Neto G.** *Suinocultura em ação: inseminação artificial na suinocultura tecnificada*. Porto Alegre, RS: Ed. Pallotti 2005. 185p.
- Braz VB, Araújo AA, Nunes JF, Machado VP, Moura AAA, Oliveira KPL.** Viabilidade do sêmen ovino diluído em água de coco em pó. *Rev Bras Reprod Anim*, v.27, p.99-107, 2003.
- Campbell-Falck D, Thomas T, Falck TM, Tutuo N, Clem K.** The intravenous use of coconut water. *Am J Emerg Med*, v.18, p.108-111, 2000.
- Cardoso RCS, Silva AR, Silva LDM.** Use of the powdered coconut water (ACP-106) for cryopreservation of canine spermatozoa. *Anim Reprod*, v.2, p.257-262, 2005.
- Carolsfeld J, Harvey BJ.** Conservação de recursos genéticos em peixes: teoria e prática. In: Curso de treinamento brasileiro. Vitória, BC, Canadá: World Fisheries Trust, 1999. 47p.
- Carvalho JMC, Maia GA, Souza PHM, Maia GAJ.** Água de coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. *Ciênc Agropec*, v.27, p.437-452, 2006.
- Cavalcanti SS.** *Suinocultura dinâmica*. Belo Horizonte, MG: Ed FEPMZV, 1998. 494p.
- Corrêa MN, Meincke, W, Lucia Junior T, Deschamps JC.** *Inseminação artificial em suínos*. Pelotas, RS: Printpar Gráf Ed, 2001. 194p.
- Costa SHF, Santos RR, Ferreira MAL, Machado VP, Rodrigues APR, Ohashi OM, Figueiredo JR.** Conservação de folículos pré-antrais caprinos em solução salina ou à base de água de coco. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.39, p.324-330, 2002.
- Ferreira JMS, Michereff Filho M.** *Produção integrada do coco: práticas fitossanitárias*. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 107p.
- Gomes RP.** *O coqueiro da baía*. 2.ed. São Paulo: Nobel, 1992. 136p.
- Khan MN, Muti-ur-rehman, Khan KW.** A study of chemical composition of *Cocos nucifera* L. (coconut) water and its usefulness as rehydration fluid. *Pakistan J Bot*, v.35, p.925-930, 2003.
- Kuberski T, Roberts A, Linehan B, Bryden RN, Taburae M.** Coconut water as a rehydration fluid. *NZ Med J*, v.90, p.98-100, 1979.
- Laguna LE.** *Determinações físico-químicas da água de coco verde em duas variedades (Cocos nucifera, L.) coco da praia e anão*. 1996. Monografia (Especialização) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, 1996.
- Leung LKP, Jamieson BGM.** Live preservation of fish gametes. In: Jamieson BGM (Ed.). *Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa*. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. p.245-295.
- Letham OS.** Regulators of all division in plants tissues, and the cytokinins of coconut milk. *Physiol Plant*, v.32, p.66-70, 1974.
- Lim-Sylianco CY, Guevara AP, Sylianco-Wu L, Serrame E, Mallorca R.** Antigenotoxic effects of coconut meat, coconut milk, and coconut water. *Philip J Sci*, v.121, p.231- 253, 1992.
- Magat SS, Agustin YTV.** The Philippine coconut industry. In: International Cashew & Coconut Conference, 1997, Dar es Salaam, Tanzania. Dar es Salaam, Tanzania: ICC, 1997. p.21-27.
- Maria NA.** *Diluidores e crioprotetores no resfriamento e congelamento do sêmen de Piracanjuba (Brycon*



- orbignyana*). 2005. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.
- Nunes CF, Pasqual M, Santos DN, Custódio TN, Araujo AG.** Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. *Pesq Agropec Bras*, v.43, p.9-14, 2008.
- Nunes JF.** Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de animais domésticos e do homem. *Rev Bras Reprod Anim*, v.22, p.109-112, 1998.
- Nunes JF.** Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de caprinos e ovinos. *Ciênc Anim*, v.7, p.62-69, 1997.
- Nunes JF, Combarrous Y.** Utilização da água de coco e suas frações ativas como diluidor do sêmen dos mamíferos domésticos. In: Simpósio de Biotecnologia da Reprodução de Animais Domésticos, 1, 1994, Fortaleza, CE. Fortaleza, CE: SBRAD, 1995. 63p.
- Nunes JF, Salgueiro CCM.** Utilização da água de coco como diluidor de sêmen de caprinos e ovinos. *Rev Cient Prod Anim*, v.1, p.17-26, 1999.
- Pickett BW, Squires EL, Mackinnon AO.** *Procedures for collection, evaluation and utilization of stallion semen for artificial insemination.* Fort Collins, CO: Colorado State University, 1987. (Animal Reproduction Laboratory, n.3).
- Resende JM, de Queiroz MR, Soares AG, Botrel N, Cabral LMC, Júnior JS.** Caracterização física, físico-química e química da água de coco “anão verde” revestida com diferentes biofilmes. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 20, 2008, Vitória, ES. Vitória, ES: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008.
- Rondon RMM, Rondon FCM, Nunes JF, Alencar AA, Sousa FM de, Carvalho MAM.** Uso da água de coco em pó (ACP®) em diferentes temperaturas como diluente de espermatozoides de capote (*Numida meleagris*). *Rev Bras Saúde Prod Nac*, v.9, p.848-854, 2008.
- Sales MGF.** *Água de coco (Cocos nucifera L.) in natura e sob a forma de gel e estabilizada, como diluidor do sêmen caprino.* 1989. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1989.
- Salgueiro CCM, Nunes JF, Oliveira KPL.** Utilização de diluentes à base de água de coco *in natura* e em pó na inseminação artificial programada de cabras. *Rev Bras Reprod Anim Supl*, n.5, p.175-182, 2002.
- Salgueiro CCM, Nunes JF, Oliveira RV, Parente JCB, Cavalcante JMM, Mello MMC, Brasil OO, Faustino LR, Gonçalves RFB, Batista CAPM, Souza DFR, Accioly MP.** Inseminação artificial de ovelhas com sêmen diluído em meio à base de água de coco em pó (ACP-102) ou TRIS, resfriado e mantido a 4°C por 24 horas. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba, PR. *Anais...* Belo Horizonte, MG: CBRA, 2007. Disponível em: <http://www.cbra.org.br>.
- Santos RR, Celestino JJH, Lopes CAP, Melo MAP, Rodrigues APR, Figueiredo JR.** Criopreservação de folículos ovarianos pré-antrais de animais domésticos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.32, p.9-15, 2008.
- Silva AR, Cardoso RCS, Silva LDM.** Comparação entre água de coco em pó (ACP®) e o Tris como diluidores na criopreservação do sêmen de cães. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.43, p.767-774, 2005.
- Silva AR, Cardoso RCS, Silva LDM.** Congelação de sêmen canino com diferentes concentrações de gema de ovo e glicerol em diluidores à base de tris e água de coco. *Ciênc Rural*, v.30, p.1021-1025, 2000.
- Silva TFP, Ackermann CL, Pinheiro FTS, Silva LDM.** Uso da água de coco em pó (ACP-117) na criopreservação de sêmen de gato doméstico. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba, PR. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2007. Disponível em: <http://www.cbra.org.br>.
- Siqueira ER, Ribeiro FE, Aragão WM.** Melhoramento genético do coqueiro In: Cultura do coqueiro no Brasil. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 1991. p.87-120.
- Squires EL, Pickett BW, Graham JK, Vanderwall DK, Mccue PM, Bruemmer JE.** *Cooled and frozen stallion semen.* Fort Collins, CO: Colorado State University, 1999. (Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory Bulletin, 9).
- Toniolli R.** Biotecnologia da reprodução na espécie suína. *Rev Cienc Anim*, v.4, p.35-43, 1994.
- Toniolli R.** Conservação do sêmen suíno em água de coco. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 8, 1989, Belo Horizonte, MG. *Anais...* Belo Horizonte, MG: CBRA, 1989. p.138-142.
- Toniolli R, Costa e Moreira FR.** Diferentes parâmetros usados na avaliação da fertilidade na espécie suína. *Rev Ciênc Anim*, Fortaleza. v.13, p.89-97, 2003.
- Toniolli R, Courot M, Combarrous Y, Bussière J.** Fração ativa da água de coco: conservação e fertilidade do sêmen suíno. *Rev Ciênc Anim*, v.17, p.91-100, 2007.
- Toniolli R, Courot M, Combarrous Y, Bussière J, Magistrini M.** Effect of índole-3-acetic (plant auxin) on the preservation at 15°C of boar sêmen for artificial insemination. *Reprod Nutr Dev*, v.36, p.503-511, 1996.
- Toniolli R, Medeiros ALN, Figueiredo EL.** Morfologia dos espermatozoides de suíno, diluídos no diluidor de Beltsville (BTS) adicionados do ácido 3-indol acético. *Ciênc Anim*, v.9, p.61-65, 1999.
- Toniolli R, Mesquita, DSM.** Fertilidade de porcas inseminadas com sêmen diluído em água de coco estabilizada e com BTS. *Rev Bras Reprod Anim*, v.14, p.249-254, 1990.
- Toniolli R, Mesquita DSM, Cavalcante SG.** Avaliação *in vitro* do sêmen de suíno diluído em BTS na água de coco *in natura* e estabilizada. *Rev Bras Reprod Anim*, v.22, p.198-201, 1998.
- Toniolli R, Toniollo GH, Franceschini PH, Morato FMAC.** Uso do diluente água de coco em pó (ACP-



103®) na conservação prolongada do sêmen do varrão: avaliação *in vitro* e *in vivo*. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.62, p.1072-1079, 2010.

Uchoa DC, Silva AR, Cardoso RCS, Pereira BS Silva LDM. Conservação do sêmen canino a 37°C em diluentes à base de água de coco. *Ciênc Rural*, v.32, p.91-95, 2002.

Uzu G. Influence du verrat sur les principaux paramètres de la productivité du troupeau et sur la durée de gestation. *Ann Zootech*, v.28, p.315-323, 1979.

Watson PF. Artificial insemination and the preservation of sêmen. In: Lamming GE (Ed). *Marshall's physiology of reproduction*. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1990. v.2, p.747-869.
