

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
METODOLOGIA APLICADA À CONCLUSÃO DE CURSO

**AValiação de Machos Reprodutores Suínos: Como otimizar seu
Potencial Genético e Fertilidade**

LÍDIA LINCK

PORTO ALEGRE

2011/1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
METODOLOGIA APLICADA À CONCLUSÃO DE CURSO

**AVALIAÇÃO DE MACHOS REPRODUTORES SUÍNOS: COMO OTIMIZAR SEU
POTENCIAL GENÉTICO E FERTILIDADE**

Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para
obtenção da Graduação em Medicina
Veterinária

Aluno: Lídia Linck

Orientador: Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo

Co-orientador: Franco Luiz Lagemann

PORTO ALEGRE

2011/1

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, por estar sempre no meu caminho, iluminando e guiando às escolhas certas.

Aos meus pais: Helena e Nerci Linck que foram a base de tudo para mim, apoiando-me nos momentos difíceis com força, confiança, amor, ensinando-me a persistir nos meus objetivos e ajudando a alcançá-los.

Ao meu irmão William Linck, agradeço pela companhia, carinho e momentos de descontração vividos.

Ao meu noivo, Franco Luiz Lagemann, pelo amor incondicional, incentivo e por acreditar no meu potencial em todos os momentos.

Às minhas amigas Tatiana, Paola, Raquel e Lídia pela convivência, paciência, carinho e amizade incondicional.

À minha avó, Lydia e a tia Hedi, pela atenção, orações e apoio durante essa minha trajetória.

Aos meus colegas de estágio na Universidade de Alberta, Edmonton – Canadá pela grande amizade, momentos de descontração e por terem sido a minha família durante seis meses.

Ao meu orientador Fernando Bortolozzo pelos ensinamentos passados durante a minha graduação, pelos conselhos, amizade e principalmente por ser um exemplo de profissionalismo.

Aos professores Ivo Wentz, David Barcellos e Mari Lourdes Bernardi pelos conhecimentos passados e por terem me oferecido oportunidades únicas.

Ao professor George Foxcroft, Jennifer Patterson e a equipe da Universidade de Alberta por terem confiado em meu trabalho e acreditado no meu potencial.

Enfim a todos que contribuíram para o sucesso deste trabalho. Muito obrigada.

RESUMO

A indústria suinícola tem como objetivo principal aumentar a eficiência produtiva e a qualidade de carne produzida através da seleção genética, provendo aos produtores rebanhos produtivos e linhagens de machos férteis que produzem leitões saudáveis, com alto peso ao nascer, alta taxa de crescimento e baixa conversão alimentar. Para aumentar o desempenho reprodutivo, a indústria suinícola adotou protocolos de inseminações heterospérmicas que consistem da mistura de sêmen de no mínimo três machos. O uso do ‘pool’ de sêmen e alto número de espermatozoides para compensar ejaculados de baixa qualidade vem sendo assunto de discussões, porém este dilema será brevemente resolvido. Existem maneiras diferentes de reduzir o custo da inseminação: 1) pelo decréscimo do número de espermatozoides por dose inseminante e 2) o número de doses por fêmea. A adoção destes dois métodos gera um impacto importante no número de reprodutores usados por aumentar o número de doses produzidas por macho. O objetivo desta revisão é delinear possíveis métodos para encontrar machos mais férteis e as vantagens e desvantagens de misturar o sêmen de diferentes machos ou usar inseminações homospérmicas. O segundo objetivo é mostrar a possibilidade de usar menor concentração de espermatozoides por fêmea inseminada, atingindo o mesmo ou semelhante desempenho produtivo. A terceira parte desta discussão expõe as possibilidades de usar estes métodos em nível produtivo e as vantagens econômicas que trazem aos produtores.

Palavras – chave: fertilidade de machos, inseminação artificial, inseminações homospérmicas.

ABSTRACT

The industry continues to improve the production efficiency and meat quality by working on intensive genetic selection, providing producers with productive dam and boar lines creating healthy, heavy piglets with high growth rate and feed conversion. To ensure acceptable reproductive performance, the swine industry adopted heterospermic insemination protocols which usually consist of pooling the semen from at least three boars. The use of pooled semen and high numbers of sperm to compensate for low sperm quality has been questioned but this dilemma has yet to be resolved. There are different ways of diminishing the cost of breeding; 1) by decreasing the number of sperm per semen dose and 2) the number of doses inseminated per female. Adopting these two methods will have an important impact on the number of boars used in the industry by multiplying the number of doses produces per boar. The objective of this review is to outline the potential ways in finding the most fertile boars, and the advantages and disadvantages of using pooled semen doses from several boars and homospermic inseminations. The second objective is to identify the latest breeding method, to show the possibility of using lower sperm number per doses and a decrease the number of doses used per sow bred, while achieving the same or better reproductive and productive performances. The third part of discussion is to expose the possibilities of using those methods at the production level and economic advantages to producers.

Keywords: boar fertility, artificial insemination, homospermic insemination.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- Histórico e estimativa da produção de carnes em países desenvolvidos e em desenvolvimento.....	13
TABELA 2	- Herdabilidade ou repetibilidade para diferentes características do sêmen suíno.....	18
TABELA 3	- Correlação genética do desempenho de fertilidade da progênie.....	19
TABELA 4	- Comparação de dois machos férteis quando utilizados em protocolos de inseminação homospérmicos e heterospérmicos com dois bilhões de espermatozóides por dose.....	21
TABELA 5	- Comparação entre inseminações homospérmicas e heterospérmicas com machos de diferentes fertilidades relativas.....	22
TABELA 6	- Dados de motilidade espermática de sêmen diluído de machos comerciais Landrace utilizados em inseminações únicas com três bilhões de espermatozóides por dose.....	28
TABELA 7	- Taxa de prenhez de acordo com os machos utilizados através de inseminações intra-uterinas.....	33
TABELA 8	- Fertilidade das fêmeas para inseminações com um ou duas doses em estro induzido por gonadotrofina coriônica equina (eCG) com ou sem indução por hormônio luteinizante porcino (pLH).....	38
TABELA 9	- Influência do número de inseminações na taxa de parto, tamanho de leitegada e estimativa de lucratividade.....	41
TABELA 10	- Cálculo do valor estimado de machos necessários e da progênie gerada por macho ao ano para produzir 100×10^6 suínos/ano.....	44
TABELA 11	- Cálculo do custo alojamento, mão-de-obra para coleta e processamento, limpeza de equipamentos.....	44
TABELA 12	- Desempenho médio dos machos inicialmente avaliados e após mudanças nos protocolos de IA (estimado para 100 fêmeas inseminadas).....	51

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Tamanho de leitegadas de fêmeas inseminadas com machos comerciais Landrace utilizando inseminações homospérmicas com três bilhões de espermatozóides por dose inseminante..... 15
- FIGURA 2 - Exemplos representativos de diferentes relações entre o número de leitões nascidos vivos e o número de espermatozóides por dose..... 23
- FIGURA 3 - Desempenho individual dos machos (A-M) para 1) D30 Taxa de prenhez & taxa de parto; 2) Tamanho de leitegada; 3) Diferença esperada na progênie ou ‘estimated breeding value’ (EBV); 4) Leitões produzidos (estimativa para 100 fêmeas inseminadas x taxa de parto x total nascidos); 5) Valor dos leitões produzidos (leitões produzidos x EBV x \$.07 (valor de um ponto no índice EBV)) & Valor dos leitões produzidos – (Taxa de retorno x 21 dias não-produtivos x \$2)..... 49

LISTA DE ABREVIATURAS

BLUP: best linear unbiased prediction

CASA: computer-assisted semen analysis

CIA: central de inseminação artificial

DEP: diferença esperada na progênie

EBV: estimated breeding value

eCG: gonadotrofina coriônica eqüina

GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas

GPD: ganho de peso diário

hCG: gonadotrofina coriônica humana

HOST: hypo-osmotic swelling test

IA: inseminação artificial

IDE: intervalo desmame-estro

IIU: inseminação intra-uterina

IIUP: inseminação intra-uterina profunda

MAS: marker assisted selection

pLH: hormônio luteinizante porcino

SCSA: sperm chromatin structure assay

TAE: taxa de aceitação de ejaculados

TCE: total de células espermáticas

TP: taxa de parto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO DA INDÚSTRIA SUINÍCOLA	13
3	COMO ENCONTRAR MACHOS DE MAIOR FERTILIDADE?	14
3.1	Problemas de fertilidade	14
3.2	Variações na população de machos comerciais	14
4	DE ONDE VEM A VARIAÇÃO NA FERTILIDADE DOS MACHOS?	17
4.1	Seleção genética e fertilidade: herdabilidade, repetibilidade e correlações	17
4.2	Compensando a baixa fertilidade com o uso de alto número de espermatozóides por dose	20
4.2.1	Diferenças entre machos: padrão de fertilidade	22
4.2.2	Efeito dominante do macho	24
5	IDENTIFICANDO MACHOS DE MAIOR FERTILIDADE	26
5.1	Características de fertilidade do sêmen	26
5.1.1	Características compensáveis.....	27
5.1.2	Características não-compensáveis.....	29
6	TECNOLOGIA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL: COMO PODEMOS REDUZIR O NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES POR DOSE SEM TER PREJUÍZO?	31
6.1	Técnicas de inseminação artificial	31
6.2	Tipo de sêmen usado	34
6.3	Protocolo de inseminação	35
6.3.1	Sincronização do estro.....	35
6.3.2	Indução da ovulação	36
7	QUAL O PREÇO PARA ALCANÇAR MELHORES PERFORMANCES REPRODUTIVAS?	40
7.1	Qual o impacto econômico da IA em tempo fixo e a frequência de inseminações?	40
7.2	Qual a diferença econômica ao utilizar inseminações cervicais e intrauterinas? .	42
7.3	Qual o impacto econômico ao reduzir o número de espermatozóides por dose inseminante?	42
7.4	Qual o preço do sêmen de machos de alto mérito genético?	
7.5	Como estimar o número de machos necessários em uma granja de dez mil matrizes?	43
8	COMO AUMENTAR O IMPACTO DE MACHOS GENETICAMENTE SUPERIORES	47

8.1	Introdução	47
8.2	Objetivo	47
8.3	Material e métodos	48
8.4	Resultados e discussão	48
8.5	Conclusões prévias	51
9	CONCLUSÕES	53
	REFERÊNCIAS	51

PARTE I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

A indústria suinícola está em evolução constante. O objetivo principal é promover o crescimento dos suínos e posteriormente a produção de carne para que a demanda crescente seja atendida a um custo mínimo. Para melhorar a eficiência de produção, a indústria trabalha continuamente em processos de intensiva seleção genética, disponibilizando aos produtores um rebanho sadio e machos saudáveis cujos leitões provenientes possuam alta taxa de crescimento e conversão alimentar.

Inúmeras tecnologias de inseminação vêm sendo desenvolvidas, aplicadas e melhoradas. O uso da inseminação artificial (IA) tem melhorado a produção, assim como a qualidade genética do rebanho (WABERSKI *et al.*, 2008).

A seleção genética de machos influencia economicamente importantes aspectos como o tamanho e peso da leitegada, taxa de crescimento, eficiência alimentar, percentual de carne magra e a qualidade de carne e apurados. Os produtores de suínos devem saber como aplicar os princípios genéticos na seleção e como manejar esses animais para melhorar a produtividade dos rebanhos.

Ao longo dos anos, uma intensa seleção genética vem sendo realizada para identificar machos mais produtivos. Muitos estudos prezam apenas a fertilidade da fêmea e estudos sobre a fertilidade dos machos não têm recebido a mesma atenção (SAFRANSKI, 2008). A fertilidade dos machos pode afetar seriamente a produção, uma vez que os machos são responsáveis por inseminar inúmeras fêmeas e disseminar suas características no rebanho.

Como se sabe, existe uma considerável variação na produção espermática e diferenças significativas estão presentes entre os genótipos (FLOWERS, 2008). Para garantir um desempenho reprodutivo aceitável, a indústria suinícola adotou protocolos de inseminação heterospermica, misturando sêmen de no mínimo três machos para formar um ‘pool’. O uso de sêmen de diversos machos e alto número de espermatozoides por dose para compensar o sêmen de má qualidade vem sendo questionado, mas este dilema ainda não está completamente elucidado (FLOWERS, 2002).

Entretanto, para que aumentemos a produção de carne por macho ao ano é crucial aumentar também o número de leitões por leitegada e produzir animais mais pesados com um bom desempenho de crescimento. A responsabilidade do macho nesse caso é produzir sêmen de melhor qualidade para fertilizar um maior número de oócitos disponíveis e ao mesmo tempo manter o custo das doses de sêmen o mais baixo possível. Embora isto seja viável em teoria, a indústria enfrenta consideráveis obstáculos. Existem diferentes maneiras para redução no custo da IA; 1) diminuindo o número de espermatozóides por dose e 2) o número de doses inseminantes por fêmea.

Adotando estes dois métodos teremos um importante impacto no número de machos utilizados na indústria, pois estaremos multiplicando o número de doses produzidas por macho. Diferentes métodos de inseminação permitem o uso de menores quantidades de espermatozóides por dose. Outro desafio enfrentado pela indústria é identificar machos que sejam mais férteis e utilizá-los com um menor número de espermatozóides por dose, uma vez que não existem testes ou combinações de testes capazes de prever a fertilidade de cada ejaculado.

O objetivo primário desta revisão é delinear potenciais métodos para encontrar os machos mais férteis e as vantagens e desvantagens do uso do 'pool' de sêmen de diferentes machos. O segundo objetivo é identificar possíveis métodos de inseminação que permitam o uso de sêmen com menor número de espermatozóides e redução do número de inseminações por porca, alcançando o mesmo ou um melhor desempenho reprodutivo. O terceiro objetivo é destacar as possibilidades de uso de tais métodos em nível de produção e as vantagens econômicas para os produtores de suínos.

2 OBJETIVO DA INDÚSTRIA SUINÍCOLA

A produção de suínos vem crescendo anualmente. O Brasil é o quarto maior produtor e exportador de carne suína no mundo, com sua produção superando três milhões de toneladas (ABIPECS, 2008). O consumo de carne suína no mundo representa 40% das carnes vermelhas e continua a aumentar. De acordo com a FAO (2002), a produção de carne suína aumentou 21 milhões de toneladas em dez anos. Em 2020, a projeção da demanda de carne suína aumentará 125 milhões de toneladas como fica evidente na **tabela 1**. (DELGADO, 1999, citado por GERRITS, 2005).

Tabela 1. Histórico e estimativa da produção de carnes em países desenvolvidos e em desenvolvimento.

Países desenvolvidos (em milhões de toneladas)			
Ano	1982	1993	2020
Carne bovina	32	33	40
Carne suína	35	37	41
Carne de frango	17	26	57
Total	92	100	124
Países em desenvolvimento (em milhões de toneladas)			
Ano	1982	1993	2020
Carne bovina	17	22	42
Carne suína	21	39	84
Carne de frango	9	21	46
Total	51	88	182

Fonte: adaptado de DELGADO *et al.*, 1999.

O objetivo da produção de suínos é sempre o mesmo: aperfeiçoar a quantidade de carne produzida por fêmea por ano ao longo da vida reprodutiva. Para alcançar os objetivos deste alto desempenho, uma combinação de manejo e alta performance é necessária. Alcançar uma ótima produção, aliada a um excelente desempenho reprodutivo é o propósito de qualquer produtor, entretanto, a questão é como alcançá-lo?

3 COMO ENCONTRAR MACHOS DE MAIOR FERTILIDADE?

3.1 Problemas de fertilidade

A fertilidade dos machos representa um importante desafio para a indústria suinícola. O resultado reprodutivo de muitas matrizes depende da capacidade de fertilização dos machos, em função da estrutura poligâmica da produção suinícola (FOXCRIFT *et al.*, 2008). A grande maioria dos suínos produzidos é resultado do cruzamento de linhagens de matrizes inseminadas com doses de sêmen heterospérmico (pool) de machos comerciais. Estes machos são selecionados quase que exclusivamente para características de ganho de peso, com o mínimo interesse em produção espermática, qualidade ou fertilidade (FLOWERS, 2008). Entretanto, importantes variações têm sido observadas em relação à fertilidade dos machos *in vitro* e *in vivo* (FLOWERS, 2008).

Não obstante, poucos pesquisadores têm estudado se a baixa fertilidade pode estar relacionada com componentes genéticos (FLOWERS, 2008). Existem diversos meios para investigar o potencial de fertilidade de um macho. Os parâmetros produtivos que refletem a fertilidade dos machos são a taxa de prenhez e o tamanho da leitegada (FOXCRIFT *et al.*, 2008).

3.2 Variações na população de machos comerciais

Embora exista muita variação no tamanho da leitegada, duas características básicas são diretamente responsáveis por este parâmetro: o número de espermatozoides na dose inseminante e a proporção de espermatozoides que conseguem fertilizar o oócito com sucesso (FLOWERS, 2002). A **figura 1** abaixo apresenta a média de nascidos totais (de 31 machos Landrace) após inseminações homospérmicas com três bilhões de espermatozoides.

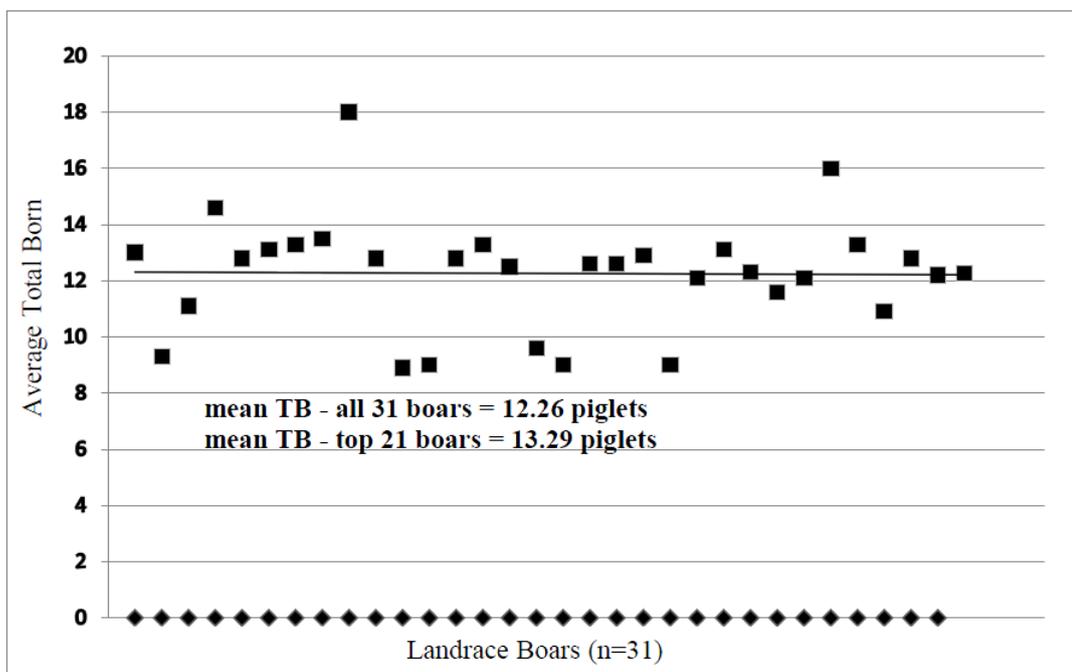


Figura 1 - Tamanho de leitegadas de fêmeas inseminadas com machos comerciais Landrace utilizando inseminações homospérmicas com três bilhões de espermatozóides por dose inseminante

Fonte: Dyck *et al.*, 2009).

O gráfico acima é uma boa ilustração da variação que ocorre na população de machos comerciais. Estes resultados ilustram três categorias de machos. O primeiro grupo com o menor tamanho de leitegada entre oito e onze leitões nascidos; o segundo grupo que inclui a maioria dos machos mostra uma média de 13 leitões nascidos, e a terceira categoria que inclui os machos altamente prolíferos com leitegadas produzidas acima de 14 leitões. A produtividade do segundo e terceiro grupo é em média 13 leitões. Ao considerar a produtividade global, incluindo as leitegadas menores, a média cai em mais de um leitão nascido (DYCK *et al.*, 2009).

Ao identificar e utilizar machos com alto mérito genético (grupo três) seria possível espalhar o mérito genético destes machos em uma maior proporção de fêmeas (DYCK *et al.*, 2009). Atualmente, existem machos utilizados na indústria que são capazes de fertilizar de forma excepcional com baixos números de espermatozóides. Infelizmente, diversas práticas de manejo comumente utilizadas na inseminação artificial tornam a identificação de machos menos prolíferos difícil (FLOWERS, 2008). O uso de inseminação heterospérmica, assim como alto número de espermatozóides por dose, impede a melhoria de produtividade que poderia ser obtida usando inseminação homospérmica (DYCK *et al.*, 2009).

Os dados na **figura 1** mostram a variação existente na população; entretanto, cabe a pergunta “quanta variação está realmente presente nas linhagens de machos?” (FLOWERS, 2008) e “de onde ela vem?”.

4 DE ONDE VEM A VARIAÇÃO NA FERTILIDADE DOS MACHOS?

4.1 Seleção genética e fertilidade: herdabilidade, repetibilidade e correlações

A principal técnica para aumentar o desempenho reprodutivo dos machos é a seleção genética, sendo responsável por centenas de milhares de leitegadas produzidas por ano (FOOTE, 2003). O método mais simples e antigo usado para avaliar os machos é a aparência física, e ainda hoje este método é imperativo. Entretanto, na metade do século 20, comparações de diferentes características genéticas como a mensuração da taxa de crescimento e a espessura de toucinho começaram a ser avaliadas (SAFRANSKI, 2008). Atualmente, levando em conta os avanços e a tecnologia em informática na área, a seleção genética passa a ser o próximo passo.

Diferentes ferramentas como a diferença esperada na progênie (DEP), do inglês ‘estimated breeding value’ (EBV) e a ‘melhor predição linear não viciada’, do inglês ‘best linear unbiased prediction’ (BLUP), têm sido utilizadas para contribuir com o avanço genético e melhorar características de produção como herdabilidade e repetibilidade.

Na indústria suinícola, as principais características selecionadas são a média de ganho de peso diário, conversão alimentar e dias até o abate (SAFRANSKI, 2008). O índice de seleção é outro método bem sucedido para seleção de múltiplas características e utiliza correlações entre genética e fenótipo, estimando o valor econômico de cada característica (SAFRANSKI, 2008). É possível que a baixa fertilidade de alguns machos possa ser explicada pela intensa seleção genética realizada nas últimas décadas. O objetivo da seleção genética é direcionado para produção de leitegadas com alto ganho de peso diário, alta eficiência alimentar e tamanho de leitegada (CASEY, 2010). Entretanto, pouco tem se pesquisado sobre o desempenho de fertilidade (SAFRANSKI, 2008). Estimativas sobre herdabilidade e repetibilidade sugerem que as características de fertilidade podem responder à seleção genética.

Wolf (2009) apresentou herdabilidade estimada para o volume de sêmen e concentração espermática de aproximadamente 0,20, e Safransky (2008) revisou quatro diferentes trabalhos mostrando a variação entre eles, além de alguns resultados consistentes sobre o total de células espermáticas e a concentração de sêmen, conforme é evidenciado na **tabela 2**.

Tabela 2 - Herdabilidade ou repetibilidade para diferentes características do sêmen suíno.

	Referência					
	(1)	(2)	(3) ^a	(3) ^a	(4) ^b	(4) ^c
Volume	.38	.58	.18	.14	.53	.57
Concentração	.09	.49	.21	.26	.40	.37
Motilidade		.38	.05	.13	.38	.54
Células Totais	.37	.42	.25	.22	.26	.16
Células Anormais		.34			.59	.74
Nº doses	.39	.40				

^a Para uma ou duas linhagens avaliadas.

^b Frequência de coleta três vezes por semana.

^c Frequência de coleta sete vezes por semana.

Referências: (1) OH (2003); (2) SMITAL (2005); (3) BRANDT (1998); (4) HUANG (1996).

Fonte: adaptado por Safransky, 2008).

Alguns autores têm sugerido que a performance reprodutiva está negativamente correlacionada com o desempenho no crescimento. Oh (2003) sugere que correlações genéticas mostram que os objetivos da seleção genética atual estão afetando de forma negativa as características relacionadas ao sêmen e sua produção. Conforme ilustrado na Tabela 3, Safransky (2008) apresentou uma correlação entre as características de desempenho da progênie e a fertilidade dos machos encontrada por Oh (2003) e Smital (2005).

Os resultados sugerem uma baixa correlação entre características do ejaculado e ganho de peso diário (GPD), assim como uma correlação negativa entre profundidade de músculo e características reprodutivas.

Tabela 3 - Correlação genética do desempenho de fertilidade da progênie

	Ganho de peso diário (GPD)			Espessura de toucinho			Profundidade de musculatura
	(1) ^a	(2) ^{ab}	(3) ^{ab}	(1) ^a	(2) ^{ab}	(3) ^{ab}	(1) ^a
Referência	(1) ^a	(2) ^{ab}	(3) ^{ab}	(1) ^a	(2) ^{ab}	(3) ^{ab}	(1) ^a
Volume	0,12	-0,21	-0,17	0,16	-0,19	-0,03	-0,94
Concentração	-0,18	0,30	-0,02	0,41	-0,21	-0,15	-0,49
Motilidade	-	-0,62	-0,32	-	0,34	0,14	-
Células Totais	0	-	-	0,35	-	-	-0,93

^bPara uma ou duas linhagens avaliadas.

Referências: (1) OH (2003); (2) SMITAL (2005).

Fonte: adaptado por Safransy, 2008).

Além disso, correlações genéticas entre a taxa de aceitação de ejaculados (TAE) e o número total de células espermáticas (TCE), TAE e concentração total, e TAE e número de doses produzidas foram negativas, o que demonstra que a boa qualidade do sêmen não resulta, necessariamente, em bons aspectos qualitativos. Esta correlação negativa indica que machos produzindo ejaculados com alta concentração podem provavelmente produzir menos ejaculados aceitáveis. (OH, 2003).

Outro trabalho realizado sugere que existe uma alta correlação negativa entre o volume de sêmen e a concentração espermática (-0,69) e entre motilidade e percentual de espermatozoides anormais (-0,59) (WOLF, 2009). Flowers (1997) mostrou que alguns destes parâmetros, como motilidade e penetração espermática são correlacionados com desempenho reprodutivo comprovado. Contudo, Wolf (2009) relatou que Robinson e Buhr (2005) também demonstraram uma enorme variação na herdabilidade estimada e concluíram que existe uma forte indicação que a seleção genética de machos superiores pode aumentar a produção espermática. Embora a intensa seleção genética para características produtivas seja um importante fator que afeta a fertilidade é difícil prever quais são os machos de melhor fertilidade numa central de difusão genética.

4.2 Compensando a baixa fertilidade com o uso de alto número de espermatozóides por dose

De acordo com Alm (2006), a produção do ‘pool’ de ejaculados (heterospermicos), prática comumente utilizada nas centrais de difusão genética, é confiável em melhorar o desempenho reprodutivo do rebanho. Ao compará-la com inseminação homospermica (sêmen de machos individuais), a inseminação heterospermica fornece uma avaliação precisa dos resultados de fertilização, porque elimina a variação de fertilidade entre as fêmeas, época do ano, práticas de gestão e habilidade inseminador (STAHLBERG *et al.*, 1998).

Entretanto, conforme mostrado na Figura 1 esta técnica não é efetiva ao avaliar a média de variação na população de machos reprodutores de uma central.

Uma comparação entre inseminações homospermicas e heterospermicas foi realizada em um estudo preliminar no Centro de Pesquisa e Tecnologia em Suínos da Universidade de Alberta (**Tabela 4**). Dois machos Duroc com um histórico de boa fertilidade e qualidade de sêmen aceitável (mais que 80% de motilidade a menos de 15% de espermatozóides morfolologicamente anormais) foram utilizados neste experimento. Ambos machos (chamados de azul e vermelho) foram avaliados através do uso do ejaculado em ‘pool’ com dois bilhões de espermatozóides por dose e após individualmente com doses homospermicas em leitoas e porcas (DYCK *et al.*, 2009). Resultados muito produtivos foram encontrados ao utilizar inseminações homospermicas, além de terem demonstrado resultados positivos também quando utilizados no ‘pool’. Houve, entretanto, uma diferença de 2,5 embriões no trigésimo dia de gestação entre estes machos, devido a 15% de diferença na taxa de fertilização e/ou sobrevivência embrionária neste estágio de prenhez. O macho azul teve excelente desempenho, mas suas características foram mascaradas pela mistura do sêmen no ‘pool’.

Tabela 4 - Comparação de dois machos férteis quando utilizados em protocolos de inseminação homospérmicos e heterospérmicos com dois bilhões de espermatozoides por dose

Variável	“Pool” de Doses	Macho Azul (Individual)	Macho Vermelho (Individual)
Número de fêmeas inseminadas	32	11	14
Taxa de ovulação*	20,3	20,7	20,3
Embriões Vivos no 30º dia de gestação*	15,2	17,7	15
Taxa de sobrevivência embrionária (%)*	75	85	75

*média de valores

Fonte: Centro de Pesquisa e Tecnologia em Suínos da Universidade de Alberta, dados não publicados, 2009.

O trabalho de Novak *et al.* (2008) destaca a dificuldade de relacionar o número de leitões nascidos com os machos usados para inseminação quando utilizado o ‘pool’ de sêmen de diferentes machos. Este estudo recente comparou o perfil da proteína do plasma seminal de dois machos com diferenças perceptíveis de fertilidade. Os resultados são mostrados na **tabela 5**. Os machos A e B tiveram parâmetros similares e aceitáveis na coleta de sêmen. Ambos foram inicialmente avaliados com doses de sêmen homospérmicas, baseados em aproximadamente 30 inseminações por macho. A taxa de parto e o tamanho da leitegada mostraram uma diferença significativa entre os dois machos. Subseqüentemente, o sêmen destes machos foi misturado com três outros machos (de um total de cinco machos) apresentando parâmetros de ejaculados comparáveis com o mesmo número de espermatozoides por macho dentro do ‘pool’.

Este ‘pool’ de sêmen resultou em 90% de taxa de parto (nove confirmações de prenhez das dez inseminações feitas), produzindo 104 leitões nascidos de nove leitegadas. Entretanto, quando o teste de paternidade foi executado utilizando 84 marcadores de polimorfismo de nucleotídeo, o macho B foi identificado como pai de 29% (31/104) dos leitões, enquanto que o macho A foi identificado como pai de apenas um único leitão (DYCK *et al.*, 2009).

Estes resultados demonstram a importância da utilização de machos em inseminações individuais a fim de evitar o uso de machos de baixa fertilidade. Portanto, o ‘pool’ de sêmen não é o único método utilizado para alcançar alto desempenho.

Tabela 5 - Comparação entre inseminações homospérmicas e heterospérmicas com machos de diferentes fertilidades relativas.

Inseminações Homospérmicas		
Variável	Macho A	Macho B
	(n=31 inseminações)	(n=27 inseminações)
Taxa de parto (%)	45	100
Média nascidos totais	9,22	12,04
Inseminações Heterospérmicas		
	(Pool de 5 machos, incluindo machos A e B)	
	n=10 inseminações	
Taxa de parto (%)	9	
Média nascidos totais	11,56	
Nº filhos (teste paternidade)	1	31

Fonte: Centro de Pesquisa e Tecnologia em Suínos da Universidade de Alberta , 2008.

4.2.1 Diferenças entre machos: padrão de fertilidade

Compensar a baixa fertilidade do macho através do aumento do número de espermatozoides por dose inseminante é outra técnica capaz de manter resultados constantes, porém possui importantes repercussões econômicas. Conforme foi discutido anteriormente, o número de espermatozoides por dose pode ser manipulado para aumentar a capacidade de fertilização dos machos, entretanto o emprego desta técnica para compensar ejaculados de baixa qualidade é questionado (FLOWERS, 2002).

Poucos espermatozoides são necessários para fertilizar os óvulos; entretanto a prática mais comum é usar doses de três bilhões de espermatozoides por dose com uma média de 2,1 doses por estro (SAFRANSKY, 2008). Ao aumentar o número de espermatozoides

geralmente há um efeito positivo no número de leitões nascidos vivos, especialmente entre 1×10^9 a 3×10^9 (FLOWERS, 2002). Este intervalo de dois bilhões mostra a diferença entre a capacidade de fertilização dos machos. Por exemplo, a **figura 2** mostra as diferentes relações entre o número de leitões nascidos vivos e o número de espermatozoides usados por inseminação de machos individuais numa central de difusão genética (FLOWERS, 2002).

O gráfico abaixo ilustra seis machos, com padrões de fertilidade individuais e que, provavelmente, refletem a variabilidade e habilidade dos espermatozoides em fertilizar os óvulos.

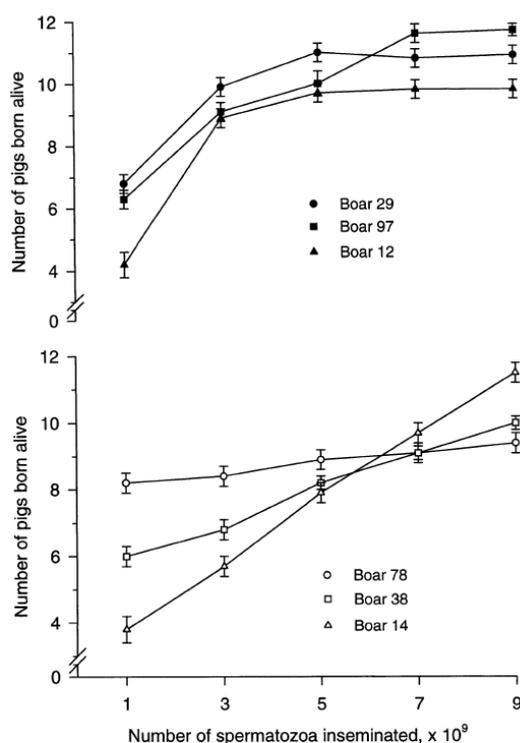


Figura 2 - Exemplos representativos de diferentes relações entre o número de leitões nascidos vivos e o número de espermatozoides por dose.

Fonte: Flowers, 2002).

O primeiro gráfico ilustra exemplos de variação entre os machos com padrões de fertilidade que alcançam um 'plateau' e o segundo gráfico mostra exemplos de variação entre machos com padrão de fertilidade lineares (FLOWERS, 2002).

Este estudo foi realizado em quatro granjas, usando duas unidades de quatro mil matrizes em cada granja, sob o mesmo manejo e avaliação de um total de 200 machos híbridos.

Vários padrões de fertilidade foram observados quando o número de espermatozóides por dose aumentou de 1×10^9 para 9×10^9 (FLOWERS, 2002). A análise de dados revelou que 133 de 200 machos apresentaram o mesmo padrão de fertilidade (platô), correspondendo ao topo da **figura 2** acima, na qual um aumento no tamanho da leitegada foi observado antes que o platô fosse atingido. O segundo tipo de padrão foi linear e observado em 32 dos 200 machos. No entanto, este padrão linear foi visto em alguns machos e o autor especula que pode ser devido ao delineamento experimental e que o seu platô pode ter atingido um patamar se mais de 9×10^9 espermatozóides forem utilizados (FLOWERS, 2002).

Salisbury; Vandermark (1961) previamente reportaram diferentes padrões de fertilidade entre machos e Flowers (2002) sugere que seria de grande valia estudar se há uma distinção entre a qualidade espermática e os dois padrões que podem estar relacionados à sua capacidade de fertilizar os óvulos, e tirou três conclusões gerais, 1) o tamanho da leitegada pode diferir entre os machos quando utilizados o mesmo número de espermatozóides por dose; 2) aumentando o número de espermatozóides por inseminação resulta em aumento no tamanho das leitegadas para alguns machos; 3) a magnitude da resposta do tamanho da leitegada quando se aumenta o número de espermatozóides por dose não é o mesmo para todos os machos (FLOWERS, 2002).

4.2.2 O efeito dominante do macho

Os resultados apresentados na **Tabela 4** mostram a importância de predizer a fertilidade individual de cada reprodutor. Alguns trabalhos sugerem que outro fenômeno afeta a fertilidade dos machos próximo ao local de fertilização. Satake *et al.* (2008) revisaram diversos artigos demonstrando que as taxas de concepção são distorcidas em favor de certos indivíduos quando se usa inseminação heterospérmica de dois ou mais machos, mesmo se um número equivalente de espermatozóides vivos sejam utilizados em bovinos (BEATTY *et al.*, 1969; BEATTY *et al.*, 1976; STEWART *et al.*, 1974), suínos (BERGER *et*

al., 1996; STAHLBERG *et al.*, 2000), coelhos (VICENTE *et al.*, 2004), sugerindo um processo de competição espermática.

Satake *et al.* (2008) relataram que o ístmo do oviduto está envolvido no armazenamento dos espermatozoides por um período indeterminado antes da fertilização (BIRKHEAD; MOLLER, 1993).

Além disso, espermatozoides retirados da reserva espermática do oviduto de diversas espécies têm mostrado, consistentemente, uma motilidade suprimida (BEDFORD; BREED, 1994; BURKMAN *et al.*, 1984; OVERSTREET; COOPER, 1975; OVERSTREET *et al.*, 1980).

Satake *et al.* (2008) também relatam que os espermatozoides reagem individualmente de forma diferente quando expostos ao bicarbonato. Um tipo de espermatozoide é ativo quando está em contato com bicarbonato, enquanto que outro tipo é inativo. Estes dois grupos constituem de 50-80% de todos os espermatozoides de um ejaculado e o restante são aparentemente insensíveis ao ambiente. Além disso, eles propõem que, mesmo se a inseminação contenha o mesmo número de espermatozoides de machos diferentes, há diferenças entre machos de acordo com a entrada dos espermatozoides no oviduto, o que também afeta a fertilidade do suíno (SATAKE *et al.*, 2008).

5 IDENTIFICANDO MACHOS DE MAIOR FERTILIDADE

5.1 Características de fertilidade do sêmen

Como mencionado anteriormente, Flowers (2002) destacou duas características básicas diretamente responsáveis pela variação na fertilidade dos machos; 1) o número de espermatozóides e 2) a proporção de espermatozóides que conseguem fertilizar o oócito com sucesso. O sêmen utilizado comercialmente deve ser de alta qualidade, mas o padrão usual de avaliação do sêmen para estimar a fertilidade não é suficientemente sensível para discriminar diferenças entre os machos (TURBA, 2007).

A fertilização envolve inúmeros passos e precisa ser atingida em um ambiente adequado. Visto que o espermatozóide tem uma longa jornada e interage em diversos níveis com o trato genital da fêmea antes de fertilizar o oócito, muitos fatores podem interferir neste processo. O primeiro passo deste processo complexo inicia na preparação do espermatozóide do ejaculado e inclui a formação espermática, transporte do sêmen e a adição dos componentes do plasma seminal das glândulas acessórias. Em seguida, dentro do trato reprodutivo da fêmea, diversos atributos do sêmen são requeridos para fertilização ter sucesso, incluindo a habilidade de sofrer capacitação, hiperativação, reação acrossomal, ligação à zona pelúcida e penetração no oócito (FOXCROFT *et al.*, 2008).

Avaliar os fatores que determinam a capacidade de fertilização do macho é crucial e, além disso, obviamente, a capacidade do oócito de ser fertilizado. Entretanto, ainda não se sabe se estas técnicas são efetivas ao predizerem fertilidade ou subfertilidade de ejaculados que, no laboratório, atendem às exigências de qualidade (FOXCROFT *et al.*, 2008). Além disso, Rodriguez – Martinez (2003) afirmou que é necessário testar todos os atributos dos espermatozóides dentro de uma grande e heterogênea população que potencialmente afeta a fertilização e o desenvolvimento embrionário. Braundmeier; Miller (2001) sugeriram que um pequeno número de espermatozóides, mesmo um único pode fertilizar um oócito *in vivo* e que espermatozóides altamente selecionados podem afetar a fertilização e podem não representar a média dos espermatozóides avaliados na coleta. Por conseguinte, o objetivo mais importante é encontrar um teste, ou uma combinação destes, que precisamente identifiquem o potencial de fertilidade de uma amostra de sêmen (FOXCROFT *et al.*, 2008).

Assim, características até então discriminadas do sêmen precisam ser identificadas afim de melhor prever a fertilidade (TURBA, 2007). A qualidade do espermatozóide pode

ser estimada de várias formas, pela observação de características físicas e bioquímicas (FLOWERS, 2002).

Braundmeier; Miller (2001) descreveram duas diferentes características do sêmen que afetam a fertilidade; as características compensáveis são aquelas que podem compensar a baixa fertilidade pelo uso de um grande número de espermatozóides durante a inseminação e as características não-compensáveis são aquelas que não podem ser superadas pelo número de espermatozóides consistindo no potencial de fertilização dos espermatozóides. As características compensáveis são avaliadas de acordo com critérios macroscópicos e microscópicos.

Avaliações microscópicas do sêmen incluem cor, odor, volume, concentração, pH, além de avaliações morfológicas e de motilidade. A motilidade favorece a habilidade do espermatozóide em viajar no trato reprodutivo da fêmea. Problemas morfológicos e de motilidade afetarão o número de espermatozóides capazes de alcançar o oócito e a avaliação leva em conta a porcentagem de espermatozóides vivos, mortos ou imóveis, sua capacidade de movimentação rápida e a sua progressão linear. O exame de morfologia deve identificar no mínimo 70% de espermatozóides morfológicamente normais (DEJARNETTE, 2005).

A maioria das anormalidades é encontrada na cabeça, peça intermediária, cauda além da presença da gota citoplasmática (PARKINSON, 2004). Entretanto, o uso de um grande número de espermatozóides por dose durante a inseminação pode minimizar o impacto, através das características compensáveis. As características não-compensáveis afetam o percentual de fertilização de uma amostra e não pode ser compensada pelo aumento dos espermatozóides por dose. A avaliação da estrutura espermática envolve dois aspectos principais: a integridade da membrana envolvida na capacitação espermática e na interação do oócito, e a integridade da cromatina, que é crucial para um desenvolvimento embrionário normal (RODRIGUEZ, 2003).

5.1.1 Características compensáveis

Um espermograma inclui uma análise imediata do volume do ejaculado, concentração espermática, motilidade, morfologia e a presença de células estranhas (RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2003). O exame de motilidade executado por um técnico com experiência é um método rápido, simples e barato, porém subjetivo. O uso da análise

computadorizada através do ‘computer-assisted semen analysis’ (CASA) é uma alternativa mais objetiva para medir a motilidade (DEJARNETTE, 2005).

Entretanto, o percentual de espermatozóides móveis apenas fornece uma estimativa qualitativa e é útil apenas para identificar machos com baixo desempenho reprodutivo com menos de 60% de espermatozóides móveis (FLOWERS, 1997, citado por DYCK *et al.*, 2009). A correlação entre motilidade e fertilidade é bastante baixa e apresenta uma enorme variação (RODRIGUEZ, 2003). Nenhuma correlação tem sido encontrada entre motilidade e tamanho de leitegada, usando dois ou três bilhões de espermatozóides por dose para inseminar fêmeas desmamadas (XU *et al.*, 1998).

A **tabela 6** apresenta dados provenientes de um estudo realizado pela Hypor, utilizando aproximadamente 371 machos e 4200 fêmeas inseminadas e mostra a variação na motilidade e sua relação com a taxa de concepção, nascidos totais e nascidos vivos como parâmetros de fertilidade. Apesar de um importante decréscimo na motilidade, os machos apresentaram resultados semelhantes para todos os parâmetros, mostrando baixa correlação entre motilidade e fertilidade.

Tabela 6 - Dados de motilidade espermática de sêmen diluído de machos comerciais

Landrace utilizados em inseminações únicas com três bilhões de espermatozóides por dose.

Número Machos	Taxa de Concepção	Nascidos Totais	Nascidos Vivos
102	96,44	11,88	10,84
154	95,21	11,85	10,78
101	93,34	11,81	10,83
14	96,56	11,22	10,28

Fonte: comunicado pela Hypor.

Tardif *et al.* (1999) compararam doses inseminantes com 3×10^9 e $0,3 \times 10^9$ espermatozóides por dose inseminante usadas dentro de 12 a 36 horas após coleta. O percentual de espermatozóides com motilidade normal foi positivamente correlacionado com a taxa de parto ($r=0.783$, $P=0.01$) Além do mais, Ruiz-Sanchez *et al.* (2006) avaliaram a motilidade do sêmen diluído nos dias três, sete e dez, e encontraram diferenças ($P <$

0.0001) entre os nove machos usados no número total de espermatozóides por ejaculado e o percentual de espermatozóides com motilidade progressiva.

Estes machos foram também utilizados para inseminar leitoas com doses de $1,5 \times 10^9$ de concentração, afetando significativamente o tamanho da leitegada. Este resultado indica que a motilidade espermática pode ser útil como indicador de capacidade de fertilização *in vivo*. Entretanto, é crítico utilizar a motilidade espermática para predizer a fertilidade, uma vez que o número de espermatozóides utilizados na inseminação é alto, sugerindo, mais uma vez, que o uso de alto número de espermatozóides por dose pode mascarar o potencial de fertilidade dos machos (DYCK *et al.*, 2009).

5.1.2 Características não-compensáveis

Inúmeros testes para avaliação da membrana plasmática e a integridade da cromatina estão disponíveis, tais como: ‘hypo-osmotic swelling test’ (HOST), ensaios com penetração de corantes e uso de corantes fluorescentes, ‘sperm chromatin structure assay’ (SCSA) ou ensaio para avaliação da estrutura da cromatina e eletroforese em gel para acessar a integridade da cromatina (RODRIGUEZ - MARTINEZ, 2003). Além do mais, ensaios que avaliam a funcionalidade existem para determinar a habilidade do espermatozóide em atingir as etapas do processo de fertilização e o desenvolvimento precoce do embrião.

Entretanto, encontrar um teste laboratorial que seja capaz de predizer o potencial de fertilidade *in vivo* de uma amostra, ainda é utopia, como indicado pelas correlações obtidas de testes *in vivo* e *in vitro* (RODRIGUEZ - MARTINEZ, 2003). Entretanto, a habilidade de procurar uma variação molecular permite um contínuo desenvolvimento na seleção de machos. Uma ferramenta molecular utilizada, o marcador de seleção, do inglês ‘marker assisted selection’ (MAS), requer o conhecimento de uma associação de marcadores genéticos e variações em fenótipos (SAFRANSKI, 2008). Dyck *et al.* (2009) relataram que Sutovsky (2008) apresentou marcadores moleculares presentes em espermatozóides defeituosos.

Em contraste com outras técnicas de avaliação espermática, este método não é afetado pelo dano causado durante a coleta, processamento ou preservação do sêmen. Tecnologias moleculares são úteis para encontrar informações sobre os animais no nascimento para diferentes características que podem ser mensuradas em estágio posterior

na vida do animal como reprodução, tamanho de leitegada, longevidade e resistência a doenças (SAFRANSKI, 2008).

6 TECNOLOGIA NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL: COMO PODEMOS REDUZIR O NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES POR DOSE SEM TER PREJUÍZO?

A inseminação artificial evoluiu de forma substancial nos últimos 15 anos na maioria dos países (MARTINEZ *et al.*, 2005). Na América do Norte e Brasil, cerca de 75% das leitoas e porcas são inseminadas e na Europa, mais de 80% das fêmeas (ROCA *et al.*, 2006).

Técnicas de inseminação artificial e o desenvolvimento de diluentes para conservação das doses, além de métodos para sincronizar o tempo de ovulação contribuíram para a diminuição do número de espermatozóides por IA com a manutenção dos resultados de fertilidade.

6.1 Técnicas de Inseminação Artificial

Uma pesquisa objetivou determinar o melhor local para deposição da dose inseminante com o uso de menor concentração de espermatozóides por estro, com manutenção de resultados aceitáveis. Procedimentos recentes indicam a inseminação intra-cervical como um método barato que envolvem a deposição de um grande número de espermatozóides em menor volume de diluente na porção posterior da cérvix com um cateter. (ROCA *et al.*, 2006), geralmente 2,5 a quatro bilhões de espermatozóides por dose inseminante num volume de 70 a 100 ml de diluente (MARTINEZ *et al.*, 2005). Como mencionado anteriormente, uma média de 2,1 doses por estro são utilizadas (SAFRANSKY, 2008), contabilizando cinco a 8,5 bilhões de espermatozóides por fêmea por estro. Esta técnica reduz a eficiência da utilização dos machos limitando o número de doses que podem ser preparadas com um ejaculado (MARTINEZ *et al.*, 2005) e então o impacto dos machos com mérito genético na eficiência da produção.

Existem dois novos procedimentos de inseminação que diminuem o número de espermatozóides por dose e que ainda mantém taxas de parto e tamanho de leitegada aceitáveis. Estas são a inseminação intra-uterina (IIU) e inseminação intra-uterina profunda (IIUP). Ambas as técnicas envolvem penetração na cérvix para deposição da dose no útero. Na IIU há deposição do sêmen no corpo uterino, enquanto que a IIUP utiliza um cateter

flexível e fino que deposita o sêmen no terço anterior de um dos cornos uterinos. Ambos os métodos reduzem o refluxo de sêmen para menos de 20% (ROCA *et al.*, 2006).

Entretanto, existe muita controvérsia sobre os resultados destas técnicas. A IIU foi testada em condições comerciais num grande rebanho por Watson; Behan (2002) no Reino Unido. Eles compararam a inseminação intracervical com a IIU, utilizando três, dois e um bilhão de espermatozóides por dose e com um intervalo de 24 horas entre as inseminações. Quando utilizada inseminação com um bilhão de espermatozóides, a taxa de parto e o tamanho de leitegada foram significativos. A taxa de parto para IIU foi de 90.5, 90.5 e 86.9; e 12.3, 12.3 e 10.1 nascidos vivos com três, dois e um bilhão de espermatozóides, respectivamente (WATSON; BEHAN, 2002). Os autores concluem que a IIU na porca é simples, efetiva e segura, além de permitir a redução dos espermatozóides por dose para um bilhão de espermatozóides sem perda significativa (WATSON; BEHAN, 2002).

Outro estudo realizado no Brasil trouxe interessantes resultados não apenas sobre o desempenho da IIU, mas também em relação à fertilidade de quatro diferentes machos. A técnica de IIU foi usada em três grupos de porcas com doses de 0.25, 0.5 e um bilhão de espermatozóides, com um total de 211 fêmeas inseminadas 25.3 ± 4.9 horas após o início do estro. Este estudo avaliou os efeitos das doses inseminantes e do refluxo das mesmas em relação à taxa de parto e o número de embriões. Os resultados (ilustrados na **Tabela 7**) para taxa de parto mostraram que não houve diferença entre os tratamentos (MEZALIRA *et al.*, 2005).

Tabela 7 - Taxa de prenhez de acordo com os machos utilizados através de inseminações Intrauterinas.

Tratamentos	Machos								Média
	A		B		C		D		
	n	TP	n	TP	n	TP	n	TP	
T1 (0,25 X 10 ⁹)	30	80,0 ^a	7	85,7 ^a	23	95,6 ^a	10	20,0 ^b	77,1 ^A
T1 (0,5 X 10 ⁹)	24	79,2 ^{ab}	9	100,0 ^{ab}	27	96,3 ^a	9	55,6 ^b	85,5 ^A
T1 (1,0 X 10 ⁹)	28	82,1 ^{ab}	8	87,7 ^{ab}	26	96,1 ^a	10	60,0 ^b	84,7 ^A

^{ab}Valores na linha diferem (p<0,05)

Não há diferença entre os tratamentos entre os machos (p>0,05)

^AValores na coluna não diferem entre si (p>0,05)

Fonte: Mezalira *et al.*, 2005).

Entretanto, estes resultados não refletem necessariamente os dados obtidos em diferentes propriedades. Vasquez *et al.*, (2008) relataram que em um trabalho realizado em 2005 na Hungria e Croácia, taxas de parto similares foram encontradas (88,1 e 87,8%) para inseminação tradicional e IIU, respectivamente. No entanto, porcas inseminadas com IIU com um bilhão de espermatozóides tiveram uma redução significativa no tamanho da leitegada (12,3 vs 10,2), confirmando os resultados de Watson e Behan (2002). Além disso, resultados semelhantes foram encontrados por Rozeboom *et al.* (2004) que utilizou um bilhão de espermatozóides com IIU e relatou uma taxa de parto de 87% e tamanho de leitegada de dez nascidos totais.

Entretanto, reduzir a concentração da dose para 0,5 bilhões de espermatozóides por IIU, reduz a taxa de parto para 78% e o tamanho da leitegada para 9,4 leitões. Estes estudos demonstram que é possível usar a técnica de IIU com um bilhão de espermatozóides e atingir um desempenho reprodutivo aceitável.

A técnica de IIUP pode depositar sêmen de oito a 55 cm da junção útero-tubárica (MARTINEZ *et al.*, 2002) que permite baixar ainda mais o número de espermatozóides por dose. MARTINEZ *et al.* (2001) demonstraram que quando comparadas à inseminação tradicional (três bilhões de espermatozóides em 80 a 100 ml de diluente), a IIUP pode reduzir o número de espermatozóides em 20 vezes, e no mínimo de oito a 20 vezes no volume da dose sem afetar a fertilidade em fêmeas desmamadas. Embora a IIUP seja

realizada apenas em um corno uterino, os espermatozóides são capazes de alcançar o oviduto contralateral e fertilizar grande parte dos oócitos (MARTINEZ *et al.*, 2005). Entretanto, de acordo com Vasquez *et al.* (2008), baseados em resultados preliminares, não foram observadas inseminações unilaterais ou bilaterais quando 600×10^6 foram utilizados. Apesar da capacidade da IIUP diminuir o número de espermatozóides por dose, os resultados comerciais em programas de inseminação mostraram baixo desempenho na fertilidade.

Vasquez *et al.* (2008), relataram resultados do primeiro teste realizado na Espanha e Estados Unidos, utilizando concentração de 150×10^6 e tamanho de leitegada reduzido em 1,2 leitões no teste realizado na Espanha e 2,4 comparando com as fêmeas controle utilizadas no teste realizado nos Estados Unidos. Esta redução na fertilidade representa uma perda no potencial econômico que deve ser levada em conta quando este modelo de inseminação for utilizado a campo (VASQUEZ *et al.*, 2008).

Os resultados da aplicação destas duas tecnologias apresentam grande variação de acordo com diferentes estudos. A tecnologia varia entre os países e também dentro de um mesmo país (VASQUEZ *et al.*, 2008), e é importante considerar os fatores que causam variação entre os estudos. O fator mais importante é manter o manejo apropriado e a técnica de inseminação usando cateter semi-rígido minimizando a incidência de danos cervicais e uterinos (VASQUEZ *et al.*, 2008).

Entretanto é crucial lembrar que pesquisas a campo em rebanhos muito bem manejados atingem alta taxa de parto e tamanho de leitegada usando inseminação tradicional com apenas 1,5 bilhões de espermatozóides por dose e estão se tornando cada vez mais populares (MARTINEZ *et al.*, 2005). Estes resultados podem ser extraídos devido ao excelente manejo, mas também, a excelente fertilidade dos machos.

6.2 Tipo de sêmen usado

Sêmen resfriado ou congelado pode ser usado e produzem diferentes resultados. Noventa e nove por cento das inseminações realizadas no mundo são com sêmen resfriado, diluído em estado líquido e estocado de 15° a 20° C por três dias. Os resultados de taxas de parto e tamanho das leitegadas são comparáveis com a monta natural (ROCA, 2006). Sêmen congelado, após descongelamento, não é utilizado nas Centrais de Inseminação comerciais

por não ser rentável em comparação com o sêmen resfriado (MARTINEZ *et al.*, 2005). Dependendo do tipo de sêmen utilizado, a dose pode variar de $2,5 \times 10^9$ para sêmen resfriado a 5×10^9 ou 6×10^9 para sêmen congelado (ROCA *et al.*, 2006).

Os ganhos em fertilidade com a utilização do sêmen congelado são inferiores aos obtidos com o sêmen resfriado, aproximadamente 70% de taxa de parto, mesmo em condições ideais de inseminação (ROCA *et al.*, 2006), e tamanho de leitegada de aproximadamente dois a três leitões (MARTINEZ *et al.*, 2005). Entretanto, ao utilizar IIUP pode-se aumentar a eficiência do sêmen congelado e atingir bons resultados de fertilidade com 1×10^9 ou 2×10^9 espermatozóides por dose (ROCA *et al.*, 2006). No entanto, IIUP não é uma prática comum em granjas comerciais; ao aumentar o número de espermatozóides por dose quando se utiliza o sêmen congelado em vez da inseminação tradicional com sêmen resfriado, não contribui para o atual objetivo de reduzir o número de espermatozóides por fêmea inseminada.

6.3 Protocolo de inseminação

Diferentes protocolos de inseminação têm sido criados para adaptação a grande variação na duração do estro e no tempo da ovulação após o início do mesmo (ALMEIDA *et al.*, 2000). Estes protocolos programam a sincronização da inseminação com o momento da ovulação através do tratamento com hormônios exógenos, os quais permitem inseminações com um baixo número de espermatozóides por doses, tanto em matrizes quanto leitões.

6.3.1 Sincronização do estro

Tratamento com Altrenogest é utilizado com o objetivo de sincronizar o ciclo das fêmeas. Trata-se de um esteróide sintético com atividade progestática que adia o início da fase folicular. Este progestágeno pode ser usado para sincronizar leitões que estão em fase do ciclo estral desconhecida e de acordo com alguns autores, este hormônio ainda aumenta a taxa de ovulação (SOEDE *et al.*, 2007). Além do mais, o tratamento com Altrenogest resulta no aumento de tamanho dos folículos após a regressão do corpo lúteo (SOEDE *et al.*, 2007).

6.3.2 Indução da ovulação

Diferentes gonadotrofinas vem sendo utilizadas com o intuito de sincronizar estro e ovulação. O estro é induzido com uma injeção de 500 a 750 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (Folligon, Intervet) ou uma combinação de 400 UI de ECG e 200 UI de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) (PG600®, Intervet). Lucia *et al.* (1999) mostraram que o uso de eCG após o desmame foi associado à predição mais precisa da duração do estro em função do IDE e permite a otimização do protocolo de inseminação.

Além do que, a aplicação de eCG ou em combinação com hCG (PG600), tem sido utilizadas para estimular o crescimento com o objetivo de aumentar a taxa de ovulação em leitoas (ESTIENNE *et al.*, 2001). O uso do PG600 encurtou o IDE (PATTERSON *et al.*, 2008) e também produz uma melhor resposta ao estro e ovulação em leitoas (MAJARIN *et al.*, 2009). Embora eCG e PG600 sejam eficientes na indução do estro, Knox *et al.* (2001) concluíram que o PG600 aumenta a expressão do estro e ovulação em fêmeas desmamadas, mas não permite uma acurácia no tempo de ovulação.

Uma sincronização ideal pode ser alcançada ao controlar o momento da onda de LH e então utilizar inseminação artificial em tempo fixo. A administração tanto de hormônios análogos ao liberador de gonadotrofinas (GnRH), do inglês, ‘gonadotropin releasing hormone’, hCG ou pLH (hormônio luteinizante porcino), mesmo em inseminação artificial em tempo fixo após o desmame ou no início dos sinais comportamentais de estro, poderá fazer com que os folículos ovulem previsivelmente e permitindo o uso da inseminação em tempo fixo, segundo Zak *et al.*, (2007, Leman Conference).

Em estudos canadenses, o hormônio luteinizante porcino (pLH; Lutropin®, Bioniche Animal Health) tem sido utilizado no início do estro para induzir a ovulação. Agindo de forma similar ao GnRH, o pLH causa ovulação em 36-40 horas após sua aplicação em porcas e leitoas. Diferentes doses de pLH tem sido avaliadas (cinco miligramas: Cassar *et al.* 2005; 2,5 mg: Bennett-Steward *et al.*, 2007) com ou sem tratamento prévio com eCG (Zak *et al.*, 2007, Leman conference).

Os protocolos existentes utilizados para IA em tempo fixo foram baseados em um protocolo desenvolvido por Huhn *et al.* em 1996 na Alemanha. O protocolo destes autores consistiu na aplicação de 20 mg de Altrenogest por 15 dias consecutivos junto com uma pequena quantidade de ração antes do arraçoamento da manhã para garantir a ingesta. Vinte e quatro horas depois da última dose de Altrenogest, eCG foi administrado (600 a 800 UI,

intramuscular), seguido de uma combinação de hCG/GnRH administrados 78 a 80 horas após o tratamento com eCG para engatilhar a ovulação em tempo fixo (HUHN *et al.*, 1996).

Cassar *et al.* (2005) estudou o efeito do eCG, pLH e eCG combinado com pLH com duas inseminações comparados com o uso de eCG combinado com pLH com apenas uma inseminação em fêmeas desmamadas. Usando 600 IU de eCG ao desmame, seguido da aplicação de cinco miligramas de pLH 80 horas após, realizou uma única IA em tempo fixo 36 horas após em comparação com duas inseminações, uma na hora 36 e outra na hora 44 após a aplicação do pLH. Taxas de parto maiores foram encontradas em fêmeas tratadas com a combinação de eCG e pLH em ambos protocolos em comparação com fêmeas que não receberam a dose de pLH e tratadas somente com eCG (**Tabela 8**) (CASSAR *et al.*, 2005).

Tabela 8 – Fertilidade das fêmeas para inseminações com um ou duas doses em estro induzido por gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) com ou sem indução por hormônio luteinizante porcino (pLH).

Variável	Controle	eCG	pLH	eCG+pLH2	eCG+pLH1
Fêmeas	131	111	113	110	102
desmamadas					
Tamanho	8,6 ± 2,0	8,2 ± 2,2	8,4 ± 1,9	8,2 ± 2,1	8,6 ± 2,1
Desmamados					
Nº fêmeas	119 (90,8)	103 (92,8)	103 (91,2)	103 (93,6)	102 (100)
inseminadas (%IA)					
Fêmeas	65,6	68,5	75,2 ^a	80,9 ^c	89,2 ^c
preñhes/desmamadas (%) ²					
Fêmeas	72,3	73,8	82,5 ^a	86,4 ^c	89,2 ^c
preñhes/inseminadas (%) ³					
Taxa de parto (%) ⁴	68,7	69	81,4 ^b	84,2 ^c	86,1 ^c
Tamanho de leitegada (total) ⁵	11,1 ± 2,6	10,7 ± 3,2	10,3 ± 3,3	10,3 ± 3,1	10,6 ± 3,5
(±SE)					
Média Parição ⁶	7,2 ± 4,8	6,7 ± 4,5	7,2 ± 4,8	7,8 ± 5	8 ± 4,5
(±SE)					

¹eCG injetado ao desmame, pLH aplicado 80 horas após. Controles não receberam hormônio. Duas IA foram realizadas (manhã e tarde) no 5º dia pós-desmame (grupo controle e eCG) ou 36 e 44 horas após pLH (pLJ e eCG + grupo pLH2), e IA única 36 horas após pLH (eCG+ grupo pLH1).

²Fêmeas preñhes, 30 dias pós inseminação, baseado no número de desmamadas ($X^2_4 = 18,5$ P=0,001).

³Fêmeas preñhes, 30 dias pós inseminação, baseado no número de inseminadas ($X^2_4 = 13,8$ P=0,01).

⁴Taxa de parto ajustada, excluindo fêmeas descartadas ($X^2_4 = 15,8$ P=0,003).

⁵Nascidos vivos + natimortos ±SE ($F_{4,394} = 0,87$, P = .48).

⁶±SE ($F_{4,564} = 1,25$, P = .29).

^{a,b,c} Média dentro da mesma linha difere do controle: a, P<.1; b,<.05; c, P<.01)

Fonte: Cassar *et al.*, 2005.

Conforme discutido por Zak *et al.* (2007) e realizado por Candini *et al.* (2004) também foram comparadas a eficácia de inseminações em tempo fixo únicas ou duplas em fêmeas desmamadas. As fêmeas receberam 600 UI de eCG ao desmame e após 72 horas cinco miligramas de pLH e inseminadas em 24 horas, ou 24 e 32 horas, após a aplicação do pLH. O grupo em tratamento foi comparado com um grupo que não recebeu o tratamento e

que recebeu três inseminações e a taxa de parto foi a mesma do grupo tratado e que recebeu duas inseminações em tempo fixo. Entretanto, uma única inseminação em tempo fixo resultou em baixa taxa de parto. Estes dados indicam que em, no mínimo, algumas unidades o uso de um protocolo a base de pLH é compatível com uma única IA em tempo fixo (ZAK *et al.*, 2007).

Entretanto, muito ainda deve ser pesquisado e melhorado para utilização destas novas tecnologias. Existe uma grande variação na aplicação dos protocolos de IA tanto em relação ao tipo de pipeta utilizada, o número de espermatozóides por dose, os hormônios exógenos utilizados, o intervalo entre a aplicação hormonal e a IA, o número de doses por fêmea e finalmente, os resultados reprodutivos.

Além disso, Levis (2007) sugeriu que a decisão em adotar ou não uma nova tecnologia não deve ser baseada em apenas uma característica, como a taxa de parto ou tamanho de leitegada, e sim em um índice de fecundidade (taxa de parto X tamanho de leitegada), proporcionando uma estimativa mais confiável para determinar o uso da IIU.

Ao comparar 12 diferentes testes realizados, Levis (2007) concluiu que apenas em quatro experimentos houve um aumento no índice de fecundidade em fêmeas que foram inseminadas com IIU. Eliminando o fator relacionado à fêmea no que diz respeito ao momento da ovulação através do uso de diferentes protocolos, seria possível não apenas reduzir o número de espermatozóides por dose, mas também utilizar-se este método para acessar a fertilidade dos machos individualmente.

7 QUAL O PREÇO PARA ALCANÇAR MELHORES PERFORMANCES REPRODUTIVAS?

7.1 Qual o impacto econômico da IA em tempo fixo e a frequência das inseminações?

A quantidade e a qualidade do sêmen são os dois principais fatores que afetam o número de doses produzidas e também influenciam no custo da IA (FLOWERS, 2008). As centrais de difusão genética ou centrais de inseminação oferecem uma variedade de linhagens genéticas, assim como animais puros de diferentes origens, a valores que variam de \$ 3.50 a \$ 30.00 por dose (heterospérmicas com o “pool” de sêmen de diferentes machos) e doses homospérmicas (machos individuais) que podem variar de \$ 20.00 a \$ 250.00 (ROZEBOOM, Online).

Diferentes protocolos de IA em tempo fixo podem ser usados em granjas com taxas de parto inferiores para determinar se o momento da IA é um problema ou pode ser usado na rotina para reduzir mão-de-obra e custos com IA (ZAK *et al.*, 2007 Leman Conference).

Ao inseminar as fêmeas apenas duas vezes em vez de uma por dia de estro, Levis mostrou que há uma importante diferença no custo da inseminação. Ao aumentar o uso de doses por fêmea, não necessariamente ocorre uma melhora na taxa de parto e tamanho de leitegada para um nível em que se obtenha lucro; uma vez que inseminações adicionais representam custo (LEVIS, 2007b). Ao utilizar dados de Flowers; Esbenshade (1993), em um estudo que avaliou inseminações cervicais com cinco bilhões de espermatozóides (**Tabela 9**), Levis (2007b) gerou a seguinte **tabela 10**.

Tabela 9 – Influência do número de inseminações na taxa de parto, tamanho de leitegada e estimativa de lucratividade (utilizando taxa de parto e tamanho de leitegada da **tabela 8**).

Itens	Cenário 1	Cenário 2	Cenário 3
	2 doses	3 doses	4 doses
Intervalo entre partos (dias)	7	7	7
Número de gaiolas de parição por grupo	52	52	52
Média taxa parto/ano (%)	85,7%	87,5%	88,7%
Média vivos por leitegada	8,7	8,9	9,2
Morte pré-desmame (%)	10%	10%	10%
Custo cada pipeta ao ano(\$)	\$0,17	\$0,17	\$0,17
Tempo por IA	4	4	4
Custo por hora por IA (\$)	\$10	\$10	\$10
Nº células espermáticas por dose	5	5	5
Volume dose (mL)	90	90	90
Custo da IA por dose	\$6	\$6	\$6
Nº IA/fêmea/estro	2	3	4
Lucro por leitão/cabeça*	\$9,86	\$10,4	\$10
Cálculos			
Nº partos/ano	52,1	52,1	52,1
Nº fêmeas inseminadas por grupo	60,7	59,4	58,6
Total fêmeas inseminadas ao ano	3164	3099	3057
Total inseminações por ano	6328	9296	12227
Custo pipetas por ano (\$)	\$ 1076	\$ 1580	\$ 2079
Custo mão-de-obra por ano (\$)	\$ 4218	\$ 6198	\$ 8152
Custo sêmen por ano (\$)	\$ 37966	\$ 55778	\$ 73364
Custo total pipetas, sêmen e mão-de-obra por ano (\$)	\$ 43261	\$ 63556	\$ 83595
Leitões desmamados por ano	21230	21719	22451
Ganho total	\$ 209333	\$ 225873	\$ 224506
Lucro Total (-custo pipeta, mão-de-obra e sêmen)	\$ 166072	\$ 162317	\$ 140912
Cenário 1 menos Cenário 2	\$ 3775	- 488	-
Cenário 1 menos Cenário 3	\$ 25161	- 1220	-
Cenário 2 menos Cenário 3	\$21.405	- 732	-

*Valor gerado pelo modelo simulador de desmame segregado (sem custo de pipetas, mão-de-obra e sêmen).

Fonte: Levis, 2007b)

Este estudo mostra o quanto pode ser economizado quando se utiliza menos doses por fêmea. Quanto mais seria economizado se o número de espermatozóides por dose também fosse diminuído?

7.2 Qual a diferença econômica ao utilizar inseminações cervicais e intrauterinas?

Um estudo comparando a inseminação cervical com a intrauterina demonstrou que o custo por dose de sêmen pode ser um aspecto econômico crítico (LEVIS, 2007). Levis (2007) também utilizou dados publicados por Gil *et al.* (2002) e mostrou importantes perdas em oito de dez experimentos que envolvem o número de espermatozóides por dose, representando perda de \$ 615 a \$ 79693 para IIU. Ao considerar o preço da dose inseminante em \$ 3,00 para inseminações IIU (doses de 0,5 a 1,5 bilhões de espermatozóides) e \$ 6,00 para doses cervicais (três bilhões), sete de dez experimentos apresentaram vantagens na utilização de IIU de \$ 3066 a \$ 51078. Além do mais, utilizando dados de Watson; Behan (2002), Levis (2007a) determinou que o custo do sêmen para IIU deve ser em \$1.00 ou menos por dose para produzir o mesmo anual da inseminação cervical.

7.3 Qual o impacto econômico ao reduzir o número de espermatozóides por dose inseminante?

Conforme mencionado anteriormente, a IIU permite o uso de menos espermatozóides por dose. Uma dose com menos espermatozóides traz mais lucro às centrais de inseminação artificial e oferece a oportunidade de usar com mais frequência machos de melhor qualidade (ALM *et al.*, 2006). O número de doses pode aumentar 50% quando a concentração da dose inseminante diminui de três para dois bilhões de espermatozóides (ALM *et al.*, 2006). Conforme discutido por Alm *et al.* (2006), a qualidade do sêmen torna-se mais importante quando há redução no número de doses; deficiências morfológicas podem ser compensadas pelo grande número de espermatozóides utilizados, levando ao decréscimo das taxas de fertilidade e tamanho das leitegadas (ALTHOUSE 1997; JOHNSON 1997; ALTHOUSE *et al.* 1998; SAACKE *et al.*, 2000).

Esta é a razão pela qual Alm *et al.* (2006) recomendaram que doses de sêmen homospermicas utilizadas em circunstâncias comerciais contenham não menos de três bilhões de espermatozóides por dose, ressaltando, mais uma vez, que ao utilizar doses com

menor quantidade de espermatozoides, a fertilidade individual dos machos deve ser comprovada.

7.4 Qual o preço do sêmen de machos de alto mérito genético?

Diversos fatores precisam ser levados em consideração quando o número de espermatozoides por dose é reduzido. Em primeiro lugar está a fertilidade dos machos; um macho individualmente tem capacidade para fertilizar e manter resultados de reprodução adequados? Segundo lugar, o macho tem mérito genético? Qual será o preço deste sêmen? É importante lembrar que o preço é uma combinação de diversos fatores: custo genético, número de espermatozoides por dose, despesas gerais de custo e benefícios (LEVIS, 2007).

A vantagem de produzir machos de alto valor genético não está só no fato de produzir mais leitões por ano, mas também um decréscimo nos custos com manejo. Ao aumentar a fertilidade e o mérito genético dos machos usados para IA pode ser possível diminuir os custos com alojamento destes animais, mão-de-obra e o custo do processamento do sêmen assim como utilizar todo o potencial das técnicas de IA.

Ao utilizar os alvos de produção do mercado americano de carne suína, cerca de 100×10^6 leitões produzidos por ano, Safranski (2008) calculou o número de machos necessários e a progênie gerada por eles para alcançar esta meta. Os cálculos assumem uma taxa de parto de 85%, nove leitões desmamados por leitegada e 95% de sobrevivência pós-desmame, uma média de 2,1 doses inseminadas por fêmea/estro e cada macho produzindo 72,8 ejaculados por ano baseado em dados apresentados na Boar Stud Manager Conference em 2004 (SAFRANSKI, 2008). A **tabela 11** apresenta a diferença entre macho/fêmea em relação aos índices reprodutivos. A IIU foi calculada com base em três bilhões de espermatozoides por dose, em três inseminações por fêmea, e a IIU, 150×10^6 por dose com apenas uma única inseminação.

Atualmente, nas Centrais de Inseminação Artificial dos Estados Unidos existem cerca de 20 mil machos reprodutores. A **tabela 11** mostra os cálculos realizados para estimar quantos machos são necessários para produzir 100×10^6 suínos ao ano. Safranski (2008) levou em consideração uma média de reprodutores na CIA produzindo 8398 suínos ao ano utilizando técnicas tradicionais de IA e determinou o impacto ao dobrar a produtividade em relação aos custos com instalações, mão-de-obra para as coletas, assim como limpeza de equipamentos e outros custos de produção, representando uma economia de \$ 1.423,81 ao ano (**Tabela 12**).

Tabela 10. Cálculo do valor estimado de machos necessários e da progênie gerada por macho ao ano para produzir 100×10^6 suínos/ano.

	Relação macho:fêmea	Nº machos necessários	Progênie (macho/ano)
Monta natural	1:20	33077	3023
IA	1:150	11908	8398
IIU	1:450	3961	25246
IIUP	1:3000	595	168067

Fonte: adaptado de Safranski, 2008).

Tabela 11. Cálculo do custo alojamento, mão-de-obra para coleta e processamento, limpeza de equipamentos.

	Equações	Referências
Custo de alojamento	\$ 3/dia X 365 dias = \$ 1095	SAFRANSKI, 2008
Custo com mão-de-obra, processamento e limpeza	21,1 minutos X \$ 10/h = \$ 3,52/coleta X 1,4 coletas/semana = \$ 256,01	FLOWERS <i>et al.</i> , 1992 SAFRANSKI, 2006

Fonte: adaptado de Safranski, 2008)

7.5 Como estimar o número de machos necessários em uma granja de 10 mil matrizes?

Conforme revisão bibliográfica, um suíno reprodutor pode produzir de 10 a 100 bilhões de espermatozóides por ejaculado. Quando os machos são coletados apenas duas vezes por semana, aproximadamente 50 bilhões de espermatozóides são coletados por ejaculado. Machos que são coletados apenas uma vez a cada duas semanas aumentam a sua concentração espermática para 100 bilhões de espermatozóides por ejaculado (KNOX, Online).

Levando em conta que um macho pode produzir em média 50 bilhões de espermatozóides por ejaculado e produzindo doses homospérmicas; quantos machos são necessários para suprir as inseminações de uma granja de 10 mil matrizes, utilizando duas diferentes técnicas de IA (tradicional e IIU) e três diferentes concentrações por dose (1, 2 e 3 bilhões de espermatozóides)?

Ejaculado: 50 bilhões de espermatozóides viáveis**Utilizando 3 bilhões de espermatozóides por dose:**

50 bilhões por ejaculado/ 3 bilhões por dose = 16 doses

16 doses / **3 IA (doses)** por fêmea = 5,33 fêmeas por ejaculado

16 doses / **2 IA (doses)** por fêmea = 8 fêmeas por ejaculado

16 doses / **1 IIU (dose)** por fêmea = 16 fêmeas por ejaculado

Utilizando 2 bilhões de espermatozóides por dose:

50 bilhões por ejaculado/ 2 bilhões por dose = 25 doses

25 doses / **3 IA (doses)** por fêmea = 8,33 fêmeas por ejaculado

25 doses / **2 IA (doses)** por fêmea = 12,5 fêmeas por ejaculado

25 doses / **1 IIU (dose)** por fêmea = 25 fêmeas por ejaculado

Utilizando 1 bilhão de espermatozóides por dose:

50 bilhões por ejaculado/ 1 bilhão por dose = 50 doses

50 doses / **3 IA (doses)** por fêmea = 16,66 fêmeas por ejaculado

50 doses / **2 IA (doses)** por fêmea = 25 fêmeas por ejaculado

50 doses / **1 IIU (dose)** por fêmea = 50 fêmeas por ejaculado

Uma redução de um bilhão de espermatozóides por dose pode fazer uma importante diferença no número de machos necessários numa CIA em comparação com a utilização de dois e três bilhões de concentração espermática. Levando em conta que um macho é coletado em média duas vezes por semana, em 52 semanas no ano, totalizando 5200 bilhões de espermatozóides produzidos ao ano (104×50 bilhões = 5200 bilhões). A relação macho/fêmea por ano seria de 1:577, ao utilizar três doses de três bilhões de espermatozóides com a técnica de IA tradicional. A relação macho/fêmea aumenta para 1:866 ao utilizar três doses de dois bilhões de espermatozóides e 1:5200 quando a concentração espermática por dose cai para um bilhão em dose única IIU.

O uso de um número menor de machos permite a seleção dos que são geneticamente superiores com maior diferença esperada na progênie (DEP) ou do termo em inglês “estimated breeding value” (EBV). Esta mudança pode ocasionar, economicamente, importantes repercussões: 1) a diminuição do custo em instalações e equipamentos; 2)

redução nas despesas relacionadas à produção de doses (mencionado anteriormente) e 3) um aumento no desempenho da progênie.

Por exemplo, nas CIA da empresa PIC/USA, os machos são avaliados e atribuídos um valor de EBV (estimated breeding value) usado para selecionar os 20% melhores machos. Em junho de 2009, a atual média de EBV da PIC/USA era de 115,8 pontos.

Quando considerar os 50% melhores reprodutores, a média fica em 125,4; os 25% melhores representam a média de 130,8 e os 10% superiores possuem média de 136,6 pontos de EBV. Assume-se que cada ponto adquirido no índice de EBV corresponde a \$0,08 por leitão produzido (cálculo realizado pela PIC/USA).

Por exemplo, ao utilizar um macho (que está entre os 25% melhores), significa um aumento de 15 pontos no índice de EBV ($130,8 - 115,8 = 15$). Ao considerar uma granja de 10 mil matrizes que produz 24,5 leitões por fêmea ao ano e uma perda de 7% do nascimento ao desmame, o total de leitões vendidos ao ano representa 227850 leitões ($10000 \times 24,5$ leitões/fêmea/ano $- 7\% = 227850$ leitões). Estes 15 pontos de índice EBV representam \$1,20 a mais por leitão produzido ($\$0,08 \times 15$ (EBV) $\times 227850$ leitões = \$273420).

PARTE II – TRABALHO REALIZADO

8 COMO AUMENTAR O IMPACTO DE MACHOS GENETICAMENTE SUPERIORES

J. Patterson¹, L. Linck¹, A. Williams², A. Johnson³, D. Miller³, N. Holden³, M. Dyck¹ and G. Foxcroft¹; ¹Swine Reproduction-Development Program, Dept. AFNS, University of Alberta, Edmonton, AB, T6G 2P5; ²PIC Technical Services, Hendersonville, TN, 37075; Holden Farms, Northfield, MN, 55057.

8.1 INTRODUÇÃO

Com o objetivo de aumentar o impacto genético dos machos reprodutores suínos na eficiência da indústria suinícola, três aspectos básicos devem ser levados em consideração:

- 1) O uso de machos subférteis com ejaculados de baixa qualidade reduz a eficiência da produção,
- 2) Ao utilizar “pool” de sêmen de machos desprovidos de mérito genético, quebra a ligação entre o valor genético individual de cada macho e a paternidade da progênie produzida e,
- 3) O número excessivo de espermatozóides para produzir uma leitegada reduz o impacto na IA como forma de transferir tecnologia genética.

A literatura atual sugere que dez a 15% dos machos atualmente utilizados nas CIA atendem às exigências padrões para qualidade de ejaculado, porém podem ser classificados como subférteis se avaliados individualmente.

8.2 OBJETIVO

O objetivo primário deste estudo foi introduzir avaliações individuais dos machos, com baixo número de espermatozóides por dose, como procedimento de rotina nas CIA como critério de definição de machos subférteis. Ao utilizar estes machos selecionados (comprovadamente férteis) em programas de inseminação artificial mais eficientes (inseminações homospérmicas em tempo fixo ou IA pós-cervical com reduzido número de

espermatozoides) proporcionaria a otimização do uso do machos geneticamente superiores e sua propagação na progênie.

8.3 MATERIAL E MÉTODOS

Um sistema de produção de 40 mil matrizes com uma CIA (Holden Farms, Northfield, Minnesota) está fazendo parte deste projeto. O sêmen de diversos machos alojados na CIA é avaliado e processado em doses homospérmicas de dois bilhões de espermatozoides por dose inseminante. Apenas machos com produção comercialmente aceitável, melhor que 75% de motilidade e menos de 15% de anormalidades foram utilizados para inseminar aproximadamente 50 fêmeas.

8.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, 16 machos foram testados, sendo que três machos foram removidos devido a problemas locomotores (n=2) ou fertilidade abaixo do padrão (n=1).

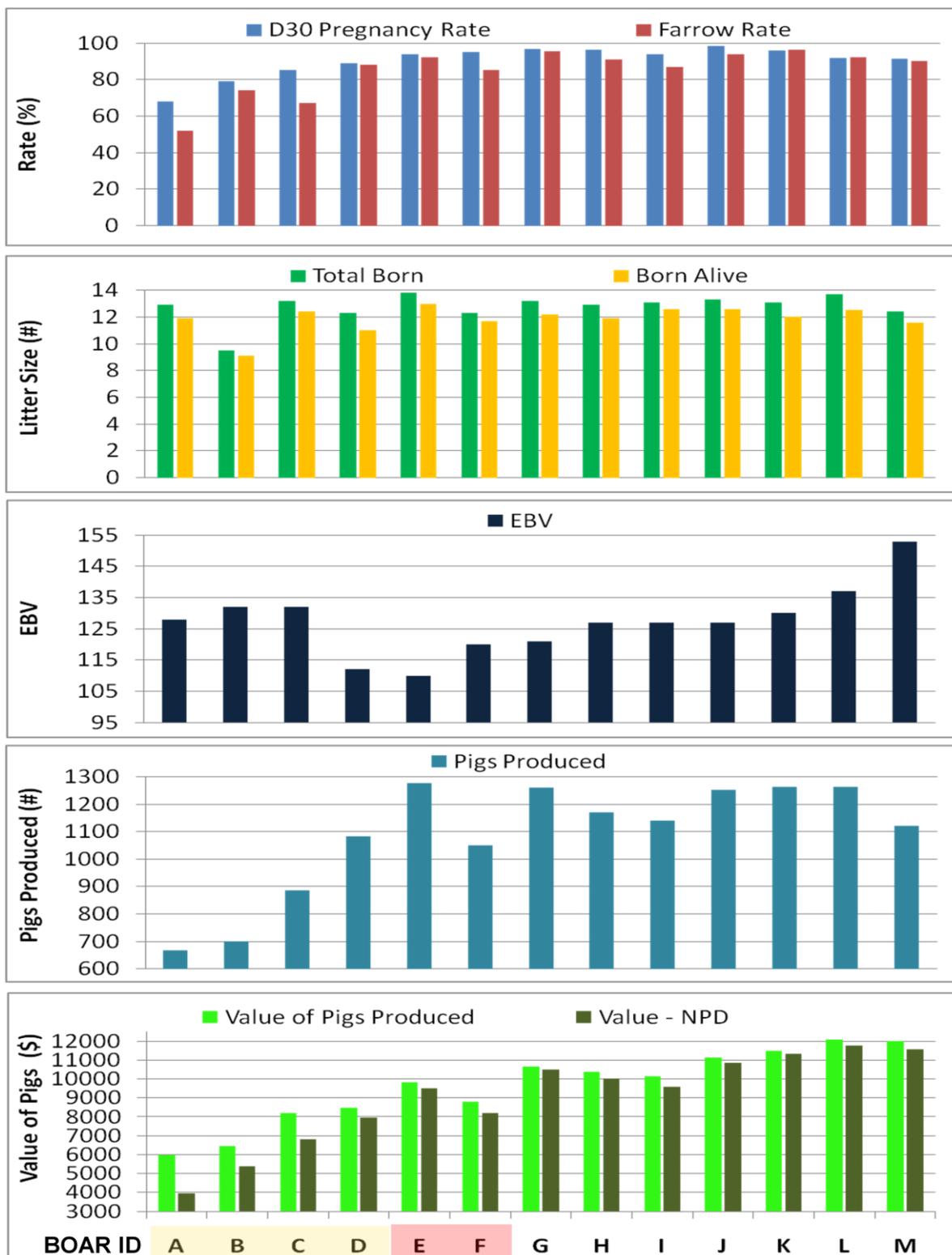


Figura 3. Desempenho individual dos machos (A-M) para 1) D30 Taxa de prenhez & taxa de parto; 2) Tamanho de leitegada; 3) Diferença esperada na progênie ou ‘estimated breeding value’ (EBV); 4) Leitões produzidos (estimativa para 100 fêmeas inseminadas x taxa de parto x total nascidos); 5) Valor dos leitões produzidos (leitões produzidos x EBV x \$.07 (valor de um ponto no índice EBV)) & Valor dos leitões produzidos – (Taxa de retorno x 21 dias não-produtivos x \$2).

Machos marcados em amarelo (A-D) representam os 30% piores em relação à taxa de prenhez. Após removidos, machos marcados em vermelho (E,F,I) representam os 30% inferiores.

Análises laboratoriais confirmaram que todos os machos (n=13) atendiam às exigências comerciais. Resultados de análise de rotina individuais de cada macho (mínimo de 40 inseminações por macho) são mostrados nas **figuras 1 a 5** (machos foram primeiramente classificados por taxa de prenhez (TP) no 30º dia, e em segundo lugar por EBV). Os resultados mostram uma diferença de 30% na TP, quatro leitões nascidos totais, 600 leitões produzidos e \$6000 a \$7800 dólares de incremento no valor genético para 100 fêmeas inseminadas entre o melhor e o pior macho.

A performance média do total de machos avaliados, o desempenho após remoção dos 30% piores machos baseado na TP (Fase 1: 4/13) e após a remoção dos 30% piores machos baseado no EBV (Fase 2: 3/9) são mostrados na **Tabela 12**. Na primeira fase, conforme dito, não houve redução no desempenho geral com a diminuição da concentração espermática de três para dois bilhões de espermatozóides por dose.

Um aumento na produção pode ser previsto em todos os atributos mensurados, a exceção do EBV. Neste caso, o EBV decresce levemente, o que sugere que não há relação entre o EBV e o desempenho dos machos. Apesar disso, a última linha mostra um aumento do valor dos leitões produzidos e o lucro total. Em segunda análise, um aumento na produção e no lucro total pode ser devido à remoção dos machos com EBV inferiores e no valor previsto para os leitões produzidos.

Tabela 12. Desempenho médio dos machos inicialmente avaliados e após mudanças nos protocolos de IA (estimado para 100 fêmeas inseminadas)

Variável	Total machos	30 % removidos¹	Mudança	30 % removidos²	Mudança
Taxa de Prenhez (%)	90.4	94.8	+4.4	95.0	+4.6
Taxa de Parto (%)	85.0	91.5	+6.5	93.2	+8.2
Nascidos Totais	12.7	13.1	+0.4	13.1	+0.4
Leitões Produzidos	1087	1199	+112	1221	+134
EBV	127.4	126.4	-1.0	132.5	+5.1
Valor dos leitões produzidos	\$9,665	\$10,727	+\$1,062	\$11,294	+\$1,629

¹ Fase 1: redução de três para dois bilhões de espermatozoides. Remoção de machos cuja taxa de prenhez foi inferior a 90%.

² Fase 2: mudança nas técnicas de IA (IA em tempo fixo e IA pós-cervical com 1,5 bilhões de espermatozoides por dose). Machos removidos devido ao EBV e valor esperado dos leitões produzidos.

8.5 CONCLUSÕES PRÉVIAS

Avaliações de rotina em machos com reduzido número de espermatozoides por dose (IA em tempo fixo e IA pós-cervical) promove a disseminação das genéticas superiores e aumento no lucro total. Estimativas sugerem que técnicas avançadas de IA podem aumentar o valor genético dos machos para cada leitão produzido em \$1,00.

9 CONCLUSÕES

Obviamente a indústria suinícola necessita desenvolver novas tecnologias que permitam extrair vantagens das melhorias realizadas no âmbito da genética e suas contribuições para a produção. Conforme foi revisado, diversos fatores ainda afetam um dos principais pilares da suinocultura, a fertilidade dos machos. Para alcançar o objetivo de aumentar a produção de leitões por macho reprodutor por ano através do aumento das leitegadas e do peso dos leitões com alta performance de produção de carne magra, mudanças devem ser realizadas no campo da fertilidade dos machos.

Entretanto, existe um importante conflito em relação a: 1) avaliação deficiente dos ejaculados a respeito das características compensáveis; 2) a utilização de um grande número de espermatozoides por dose para compensar esta avaliação deficiente; 3) e ao mesmo tempo o objetivo da indústria de aumentar o impacto genético de machos de elite.

Para atingir esta meta é fundamental identificar os machos que possuam melhor performance reprodutiva e que contribuam com melhores resultados nas mais desafiadoras situações com reduzido número de espermatozoides por dose ou em IA em tempo fixo (DICK *et al.*, 2009). Novas possibilidades tecnológicas devem ser comparadas às existentes, para que todos os questionamentos tratados nesta monografia possam ser elucidados.

Além do mais, inserir novas técnicas de IA nos rebanhos comerciais pode proporcionar retornos financeiros. Rendimentos adicionais e economia podem ser gerados com a redução dos custos em manutenção dos machos reprodutores além de aumentar a produção em função dos machos geneticamente superiores. (SEE, 2000).

REFERÊNCIAS

- ALM, K.; O. A. PELTONIEMI; E. KOSKINEN; M. ANDERSSON. Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. **Reproduction Domestic Animal** v.41, p.210-213, 2006.
- ALMEIDA, F.R.C.L., NOVAK, S.; FOXCROFT G.R. The time of ovulation in relation to estrus duration in gilts. **Theriogenology** v. 53, p.1389-1396, 2000.
- AMANN, R. P. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? **Jornal of Andrology** v.10, p.89-98, 1989.
- BAER, C.;BILKEI, G. The effect of intravaginal applied gnrh-agonist on the time of ovulation and subsequent reproductive performance of weaned multiparous sows. **Reproduction Domestic Animal** v.39, p. 293-297, 2004.
- BENNETT-STEWARD, K.; CASSAR, G.; PLANTE, C.; FRIENDSHIP, B.; ZAK, L. Ovulation induction protocol using equine chorionic gonadotropin and porcine luteinizing hormone in the weaned sow. **Journal of Swine Health Production** v.15(4), p.194-197, 2007.
- BRAUNDMEIER, A.G.; MILLER D.J. The search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. **Journal of Dairy Science** v. 84 p.1915–1925, 2001.
- CANDINI P.H.; MORIETTI A.S.; SILVEIRA P.R.S.; VIANA C.H.C.; SANTOS I.C.C.; Single or double insemination in fixed time in sows with ovulation induced by luteinizing hormone. **Brazilian Journal Veterinary Reserch Animal Science** v.41, p.124-130, 2004.
- CASSAR, G.; KIRKWOOD R. N.; BENNET-STEWARD K.; FRIENDSHIP R. M.; Towards single insemination in sows. *In: Proceedings of the 36th Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians*, Toronto, Ontario. p 353-356, 2005.
- DEJARNETTE, J.M.;The Effect of Semen Quality on Reproductive Efficiency, **Veterinary Clinical Food Animal** v. 21 p.409–418, 2005.
- DYCK, M.K.; FOXCROFT, G.R.; CAMERON, A.; NOVAK, S.; DIXON, W.T. Advanced AI Technologies to Maximize Boar Genetic Impact. *In: Conference Optimizing Sow Breeding Management and Litter Outcomes*, 2009.
- ESTIENNE, M. J.; HARPER, A.F.; HORSLEY, B.R.; ESTIENNE, C.E.; KNIGHT, J.W. Effects of P.G. 600 on the onset of estrus and ovulation rate in gilts treated with Regumate. **Journal of Animal Science** v.79 p. 2757-2761, 2001.

FLOWERS, W.L. Increasing fertilization rate of boars: Influence of number and quality of spermatozoa. **Journal of Animal Science** v. 80 p.47-53, 2002.

FLOWERS, W. L. Management of boars for efficient semen production. **Journal of Reproduction Fertility** s. 52 p.67-78, 1997.

FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science** v.75 p.119–139, 2003.

FOXCROFT, G.R.; DYCK, M.K.; RUIZ-SANCHEZ, A.; NOVAK, S.; DIXON, W.T. Identifying useable semen. **Theriogenology** v.70 p.1324–1336, 2008.

GERRITS, R.J.; LUNNEY, J.B.; JOHNSON, L.A.; PURSEL, V.G.; KRAELING, R.K.; ROHRER, G.A.; DOBRINSKYA, J.R. Perspectives for artificial insemination and genomics to improve global swine populations. **Theriogenology** v.63 p. 283–299, 2005.

HUHN, U.; JDCHLEZ, W.; BRUSSOWA, K.P. Techniques Developed for the Control of Estrus, Ovulation and Parturition in the East German Pig Industry: a review. **Theriogenology** v.46 p.91,1996.

KNOX, R.V.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; MILER, G.M.; WILLENBURG, K.L.; ROBB, J.A. Administration of P.G. 600 to sows at weaning and the time of ovulation as determined by transrectal ultrasound. **Journal of Animal Science** v.79 p.796-802, 2001.

LEVIS, D. AI Timing, Fertility and AI Doses. “Managing Gene Transfer”. **Leman Pre-Conference Reproduction Workshop**, 2007.

LEVIS, D. Intrauterine and Deep Uterine Insemination of Pigs. “Managing Gene Transfer”. **Leman Pre-Conference Reproduction Workshop**, 2007.

LUCIA, T. J.; CORREA, M.N.; DESCHAMPS, J.C.; PERUZZO, I.A.; MATHEUS, J.E.M.; ALEXIO, J.A.G. Influence of equine chorionic gonadotropin on weaning-to-estrus interval and estrus duration in earlyweaned, primiparous, female swine. **Journal of Animal Science** v.77 p.3163-3167,1999.

MANJARIN, R.; DOMINGUEZ, J.C.; CASTRO, M.J.; ALEGRE, B.; KIRKWOOD, R.N. Effect of hCG on the estrus and ovulation responses to PG600 in prepubertal gilts, non published, 2009.

MARTINEZ, E.A.; VAZQUEZ J.M.; ROCA, J.; CUELLO, C.; GIL, M.A.; PARRILLA, I.; VAZQUEZ J.L. An update on Reproductive Technologies with Potential Short-Term Application in Pig Production. **Reproduction Domestic Animal** v. 40 p.300–309, 2005.

MEZALIRA, A.; DALLANORA, D.; BERNARDI, M.L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P. Influence of Sperm Cell Dose and Post-insemination Backflow on Reproductive Performance of Intrauterine Inseminated Sows. **Reproduction Domestic Animal** v. 40 p. 1–5, 2005.

NOVAK, S. *et al.* Fertility markers in boar semen. **Advances in Pork Production 19**: Abstract 28, 2008.

OH, S. H. Estimation of Genetic Parameters for Boar Semen Traits, Under the direction of Miles Todd See, Dissertation submitted to the Graduate faculty. 2003.

PARKINSON, T.J. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. **The Veterinary Journal** v.168 p.215–229, 2004.

PATTERSON, J.L.; CAMERON, A.C.; SMITH, T.A.; Kummer, A.B., SCHOTT, R.L.; GREINER, L.L.; CONNOR, J.F.; FOXCROFT, G.R. The effect of PG 600 at weaning on weaned primiparous sow performance, 2008.

ROCA, J.; VAZQUEZ, J.M.; GIL, M.A.; CUELLO, C.; PARRILLA, I.; MARTINEZ, E.A. Challenges in Pig Artificial Insemination. **Reproduction Domestic Animal** v.41 (Suppl. 2), p.43–53, 2006.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Laboratory semen assessment and prediction of fertility: Still utopia? **Reproduction Domestic Animal** v.38 p. 312-318, 2003.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Can We Increase the Estimative Value of Semen Assessment? **Reproduction Domestic Animal** v.41 (Suppl.2), p.2–10, 2006.

MARTÍNEZ, E.A.; ROCA, J.; VÁZQUEZ, J.M.; CALVETE, J.J. The physiological roles of the boar ejaculate. *In*: Control of Pig Reproduction VIII, **Soc. Reprod. Fertil.** Suppl. 66 p.1-21, 2009.

ROZEBOOM, K.J.; REICKS, D.L.; WILSON, M.E. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. **Journal of Animal Science** v.82 p.2164-2168, 2004.

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

- SAFRANSKI, T.J. Genetic selection of boars. **Theriogenology** v.70 p.1310-1316, 2008.
- SATAKE, N.; ELLIOTT, R.M.A.; WATSON, P.F.; HOLT, W.V. Sperm selection and competition in pigs may be mediated by the differential motility activation and suppression of sperm subpopulations within the oviduct. **The Journal of Experimental Biology** v.209 p.1560-1572, 2006.
- SEE, T. A. Cost Comparison of AI and Natural Service. **Animal science facts**, ANS 96-809S. Extension Swine Husbandry. 2000.
- SMITAL J.; WOLF J.; DE SOUZA L.L. Estimation of genetic parameters of semen characteristics and reproductive traits in AI boars. **Animal Reproduction Science** v. 86 p.119–130, 2005.
- SOEDE, N.M.; BOUWMAN, E.G.; LANGENDIJK, P.; LAAN, I.V.D.; KANORA, A.; KEMP, B. Follicle Development during Luteal Phase and Altrenogest Treatment in Pigs. **Reproduction Domestic Animal** v.42 p.329–332, 2007.
- SONDERMAN, J.P.; LUEBBE, J.J. Semen production and fertility issues related to differences in genetic lines of boars. **Theriogenology** v.70 p.1380–1383, 2008.
- STAHLBERG, R.; HARHZIUS, B.; WEITZE, K.F.; WABERSKILA, D. Identification of Embryo Paternity Using Polymorphic DNA Markers to Assess Fertilizing Capacity of Spermatozoa After Heterospermic Insemination in boars. **Theriogenology** v.53 p.1365-1373, 1998.
- TARDIF, S.; LAFOREST, J. P.; CORMIER, N.; BAILEY, J. L. The importance of porcine sperm parameters on fertility in vivo. **Theriogenology** v.52 p.447-459, 1999.
- TURBA, M.E.; FANTINATI, P.; BERNARDINI, C.; GENTILINI, F.; BACC, M.L.; FORNI, M. Relationships between innovative and traditional parameters to investigate semen quality in pigs. **Animal Reproduction Science** v.99 p.72–81, 2007.
- VAZQUEZ, J. M. *et al.* Improving the efficiency of sperm technologies in pigs: The value of deep intrauterine insemination. **Theriogenology** v.63 p.536-547, 2005.
- WABERSKI, D.; PETRUNKINA, A.M.; TOPFER-PETERSEN, E. Can external quality control improve pig AI efficiency. **Theriogenology** v.70 p.1346-135, 2008.
- WATSON, P. F.; Behan, J. R. Intrauterine insemination of sow with reduced sperm numbers: Results of a commercially based field trial. **Theriogenology** v.57 p.1683-1693, 2002.
- WOLF, J. Genetic parameters for semen traits in AI Boars Estimated from Data on individual ejaculates. **Reproduction Domestic Animal** v. 44, p.338-344, 2009.

XU, X. *et al.* In vitro maturation and fertilization techniques for assessment of semen quality and boar fertility. **Journal of Animal Science** v.76 p.3079-3089, 1998.

ZAK, L.; BENNETT-STEWARD, K.; FRIENDSHIP, R.M.; CASSAR, G.; KIRKWOOD, R. Fixed Time Insemination in Swine. **Leman Conference**, 2007.

Disponível em: < <http://www.nsif.com/guidel/guidelines.htm>>
<<http://mark.asci.ncsu.edu/Publications/factsheets/809s.htm>>. Acesso em 15 mar. 2011.

Disponível em: <<http://mark.asci.ncsu.edu/Reproduction/estrus/GetAIStart.htm>> . Acesso em 22 mai. 2001.

Disponível em:
<<http://www.livestocktrail.uiuc.edu/swinerepronet/publications/extension/BoarA&P.pdf>>.
Acesso em 13 abr. 2011.

Disponível em: <<http://apps.fao.org/cgi-bin/nph-db.pl?subset=agriculture>> . Acesso em 18 mar. 2011.