

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS APÓS A INSEMINAÇÃO  
ARTIFICIAL INTRA-UTERINA OU TRADICIONAL**

DJANE DALLANORA

PORTO ALEGRE

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS APÓS A INSEMINAÇÃO  
ARTIFICIAL INTRA-UTERINA OU TRADICIONAL**

**Autor:** DJANE DALLANORA

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Fisiopatologia da Reprodução Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Ivo Wentz

PORTO ALEGRE

2004

**Djane Dallanora**

**Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após a inseminação artificial intra-uterina  
ou tradicional**

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Ivo Wentz  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Guilherme Borchardt Neto  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Ilmo Wentz  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Rui Fernando Félix Lopes  
Membro da Comissão

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por eu ter nascido em uma família tão especial e pela oportunidade de ter uma vida digna.

Aos meus pais Celso e Silvina, pelo grande exemplo de simplicidade, determinação e honestidade, jamais terei como agradecer, e ao Afonso, o melhor irmão que eu poderia ter.

Ao Sergio Abreu Machado, que sempre foi o meu maior incentivador, pelo carinho, atenção e ajuda.

Aos “habitantes” do apartamento 71: Liliane, Alisson e Ricardo, pela pacífica convivência e paciência.

A colega Lia Helena Katzer que dedicou os últimos meses de sua pós-graduação para a realização deste trabalho e quem não se cansou de repetir “no fim, tudo dará certo”.

Ao Alisson Mezalira que, além do fundamental auxílio à realização do experimento, tornou-se uma pessoa a quem admiro especialmente.

Aos demais colegas da Pós-Graduação: Vladimir, Luis Eduardo da Silva, Giancarlo, Fabiane, Carlos, Anamaria, Luis Gustavo, Cezar, Goreti, Ana, Gustavo, Rafael, Luis Eduardo Razia e Ricardo.

Ao Paulo e ao Evandro pela amizade e atendimento aos muitos pedidos de “socorro”.

A todos os estagiários, bolsistas e amigos do Setor de Suínos, especialmente Alisson C. T. Schmidt e Arita Tagliari Postal.

Aos professores Ivo Wentz, Fernando P. Bortolozzo e David E. S. N. Barcellos, pelos conhecimentos e orientação ao longo desses três anos de convívio.

A Mari Lourdes Bernardi pela ajuda fundamental na realização da estatística e da redação desta dissertação.

A Carroll's Foods do Brasil S.A.

A CAPES.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## RESUMO

### DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS APÓS A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL INTRA-UTERINA OU TRADICIONAL

Autora: Djane Dallanora

Orientador: Prof. Dr. Ivo Wentz

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mari Lourdes Bernardi

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas com a técnica intra-uterina (IAU) ou tradicional (IAT), considerando o refluxo de sêmen após a IA, as taxas de retorno ao estro e de parto, além do número de leitões nascidos. As fêmeas do grupo IAU foram inseminadas com doses de 1,5 bilhão de espermatozóides em 60 ml de volume e as do grupo IAT com 3 bilhões em 90 ml. A passagem do cateter de IAU através da cérvix foi possível em 97,4% das fêmeas. Houve presença de sangue no cateter, após a realização da IAU, em 9,5% das fêmeas em pelo menos uma das inseminações, e estas apresentaram retorno ao estro superior ao das fêmeas sem sangramento ( $P < 0,05$ ). Foi coletado o refluxo no momento e até duas horas após a inseminação. Apesar do percentual de volume refluído ter sido maior ( $P < 0,05$ ) na IAU (75,4%) do que na IAT (62,7%), o percentual de espermatozóides presentes no refluxo foi semelhante (22,7 e 23,0%, respectivamente). Foi realizado diagnóstico de retorno ao estro a partir do 18º dia e diagnóstico de gestação por ultra-sonografia transcutânea entre o 21º e 23º dias após a inseminação. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) nas taxas de retorno ao estro (3,6% e 4,3%), de prenhez aos 21-23 dias (99,5% e 97,2%), de parto ajustada (94,9% e 94,4%) e no tamanho da leitegada (11,6 e 11,8 leitões) entre IAU e IAT, respectivamente. Independentemente do número de espermatozóides da dose inseminante, a perda por refluxo, superior ou inferior a 20% do total infundido, não influenciou a taxa de parto e o número de leitões nascidos. O desempenho reprodutivo de fêmeas suínas de ordem de parto dois a quatro, inseminadas pela técnica intra-uterina, com doses de 1,5 bilhão de espermatozóides, foi semelhante àquele observado com a inseminação tradicional cervical com doses de 3 bilhões de espermatozóides.

**Palavras-chave:** inseminação intra-uterina, inseminação tradicional, desempenho reprodutivo, número de espermatozóides por dose.

## **ABSTRACT**

### **REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF SWINE FEMALES AFTER INTRAUTERINE OR TRADITIONAL ARTIFICIAL INSEMINATION.**

*Author: Djane Dallanora*

*Advisor: Prof. Dr. Ivo Wentz*

*Co-advisor: Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo*

*Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Mari Lourdes Bernardi*

*The aim of this work was to evaluate the reproductive performance of sows inseminated with intrauterine (IUI) or traditional (TAI) technique and the occurrence of semen backflow during and after insemination. Inseminating doses with 1.5 billion in 60 ml to the IUI and with 3 billion of spermatozoa in 90 ml to the TAI group were utilized. The procedure of catheter insertion through the cervical canal did not show difficulties and it was successfully performed in 97.4% of females. The presence of blood was observed in 9.5% of the sows. Females that showed bleeding had a higher probability to repeat estrus ( $P < 0.05$ ). The semen backflow was collected at the moment of artificial insemination and until two hours afterwards. The percentage of backflow semen volume was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in IUI (75.4%) than TAI (62.7%), whereas sperm backflow percentage was similar. The sperm backflow percentage (superior or inferior to 20%) did not influence the farrowing rate and the litter size in both groups. There was no difference in the return to estrus rate (3.6%; 4.3%), pregnancy rate at 21 days post-insemination (99.5%; 97.2%), adjusted farrowing rate (94.9%; 94.4%) and average litter size (11.6; 11.8 piglets) between IUI and TAI, respectively. The IUI ensures a reproductive performance similar to TAI, utilizing reduced sperm number and reduced extender volume per dose.*

**Keywords:** *intrauterine insemination, traditional insemination, reproductive performance, sperm cell dose.*

## LISTA DE TABELAS

### Tabelas contidas na Introdução

TABELA 1 - Distribuição do rebanho de suínos por região geográfica do Brasil.....	10
TABELA 2 - Distribuição e evolução da utilização da inseminação artificial (IA) em suínos no Brasil.....	10

### Tabelas contidas no Artigo Científico

TABELA 1- Percentual de volume e de espermatozóides no refluxo (médias $\pm$ desvio-padrão) até 120 minutos após a inseminação intra-uterina e inseminação tradicional em fêmeas suínas.....	38
TABELA 2 - Efeito do baixo (inferior a 20%) ou alto (superior a 20%) percentual de espermatozóides refluídos sobre a taxa de parto e o número de nascidos totais de fêmeas submetidas à inseminação intra-uterina (IAU) ou tradicional (IAT).....	39
TABELA 3 - Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após inseminação intra-uterina ou tradicional.....	40

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Equipamento utilizado para inseminação intra-uterina em suínos.....	15
FIGURA 2 - Pipeta para inseminação artificial de suínos.....	16



## LISTA DE ABREVIATURAS

BTS	<i>Beltsville Thawing Solution</i>
cm	Centímetro
DI	Dose inseminante
Durlac	Duração da lactação
eCG	Gonadotrofina coriônica eqüina – <i>Equine Chorionic Gonadotrophin</i>
h	Horas
hCG	Gonadotrofina coriônica humana – <i>Human Chorionic Gonadotrophin</i>
IA(s)	Inseminação(ões) artificial(ais)
IAT	Inseminação artificial tradicional
IAU	Inseminação artificial intra-uterina
IDE	Intervalo desmame-estro
IUI	<i>Intrauterine insemination</i>
m	Metro
ml	Mililitros
mm	Milímetros
PMSG	Gonadotrofina Sérica de Égua Prenhe - <i>Pregnant Mare Serum Gonadotrophin</i>
TAI	<i>Traditional insemination</i>
°C	Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
2.1 Redução do número de espermatozóides e do volume da dose inseminante.....	13
2.1.1 Inseminação artificial tradicional.....	13
2.1.2 Deposição intra-uterina de sêmen.....	15
2.1.2.1 Estudos iniciais.....	16
2.1.2.2 Inseminação intra-uterina cirúrgica.....	18
2.1.2.3 Inseminação intra-uterina em condições de campo.....	19
2.1.2.4 Inseminação intra-uterina.....	20
2.1.2.5 Inseminação intra-uterina profunda.....	21
2.2 Dificuldade de passagem do cateter pela cérvix.....	23
2.3 Refluxo de sêmen.....	24
<b>3 ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>27</b>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>49</b>
Apêndice A - Seleção das fêmeas.....	49
Apêndice B - Motilidade espermática.....	50
Apêndice C - Distribuição das fêmeas de acordo com o percentual de volume refluído.....	51
Apêndice D - Distribuição das fêmeas de acordo com o percentual de espermatozóides refluído.....	52
Apêndice E - Tamanho da leitegada.....	53

## 1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) de suínos foi introduzida comercialmente no Brasil a partir de 1975, com a instalação de duas centrais de inseminação na região Sul do país, em Estrela (RS) e Concórdia (SC), e sua expansão e aplicação foram relacionadas à distribuição geográfica da produção nacional (BORTOLOZZO, WENTZ, 1997). Atualmente, a difusão dessa tecnologia acompanha a nova distribuição geográfica da produção (Tabela 1), sendo crescente a utilização nas novas regiões de exploração comercial e tecnicada da criação de suínos, como a região central do Brasil (Tabela 2).

Tabela 1 - Distribuição do rebanho de suínos por região geográfica do Brasil.

Região	Nº de cabeças (milhões)	%	Estados
Sul	13	34,3	RS/SC/PR
Sudeste	7,2	18,9	MG/ES/RJ/SP
Nordeste	8,75	23,0	MA/PI/CE/RN/PB/AL/SE/BA/PE
Centro-Oeste	6,15	16,2	MT/MS/GO/DF
Norte	2,9	7,6	RO/AC/AM/RR/PA/AP/TO

REVISTA PORKWORLD, 2003.

Tabela 2 - Distribuição e evolução da utilização da inseminação artificial (IA) em suínos no Brasil.

Ano	Centrais de IA oficiais	Localização	Nº de IAs
1976	2	RS/SC	1.119
1988	7	RS/SC/PR/SP	59.298
1992	8	RS/SC/PR/SP	85.333
1998	21	RS/SC/PR/SP/MS/GO	630.000
2002	30	RS/ SC/ PR/ SP/ MG/ GO/ MS/ MT	1.700.000

ABCS, 2003.

Segundo Scheid (1991), até o início da década de 90, apenas 2% do rebanho nacional utilizava essa biotécnica e, em uma década, a IA era aplicada em 27% do total de matrizes (WENTZ *et al.*, 2000), o que correspondia a 51% das coberturas realizadas em granjas tecnicadas. Weitze (2000) apresentou dados da utilização mundial da IA tendo coletado informações de 29 países, onde 48% das fêmeas (24,1 milhões de animais) eram inseminadas artificialmente.

A tecnologia tradicionalmente utilizada preconiza o uso de uma dose inseminante contendo aproximadamente três bilhões de espermatozóides (WATSON, BEHAN, 2002) depositados na cérvix, através de instrumentos semelhantes à estrutura morfológica do pênis suíno (pipetas ou cateteres). Com o objetivo de permitir a redução do número de espermatozóide por dose inseminante, estão sendo propostas modificações na técnica, as quais são baseadas na deposição dos espermatozóides diretamente no lúmen uterino, através de uma pipeta tradicional associada a um cateter que se estende 20 cm além desta, alcançando o corpo/corno uterino, sem necessidade de sedação das fêmeas e praticamente sem lesões ao trato genital (VAZQUEZ *et al.*, 1999; MARTINEZ *et al.*, 2001; WATSON, BEHAN, 2002).

O aperfeiçoamento desta técnica e a validação de sua aplicação a campo são de extrema importância devido aos benefícios econômicos que a redução do número de espermatozóides em até mais de 50% e a redução do volume de diluente utilizado podem trazer. Além disso, a possibilidade de produzir um maior número de doses a partir de um mesmo ejaculado permite a otimização do aproveitamento de animais geneticamente superiores e dos ganhos que a difusão de suas características podem proporcionar ao plantel.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas com a técnica intra-uterina ou a tradicional, em condições comerciais, considerando o refluxo de sêmen no momento e até 2 horas após a IA, as taxas de retorno ao estro e de parto, além do número de leitões nascidos.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Os trabalhos mais intensivos utilizando IA em suínos no Brasil iniciaram-se a partir de um convênio entre o Ministério da Agricultura, as associações estaduais de criadores e os governos estaduais e municipais, com a instalação de duas centrais de IA, uma em Concórdia-SC e outra em Estrela-RS, no ano de 1976, embora as primeiras tentativas tenham sido realizadas por Junqueira e Braun em 1947, com sêmen *in natura*, obtendo 40% de não-retorno ao estro (FAZANO, 1978). Outro ponto interessante é que o desenvolvimento da IA no Brasil esteve relacionado com a distribuição geográfica da produção, tendo ocorrido nos estados do sul, onde o nível técnico e a produtividade eram consideravelmente superiores (SCHEID, 1991).

No início da década de 80 (REED, 1982), as pipetas mais utilizadas eram as espirais desenvolvidas por Melrose e O'Hagan (1961) *apud* Reed (1982). As doses comercialmente utilizadas variavam de 1 a 3 bilhões de espermatozóides e 50 a 150 ml e, em alguns países, a técnica preconizava a infusão de diluente previamente à dose inseminante. As taxas de concepção após a IA oscilavam entre 60 e 90% e alguns fatores que poderiam interferir no sucesso do programa de IA passaram a ser conhecidos, como o tamanho do rebanho, ordem de parto das fêmeas e número de inseminações por estro.

### **2.1 Redução do número de espermatozóides e do volume da dose inseminante**

#### **2.1.1 Inseminação artificial tradicional**

Mundialmente, a IA iniciou na década de 30 em países como a Rússia e o Japão (WENTZ, BORTOLOZZO, 1998) e, desde então, buscava-se determinar qual o volume mínimo e número de células espermáticas necessários para atingir bons índices de fecundação e, conseqüentemente, taxa de prenhez e tamanho de leitegada satisfatórios.

Stratman e Self (1960) não observaram efeito do número de espermatozóides da dose inseminante sobre a taxa de concepção, o percentual de sobrevivência embrionária e tamanho da leitegada em 72 leitoadas inseminadas 4 horas após a entrada em estro, com 2,5, 5 e 10 bilhões de espermatozóides distribuídos em volumes de 10, 20 e 50 ml (fatorial 3x3). Foi observado efeito do volume da dose utilizado, sendo os índices de fertilidade analisados

aos 25 dias após a IA superiores nos grupos inseminados com 50 ml ( $P<0,05$ ;  $P<0,01$  e  $P<0,025$ , respectivamente).

Baker *et al.* (1968) inseminaram leitoas 6 horas (experimento 1) e 8 horas (experimento 2) antes da ovulação prevista, com 1, 5 e 10 bilhões de espermatozóides em volumes de 20, 100 e 200 ml, em experimento fatorial com total de nove tratamentos. As fêmeas haviam recebido hCG no início do estro, sendo a ocorrência da ovulação estimada em 40 horas após a aplicação. Os animais foram abatidos 6 horas (experimento 1) e 8 horas (experimento 2) após a ovulação. O número de espermatozóides no oviduto foi maior na medida em que aumentou o número de espermatozóides na dose inseminante ( $P<0,05$ ). No experimento 1, leitoas inseminadas com doses de 100 ml tiveram maior proporção de oócitos fecundados ( $P<0,01$ ) e espermatozóides na zona pelúcida do que as inseminadas com 20 ou 200 ml, sendo que no experimento 2 não existiram diferenças. No experimento 2, leitoas inseminadas com 5 e 10 bilhões apresentaram mais espermatozóides no oviduto e maior proporção de oócitos fecundados que as inseminadas com 1 bilhão ( $P<0,05$ ). Segundo os autores, não foi possível determinar o volume ideal para o transporte espermático, porém ele seria maior que 20 e próximo a 100 ml.

Três décadas mais tarde, tornando-se possível determinar o momento da ovulação com o uso da ultra-sonografia, Steverink *et al.* (1997) utilizaram doses de 1, 3 e 6 bilhões de espermatozóides inseminados entre 3 e 48 horas antes da ovulação com o objetivo de comprovar a hipótese de que, aumentando o número de espermatozóides na dose inseminante, o intervalo entre IA e ovulação poderia ser aumentado sem prejuízos à fecundação. As fêmeas foram inseminadas entre 12 e 24 horas com doses de 1 bilhão de espermatozóides e, entre 24 e 36 horas antes da ovulação, com doses de 6 bilhões. Doses com 3 bilhões foram usadas em fêmeas inseminadas em ambos os intervalos (12 a 24 e 24 a 36 h). As fêmeas foram abatidas em média 120 horas após a ovulação. O desenvolvimento de embriões normais não foi afetado pelo número de espermatozóides ( $P=0,89$ ) ou pelo intervalo IA-ovulação ( $P=0,45$ ). As doses de 1, 3 e 6 bilhões resultaram em 78%, 84% e 91,4% de embriões normais. Não existiu efeito positivo na taxa de embriões normais com o aumento do número de espermatozóides de 1 para 3 bilhões, no intervalo 12-24, e de 3 para 6 bilhões, no intervalo 24-36 h.

Marchetti (2001) utilizou 561 fêmeas distribuídas uniformemente em três tratamentos, caracterizados por doses inseminantes de 2, 3 e 4 bilhões de espermatozóides em 95 ml de Beltsville Thawing Solution (BTS), armazenadas por, no máximo, 12 horas. Foram realizadas 3 a 4 IAs por fêmea durante o estro com intervalos de 8 a 16 h. Não existiram diferenças entre os tratamentos para taxa de retorno ao estro ( $P=0,92$ ) e taxa de parto ajustada ( $P=0,88$ ). Para os dados de nascidos totais, as fêmeas inseminadas com 2 bilhões de espermatozóides apresentaram 0,69 leitão a menos que as inseminadas com 4 bilhões ( $P=0,02$ ) e 0,40 leitão a menos que as inseminadas com 3 bilhões ( $P=0,20$ ), não existindo diferença entre os tamanhos de leitegada das fêmeas inseminadas com 3 e 4 bilhões de espermatozóides/dose ( $P=0,35$ ). Analisando o percentual de ocorrência de leitegadas menores que 8 leitões entre os diferentes tratamentos, não existiu diferença significativa entre eles ( $P=0,15$ ), embora tenham ocorrido 11% a menos de leitegadas grandes ( $>13$  leitões) nas fêmeas inseminadas com 2 bilhões em relação às demais doses. Segundo o autor, a redução no número de espermatozóides para 2 bilhões não traz prejuízo à taxa de parto, porém o tamanho da leitegada é influenciado negativamente, sendo necessária uma avaliação criteriosa da redução do número de espermatozóides em cada unidade de produção.

### **2.1.2 Deposição intra-uterina de sêmen**

Para proporcionar a deposição dos espermatozóides próximo ao local da fecundação, diminuindo as perdas por refluxo e fagocitose, e permitindo a utilização de doses com reduzido número de espermatozóides, inicialmente foram utilizadas técnicas que incluíam a deposição cirúrgica, com o animal sob anestesia, o que inviabilizaria a utilização a campo. Mais recentemente, têm sido utilizados instrumentos que permitem alcançar o corpo e os cornos uterinos sem a necessidade de sedação das fêmeas. Os instrumentos utilizados são endoscópios, sondas e pipetas de IA modificadas que ultrapassam a cérvix e alcançam o ambiente intra-uterino.

Com o uso dos diferentes instrumentos, os locais onde a dose inseminante é depositada dentro do útero podem variar. A inseminação dos espermatozóides diretamente dentro do útero pode ser classificada em intra-uterina, quando os espermatozóides são

depositados no corpo do útero ou no terço inicial dos cornos uterinos, e intra-uterina profunda, quando os espermatozóides são depositados no terço final dos cornos, próximo à junção útero-tubárica (MATHIAS, 2003).

#### 2.1.2.1 Estudos iniciais

Nos primeiros trabalhos realizados utilizando inseminação artificial, foi encontrada uma menor taxa de fecundação de oócitos das fêmeas que foram inseminadas artificialmente com sêmen fresco não diluído, quando comparadas às fêmeas cobertas por meio de monta natural. Essa observação evidenciou que a técnica de IA utilizada poderia estar sendo ineficiente (HANCOCK, 1958 *apud* HANCOCK, 1959).

Na mesma época, Hancock (1959) sugeriu que o local de deposição da dose inseminante dentro do trato genital da fêmea também poderia ser um fator determinante do desempenho reprodutivo subsequente. O autor também sugeriu que a deposição de espermatozóides diretamente dentro do útero permitiria a utilização de doses inseminantes com menor volume e número de células espermáticas. O equipamento utilizado na época era uma sonda de 35 cm fixada à cérvix e, internamente a esta, um cateter de 52 cm, o qual permitia a escolha do local de deposição do sêmen (Figura 1).

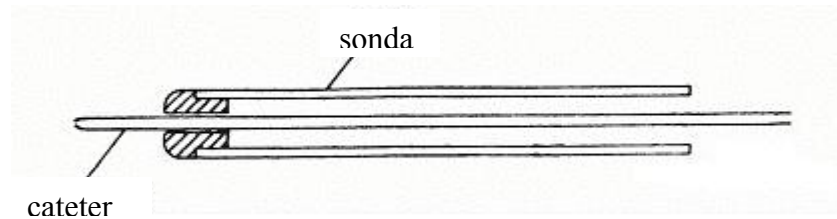


Figura 1: Equipamento utilizado para inseminação intra-uterina em suínos (HANCOCK, 1959). A pipeta era composta de uma sonda fixada à cérvix e de um cateter introduzido até o útero.

Hancock (1959) inseminou as fêmeas uma única vez, com 100 ml de sêmen não diluído, no dia da entrada em estro ou 24 horas após, e comparou a deposição vaginal, cervical e intra-uterina (utilizando a pipeta ilustrada na Figura 1 = grupo A), além de um grupo controle submetido à inseminação intracervical (pipeta ilustrada na Figura 2) e outro grupo submetido à monta natural (grupo C). As fêmeas foram abatidas 24 a 72 horas após a



IA. Dentro do grupo A, as variações na taxa de prenhez foram claramente influenciadas pelo local de deposição da dose, sendo 96,3% (n=16), 50% (n=10) e 57,1% (n=15) para a deposição uterina, cervical e vaginal, respectivamente, 83,3% para o grupo B (n= 12) e 100% (n= 18) para o grupo C e o percentual de óocitos fecundados foi de 64,6, 59,2 e 95,9% para os grupos A, B e C, respectivamente.

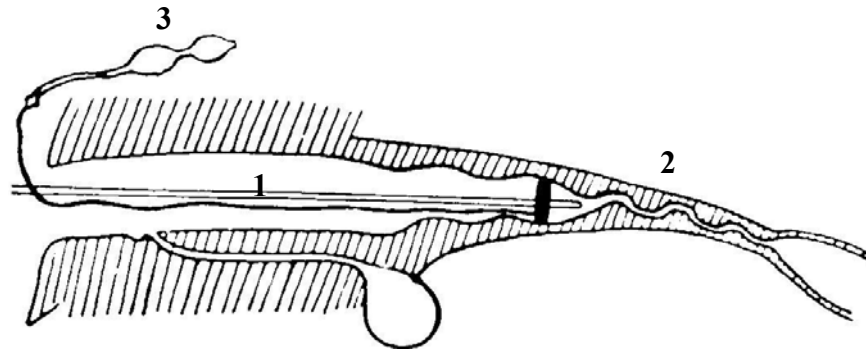


Figura 2: Pipeta para inseminação artificial de suínos (AAMDAL, HÖGSET, 1957). A pipeta era composta de um cateter (1) que alcançava os anéis cervicais (2) onde ocorria a deposição do sêmen. O cateter era fixado à cervix por um balão inflável (3).

Hancock e Hovell (1961) utilizaram a pipeta ilustrada na Figura 1 para deposição intra-uterina de doses com 10 bilhões, 1 ou 0,1 bilhão de espermatozoides, diluídas em 20 ml com gema de ovo, glicose e fosfato (“egg-yolk phosphate-glucose”). No experimento A, com o objetivo de avaliar a influência do volume da dose inseminante, 24 fêmeas foram inseminadas com as três diferentes doses em 20 ml e 24 fêmeas foram inseminadas da mesma forma, porém com a infusão adicional de 100 ml de diluente após a IA. No experimento B, foram utilizadas doses de 10 bilhões de espermatozoides e no experimento C, 1 bilhão de espermatozoides. As fêmeas foram abatidas 2 a 4 (experimento A) ou 25 (experimentos B e C) dias após a IA para contagens de embriões. No experimento A, existiram diferenças no percentual de óocitos fecundados entre os diferentes volumes ( $P < 0,01$ ) e diferentes números de espermatozoides utilizados ( $P < 0,001$ ), sendo que entre os volumes, 20 ml teve o melhor desempenho e, entre as diferentes doses, 0,1 bilhão resultou

no pior desempenho. Nos experimentos B e C, o aumento do número de espermatozóides, de 1 para 10 bilhões, não representou aumento na taxa de prenhez, demonstrando a possibilidade de redução do número de espermatozóides na dose inseminante com a deposição intra-uterina.

#### 2.1.2.2 Inseminação intra-uterina cirúrgica

Krueger *et al.* (1999) realizaram dois experimentos com o objetivo de avaliar os resultados obtidos em IAs com reduzido número de espermatozóides. No experimento 1, 109 leitoas tiveram o estro sincronizado pela aplicação de PMSG e hCG e foram divididas em 5 grupos em fatorial 5x3, com doses inseminantes de 1, 5, 10, 100 e 500 milhões de espermatozóides por corno uterino (diluídos em 0,5 ml) e três momentos distintos de inseminação: 32 horas ou 38 horas após a aplicação do hCG ou imediatamente após a ovulação (determinada por ultra-sonografia), sendo as doses depositadas por via cirúrgica, em ambos os cornos uterinos, próximo à junção útero-tubárica. Somente as fêmeas inseminadas com 1 milhão de espermatozóides tiveram menores taxas de prenhez e de parto quando a IA foi realizada 32 ou 38 horas após a aplicação de hCG em relação às demais doses inseminantes ( $P < 0,05$ ), não existindo essa diferença nas fêmeas inseminadas logo após a ovulação. Não existiu efeito da dose inseminante sobre o tamanho da leitegada ( $P > 0,05$ ). No experimento 2, 34 leitoas foram inseminadas de forma cirúrgica, 32 horas após a aplicação do hCG, com as doses e técnica descrita no experimento 1, e nove leitoas foram inseminadas de forma tradicional, uma única vez, com 1 bilhão de espermatozóides em 100 ml. Todas as fêmeas foram abatidas 48 horas após a realização da inseminação cirúrgica ou tradicional, procedendo-se a lavagem dos ovidutos e cornos uterinos para coleta de embriões. Mais uma vez, a taxa de fecundação foi menor somente nas fêmeas inseminadas com 1 milhão de espermatozóides por corno uterino ( $P < 0,001$ ).

Na primeira fase do experimento de Wolken (2001), 46 leitoas foram tratadas com hCG e submetidas à inseminação cirúrgica 32 horas após (16 por laparoscopia e 30 por laparotomia). As doses utilizadas foram 10, 50 e 100 milhões de espermatozóides, diluídos em 0,5 ou 10 ml, e um grupo controle de 100 milhões de espermatozóides em 50 ml. A dose foi depositada 10 cm após a bifurcação do corpo do útero, dentro de cada corno

uterino. Na segunda fase do experimento, 18 leitoas pré-púberes tiveram o estro induzido por hormônios e foram inseminadas com doses de 100 milhões de espermatozóides em 20 ml introduzidos em apenas um corno uterino, 50 milhões em 10 ml, em ambos os cornos uterinos, e 100 milhões em 20 ml depositados no corpo do útero. Em ambos os experimentos, os diferentes volumes, doses inseminantes e locais de deposição não afetaram a taxa de fecundação ao abate, 48 horas após a IA.

### 2.1.2.3 Inseminação intra-uterina em condições de campo

Para que uma tecnologia seja adotada por uma indústria produtora, é de fundamental importância que ela apresente praticidade suficiente para ser executada pelos funcionários e para que possa ser incluída na rotina de trabalho da unidade. Apesar disso, poucos trabalhos têm sido realizados avaliando a inseminação intra-uterina utilizando protocolos de inseminação semelhantes aos tradicionalmente empregados pelas granjas de suínos.

Watson e Behan (2002) utilizaram doses de 1, 2 e 3 bilhões de espermatozóides diluídos em 80 ml com deposição tradicional ou intra-uterina (fatorial 3x2). As 3240 fêmeas utilizadas foram selecionadas para ordem de parto superior a 2 e intervalo desmama-estro de 4 a 6 dias. As fêmeas foram inseminadas na hora 0 (no dia em que o estro foi diagnosticado como positivo) e 24 horas após. As doses inseminantes foram produzidas em “split-sample”, ou seja, todos os seis tratamentos foram inseminados com doses produzidas a partir do mesmo ejaculado. O instrumento utilizado para deposição intra-uterina consistia de uma pipeta convencional de IA com um cateter interno, o qual se projeta 20 cm além da extremidade desta. Não existiram diferenças na taxa de parto ( $n=3201$ ) entre as doses com 1 (86,9%), 2 (92,5%) e 3 (90,5%) bilhões de espermatozóides com IA uterina e 2 (91,8%) e 3 (91,1%) bilhões com IA tradicional ( $P>0,05$ ). Somente a IA tradicional com 1 bilhão de espermatozóides apresentou taxa de parto (65,8%) significativamente menor ( $P<0,001$ ). Também não houve diferença no tamanho da leitegada entre as doses de 2 e 3 bilhões com IA tradicional e todos os grupos de IA intra-uterina ( $P>0,05$ ). Na IA tradicional, o tamanho de leitegada foi significativamente menor ( $P<0,001$ ) nas fêmeas inseminadas com 1 bilhão (10,3) em comparação àquelas com 3 bilhões de espermatozóides (12,5).

#### 2.1.2.4 Inseminação intra-uterina

Wolken (2001) utilizou uma única inseminação durante o estro com doses de 500 milhões em 20 ml, 100 milhões em 20 ml e 100 milhões de espermatozoides em 10 ml, em fêmeas multíparas. As fêmeas foram inseminadas 24-32 horas após o início do estro e foi determinado o momento da ovulação através de ultra-sonografia transcutânea. Não foram constatadas diferenças entre os grupos, na taxa de prenhez e no número de embriões viáveis, aos 28-35 dias de gestação.

Bennemann *et al.* (2003a) inseminaram, pela técnica intra-uterina, 57 fêmeas de ordem de parto 3 a 7 com doses de 1 e 2 bilhões de espermatozoides, em 60 ml, e intervalos pré-ovulatórios de 0 a 24 horas ou 25 a 36 horas. A taxa de prenhez (82,1% e 96,5%), número de embriões totais (16,3 e 14,7) e sobrevivência embrionária (70,8% e 64,1%) para 1 e 2 bilhões de espermatozoides, respectivamente, não foram influenciados pelo número de espermatozoides na dose nem pelo intervalo pré-ovulatório.

Mezalira *et al.* (2003) inseminaram 211 fêmeas (ordem de parto de 2 a 6) com uma pipeta para IA intra-uterina e doses de 1 bilhão, 500 milhões e 250 milhões de espermatozoides em 20 ml, com uma única dose direcionada para um intervalo de 0 a 24 horas antes da ovulação. Após a inseminação, 2 ml adicionais de diluente foram injetados com o objetivo de lavar em direção ao útero todo o sêmen remanescente no cateter. As fêmeas foram abatidas aos 34-41 dias para contagem de embriões e os resultados mostraram a possibilidade de obtenção de taxas de prenhez superiores a 85% e 14 embriões utilizando 500 milhões de espermatozoides com deposição intra-uterina do sêmen, em intervalo de 0 a 24 horas antes da ovulação.

### 2.1.2.5 Inseminação intra-uterina profunda

Wolken (2001) avaliou a inseminação intra-uterina em 28 multíparas 24-32 horas após o início do estro, com 100 milhões de espermatozóides diluídos em volumes de 5, 10 e 50 ml. Não existiram diferenças na taxa de prenhez e tamanho das leitegadas entre os diferentes volumes das doses.

Martinez *et al.* (2002) utilizaram uma pipeta de IA tradicional e um cateter flexível (1,8 m de comprimento e 1,8 mm de diâmetro). Os grupos de IA intra-uterina (n=372) tiveram o estro induzido com eCG e hCG e foram inseminados 36 horas após com doses de 150, 50, 25 e 10 milhões de espermatozóides em 5 ml, aquecidas a 30°C, seguidas da infusão de 5 ml de diluente. As fêmeas (n=147) do grupo controle (com estro espontâneo) foram inseminadas com doses de 3 bilhões em 100 ml no turno de entrada em estro e 24 horas após. As taxas de prenhez e de parição não foram diferentes entre as fêmeas inseminadas com 150 milhões (86,3%) e 50 milhões (77,8%) de espermatozóides, quando comparado ao grupo controle (86,4%). Porém, existiu diminuição significativa ( $P < 0,001$ ) nesse parâmetro, quando as doses utilizadas continham 25 (51,7%) ou 10 (39,1%) milhões. Diferentemente do efeito sobre a taxa de prenhez, o número de espermatozóides não influenciou o tamanho da leitegada.

Vazquez *et al.* (2003), utilizando a técnica de sexagem de espermatozóides por citometria de fluxo, a qual pode promover comprometimento parcial da funcionalidade da membrana dos espermatozóides, alterando a sua viabilidade, possibilidade de armazenamento e fertilidade das células, produziram doses com 70 e 140 milhões de espermatozóides submetidos ou não à sexagem. No experimento 1, fêmeas com ordem de parto 2 a 6 e duração média da lactação de 21 dias tiveram estro induzido com eCG + hCG e foram inseminadas por deposição intra-uterina com pipeta e cateter flexível (1,8 m de comprimento e 1,8 mm de diâmetro), 38 horas após a aplicação do hCG. As fêmeas inseminadas com doses submetidas à sexagem apresentaram redução na taxa de prenhez e de parição comparadas com as não sexadas, independentemente do número de espermatozóides utilizado ( $P < 0,05$ ). No entanto, o tamanho das leitegadas não foi influenciado nem pelo número de espermatozóides da dose nem pelo fato de terem sido sexados ou não. No experimento 2, foram utilizadas as mesmas doses do experimento 1

para inseminar fêmeas múltiplas, com estro espontâneo, cujos ovários apresentassem múltiplos folículos maiores que 6 mm, após um exame de ultra-sonografia transcutânea, em tempo real. Apenas houve diferença entre doses sexadas ou não ( $P < 0,05$ ), sem a influência do número de espermatozóides na dose sobre a taxa de prenhez, de parição e tamanho da leitegada.

Roca *et al.* (2003) avaliaram a fertilidade de fêmeas desmamadas usando a inseminação intra-uterina com sêmen congelado (motilidade média de 46 a 62% após o descongelamento) e sêmen fresco (4 a 6 horas após a coleta e diluição). A IA intra-uterina foi realizada com o auxílio de uma pipeta e um cateter flexível (1,8 m de comprimento e 1,8 mm de diâmetro interno). No primeiro experimento, as fêmeas tiveram o estro induzido com eCG e hCG. Uma única IA foi realizada 36 a 40 horas após a aplicação de hCG. Os autores compararam quatro tratamentos: 1 bilhão de espermatozóides (congelados)-IA intra-uterina ( $n=49$ ); 6 bilhões (congelados)-IA tradicional ( $n=33$ ); 150 milhões (sêmen fresco)-IA intra-uterina ( $n=29$ ), e 3 bilhões (sêmen fresco)-IA tradicional ( $n=52$ ), este último com IA 12 e 24 horas após o início do estro. Nos três primeiros tratamentos o volume da dose foi 5 ml. Os autores obtiveram taxa de prenhez de 79,6% e 82,8% utilizando IA intra-uterina com 1 bilhão de espermatozóides congelados e 150 milhões de sêmen fresco, respectivamente, e 78,8% com IA tradicional e 6 bilhões de espermatozóides congelados. Não existiram diferenças nas taxas de prenhez, de parição e tamanho de leitegada entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). No experimento 2, as fêmeas foram inseminadas 30 e 42 horas após o início do estro com doses de 1 bilhão de espermatozóides congelados-IA intra-uterina ( $n=40$ ) e 150 milhões de espermatozóides (sêmen fresco) -IA intra-uterina ( $n=38$ ), ambos em 5 ml. Um terceiro grupo foi inseminado com 3 bilhões de espermatozóides (sêmen fresco) – IA tradicional. As taxas de prenhez e de parição obtidas com sêmen fresco foram superiores àquelas obtidas com sêmen congelado ( $P < 0,05$ ), porém a mesma diferença não foi observada no número de leitões nascidos por leitegada ( $P > 0,05$ ). Segundo os autores, esses resultados preliminares indicam que a tecnologia de IA intra-uterina permite elevar os índices de fertilidade com sêmen congelado, utilizando doses com reduzido número de espermatozóides.

## 2.2 Dificuldade de passagem do cateter pela cérvix

Inicialmente, uma das principais limitações para utilização da IA intra-uterina era a dificuldade de atravessar os anéis da cérvix e alcançar o ambiente uterino de forma não-cirúrgica, sem sedação do animal e promovendo o menor grau de lesão possível ao trato genital. A informação sobre o sucesso do procedimento de passagem dos endoscópios ou cateteres utilizados para IA intra-uterina apresentada nos estudos realizados até o momento retratam um grau de sucesso sempre superior a 90%.

Vazquez *et al.* (1999) utilizaram um endoscópio flexível (1,95 m de comprimento e 3,3 mm de diâmetro) no segundo dia após o início do estro, em 33 fêmeas, sem sedação ou anestesia. Os autores conseguiram ultrapassar a cérvix em 90% dos animais e alcançar a extremidade do corno uterino num período de 3 a 7 minutos. Não foram observadas reações que pudessem indicar desconforto, mostrando ser um método bem tolerado pelas fêmeas.

Martinez *et al.* (2002) encontraram grau de dificuldade médio e alto em 8% das fêmeas ao utilizar uma pipeta de IA e um cateter flexível com 1,8 m de comprimento e 1,8 mm de diâmetro interno, e obtiveram sucesso durante a passagem do cateter através da cérvix em 95,4% das porcas, com tempo médio de 3,7 minutos, sendo que a ordem de parto e a duração da lactação não influenciaram nas dificuldades encontradas, nem no tempo requerido para inserção. Adicionalmente, após a inserção do cateter, foi medida a distância entre a extremidade do cateter e a extremidade do corno uterino, em 6 fêmeas, por laparotomia (mantidas sob anestesia geral). A extremidade do cateter localizou-se no terço médio (um animal) e no terço inicial do corno uterino (5 animais), em média, a  $25,5 \pm 6,7$  cm (de 8 a 55 cm) da junção útero-tubárica.

Watson e Behan (2002) utilizaram um cateter com 2 mm de diâmetro interno conduzido por uma pipeta de inseminação tradicional. Em 46 das 51 fêmeas (90,2%), de ordem de parto 2 a 11, o cateter pôde ser inserido em sua totalidade, sem dificuldades. Foi observada presença de sangue na extremidade do cateter em 1,8% das inseminações.

Roca *et al.* (2003), utilizando uma pipeta de IA e um cateter flexível obtiveram sucesso durante a passagem através da cérvix, em 94% das fêmeas, e o tempo gasto para cada inseminação foi de 4,4 minutos (amplitude de 3 a 6 minutos).

No experimento B de Dallanora *et al.* (2003) e naquele de Bennemann *et al.* (2003a), foi obtido 100% de sucesso na passagem do cateter, totalizando 268 fêmeas inseminadas com uma pipeta comercial especificamente desenvolvida para a prática da IA intra-uterina.

### 2.3 Refluxo de sêmen

Segundo Levis *et al.* (2002), apesar das causas de refluxo em suínos serem ainda pouco conhecidas, algumas vezes este pode ser o resultado de erros na técnica de IA e da falta de habilidade do inseminador. Langendijk *et al.* (2002) demonstraram grande variação na atividade de contratilidade do miométrio entre fêmeas durante o estro. Isso poderia explicar as variações de refluxo entre fêmeas e entre inseminações de uma mesma fêmea.

O número de espermatozóides é drasticamente diminuído durante a fase de transporte através do trato genital da fêmea. Embora bilhões de células sejam infundidos, apenas alguns milhares alcançam o reservatório espermático na porção caudal do istmo e junção útero-tubárica (MBURU *et al.*, 1996). As perdas de espermatozóides durante a IA e, posteriormente, durante a permanência destes dentro do trato genital feminino, são promovidas basicamente por refluxo e fagocitose, além de aderência ao epitélio ciliado do endométrio e migração dentro das glândulas uterinas (RATH *et al.*, 2000).

A diminuição do volume e do número de espermatozóides do trato genital feminino ocorre rapidamente após a deposição do sêmen, sendo o refluxo o responsável pela eliminação de aproximadamente 30% dos espermatozóides em até 2 horas após a IA (VIRING, EINARSSON, 1981). Assim, perdas durante e após a IA podem diminuir o número de células que alcançam o oviduto e, conseqüentemente, o local da fecundação (STEVERINK *et al.*, 1998).

Baker *et al.* (1968) mediram o volume de sêmen refluído durante a inseminação de leitões com doses com 1, 5 e 10 bilhões de espermatozóides com volumes de 20, 100 e 200 ml, em experimento fatorial 3x3. Os percentuais médios de perda de volume no momento da IA foram 20%, 22% e 48%, quando as fêmeas foram inseminadas 6 horas antes da ovulação (experimento 1), e 40%, 39% e 51% quando a IA ocorreu 8 horas antes da ovulação (experimento 2), para 20, 100 e 200 ml infundidos, respectivamente.



Steeverink *et al.* (1998) trabalharam com fêmeas suínas inseminadas uma única vez, com doses de 80 ml e contendo 1, 3 e 6 bilhões de espermatozóides, e avaliaram o refluxo em três momentos: durante a IA (M1), durante os primeiros 30 minutos após o término da IA (M2) e a partir dos 30 até 150 minutos após o término da IA (M3). A porcentagem média de volume coletado ao final de 150 minutos foi 70% (17-120%) do volume infundido e 25% (3-48%) do número de espermatozóides infundidos. Foi constatado nesse trabalho que, em doses com um bilhão de espermatozóides, perdas iguais ou superiores a 5% dos espermatozóides no refluxo no momento da inseminação afetaram negativamente o percentual de embriões normais. A porcentagem de espermatozóides refluídos não foi influenciada pelo número de espermatozóides da dose inseminante ( $P>0,05$ ) e o intervalo IA-ovulação não teve relação com o volume de refluxo, em nenhuma das três medidas ( $P>0,05$ ).

Flores (2001) coletou o refluxo de 604 fêmeas durante cada IA e de 108 fêmeas até 120 minutos após cada IA. As fêmeas foram distribuídas em três grupos inseminadas pelo método “Auto-IA”, método tradicional sem intervenção do funcionário e método tradicional com o tempo de infusão da dose atrelado à pressão realizada pelo inseminador. As fêmeas foram inseminadas três a quatro vezes durante o estro com doses de 100 ml e 4 bilhões de espermatozóides. Durante a infusão da dose, o mais comum foi a ausência de refluxo, embora, em algumas fêmeas, tenha sido eliminado 65 e até 80% do volume original. Até 2 horas após a realização da IA, foi observada grande amplitude de volume refluído e perdas de 65 a 73%. Para os dados de espermatozóides no refluxo, foi observado que o percentual refluído estabeleceu-se entre 28 e 32% do número de células espermáticas da dose infundida, com variação de 0 a 105%.

No experimento B de Dallanora *et al.* (2003), 154 fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos e inseminadas pela técnica IA intra-uterina com doses de 1 bilhão (T1), 500 milhões (T2) e 250 milhões (T3) de espermatozóides em 20 ml. Foi realizada a coleta de refluxo no momento e até 60 minutos após a realização da IA intra-uterina. Não existiu refluxo no momento da realização da IA intra-uterina, em nenhuma fêmea. O percentual de volume e de espermatozóides não foi diferente entre os tratamentos. Houve correlação significativa ( $P=0,0003$ ) negativa entre o percentual de espermatozóides e o número de embriões totais ( $R=-0,34$ ) e, quando o percentual de espermatozóides

refluídos foi superior a 15%, houve redução na taxa de prenhez no T1 (90,2% para 71,4%;  $P=0,04$ ) e T3 (84,3% para 57,9%;  $P=0,02$ ).

**ARTIGO ENVIADO PARA A REVISTA  
PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA**

**Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas pela técnica intra-uterina ou tradicional**

Djane Dallanora<sup>(1)</sup>, Alisson Mezalira<sup>(1)</sup>, Lia Helena Katzer<sup>(2)</sup>, Mari Lourdes Bernardi<sup>(3)</sup>,  
Fernando Pandolfo Bortolozzo<sup>(1)</sup> e Ivo Wentz<sup>(1)</sup>

Resumo - O desempenho reprodutivo de fêmeas suínas foi avaliado com o objetivo de comparar duas técnicas de inseminação. Foram inseminadas, em delineamento inteiramente casualizado, 608 fêmeas com ordem de parto de dois a quatro, em dois tratamentos: inseminação intra-uterina (IAU) com 1,5 bilhão de espermatozóides em 60 mL ou inseminação tradicional (IAT), com 3 bilhões em 90 mL. Foi possível introduzir o cateter de IAU em 97,4% das fêmeas e houve sangramento em 9,5%, as quais apresentaram retorno ao estro superior ( $p < 0,05$ ). O percentual de volume refluído até duas horas após a inseminação foi maior ( $p < 0,05$ ) na IAU do que na IAT, enquanto o percentual de espermatozóides refluídos foi semelhante. Não houve influência do percentual de espermatozóides refluídos sobre a taxa de parto e tamanho da leitegada. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) nas taxas de retorno ao estro (3,6% e 4,3%), de prenhez aos 21 dias (99,5% e 97,2%), de parto ajustada (94,9% e 94,3%) e tamanho da leitegada (11,6 e 11,8 leitões) entre IAU e IAT, respectivamente. A IAU permite a obtenção de desempenho reprodutivo semelhante ao observado com a IAT, porém com uso de menor número de espermatozóides.

**Termos para indexação: número de espermatozóides, parto, refluxo de sêmen, reprodução, tamanho da leitegada, taxa de prenhez.**

---

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária, Setor de Suínos, Av. Bento Gonçalves, 9090, CEP 91540-000 Porto Alegre, RS. E-mail: [ddallanora@yahoo.com.br](mailto:ddallanora@yahoo.com.br), [amezalira@yahoo.com.br](mailto:amezalira@yahoo.com.br), [fpbortol@ufrgs.br](mailto:fpbortol@ufrgs.br), [ivowentz@ufrgs.br](mailto:ivowentz@ufrgs.br)

<sup>(2)</sup> Perdigão Agroindustrial S/A, Rodovia BR 060, Km 394, CP 351, CEP 75901-970 Rio Verde, GO. E-mail: [lkatzer@uol.com.br](mailto:lkatzer@uol.com.br).

<sup>(3)</sup> UFRGS, Faculdade de Agronomia, Departamento de Zootecnia, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000 Porto Alegre, RS. E-mail: [bernardi@orion.ufrgs.br](mailto:bernardi@orion.ufrgs.br)

### **Reproductive performance of swine females inseminated by intrauterine or traditional technique**

Abstract - The reproductive performance of sows was evaluated with the aim of comparing two insemination techniques. In a completely randomized design, 608 females of 2-4 parities were inseminated in two treatments: intrauterine (IUI) with  $1.5 \times 10^9$  spermatozoa/60 mL or traditional (TAI) insemination with  $3 \times 10^9$  spermatozoa/90 mL. It was possible to insert the IUI catheter in 97.4% of females and bleeding was observed in 9.5%, which had a higher probability to repeat estrus ( $p < 0.05$ ). The percentage of semen backflow volume, during two hours after insemination, was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in IUI than TAI, whereas sperm backflow percentage was similar. The sperm backflow percentage did not influence the farrowing rate and the litter size. There was no difference in the return to estrus rate (3.6%; 4.3%), pregnancy rate at 21 days post-insemination (99.5%; 97.2%), adjusted farrowing rate (94.9%; 94.3%) and average litter size (11.6; 11.8 piglets) between IUI and TAI, respectively. The IUI ensures a reproductive performance similar to TAI, but with a lower sperm number.

Index terms: sperm number, farrowing, semen backflow, reproduction, litter size, pregnancy rate

## Introdução

Na inseminação com deposição cervical, na espécie suína, tradicionalmente, a dose inseminante contém 2 a 4 bilhões de espermatozóides, em volume de 80 a 100 mL, que podem ser armazenados por até três dias à temperatura de 15 a 18°C (Martinez et al., 2001, Bortolozzo et al., 2003). A inseminação pode ser repetida duas a três vezes durante o estro, podendo totalizar 12 bilhões de espermatozóides (Rath et al., 2000).

A necessidade de grande volume e número de espermatozóides na dose inseminante devem-se, provavelmente, às características anatômicas da cerviz e dos cornos uterinos da fêmea suína. Os cornos uterinos, com comprimento de 50 cm ou mais (Watson & Behan, 2002), e a cerviz representam grandes barreiras fisiológicas para a chegada das células espermáticas ao reservatório na junção útero-tubárica. Nesse percurso, os espermatozóides pode ser expostos à ação fagocitária dos polimorfonucleares (Rozeboom et al., 1998), que, juntamente com o refluxo (Steverink et al., 1998), podem ser as principais formas de eliminação espermática do trato genital feminino.

Há mais de 40 anos, estudos já haviam sido efetuados para determinar o número de espermatozóides e o volume da dose inseminante necessários para obter bom desempenho reprodutivo com a deposição intra-uterina de sêmen (Hancock, 1959; Hancock & Hovell, 1961). No entanto, a utilização da inseminação artificial (IA) em suínos, em grande escala, foi alcançada com a técnica de deposição do sêmen na cerviz. Nos últimos cinco anos, os estudos com IA cirúrgica confirmaram a possibilidade de reduzir o número de espermatozóides com a deposição da dose inseminante próximo à junção útero-tubárica (Krueger et al., 1999; Krueger & Rath, 2000). Já que a técnica cirúrgica não pode ser realizada de forma rotineira nas granjas suinícolas, instrumentos que viabilizam a deposição do sêmen o mais próximo possível do local da fecundação, de forma não-cirúrgica, foram desenvolvidos (Vazquez et al., 2000; Martinez et al., 2001; Watson & Behan, 2002), o que pode possibilitar o uso de menor número de espermatozóides no processo de IA. Porém, existem poucos estudos comparativos entre as duas técnicas, em condições de campo, em granjas comerciais.

Assim, foi avaliado o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas com o objetivo de comparar as técnicas de inseminação artificial intra-uterina e tradicional.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi realizado numa granja comercial, com produção de suínos em ciclo completo, na região do Centro-oeste brasileiro, no período de janeiro a julho de 2002. Em delineamento inteiramente casualizado, foram utilizadas 608 fêmeas pluríparas da linhagem Cambourough 22 (Agroceres-PIC), com ordem de parto de dois a quatro, intervalo desmame-estro entre dois e seis dias, duração da lactação entre 15 e 19 dias e tamanho médio de leitegada nos partos anteriores superior a nove leitões. Após o início do estro, as fêmeas foram distribuídas uniformemente, considerando as características citadas anteriormente, em dois tratamentos. No tratamento inseminação intra-uterina (IAU), as fêmeas (n=304) foram inseminadas com pipeta de IA descartável e um cateter de polipropileno, de 4 mm de diâmetro externo, que deslizava internamente à pipeta, estendendo-se 20 cm além da cérvix, alcançando o corpo do útero ou um dos cornos uterinos, permitindo a deposição intra-uterina da dose inseminante. No tratamento inseminação tradicional (IAT), as fêmeas (n=304) receberam inseminação cervical, com pipeta de borracha do tipo Melrose.

A coleta do sêmen dos seis machos doadores foi realizada pelo método da mão enluvada, duas vezes por semana. A concentração foi aferida através da contagem direta de espermatozoides em câmara hemocitométrica. Os ejaculados foram diluídos em Beltsville Thawing Solution (BTS), em doses de 1,5 bilhão de espermatozoides em 60 mL ou de 3 bilhões em 90 mL, na IAU e IAT, respectivamente. Todas as doses foram produzidas em “split sample”, ou seja, as doses utilizadas para ambos os tratamentos foram produzidas a partir dos mesmos ejaculados. Foi realizada uma contagem de contraprova para aferir a concentração de cada dose produzida.

Após o desmame, foi realizada a detecção do estro, duas vezes ao dia, pelo reflexo de tolerância ao homem na presença do macho. A primeira inseminação foi realizada no turno subsequente ao início do estro, repetindo-se em intervalos de oito a 16 horas entre elas, podendo ser realizada uma quarta inseminação, 24 horas após a terceira. Casos de presença de sangue na pipeta ou no refluxo, após a IA, foram registrados.

Foi coletado o refluxo de sêmen em 32 fêmeas de cada tratamento, no momento da IA e até duas horas após, utilizando bolsas de colostomia descartáveis, aderidas na região peri-vulvar. O volume total de refluxo foi pesado e o número total de espermatozoides foi

contado em câmara hemocitométrica. Foi efetuado o diagnóstico de retorno ao estro a partir dos 18 e até 23 dias após a IA, pelo teste de reflexo de tolerância ao homem na presença do macho. O diagnóstico de gestação, utilizado para o cálculo da taxa de prenhez, foi realizado aos 20-22 dias após a IA, por ultra-sonografia transcutânea em tempo real, com transdutor linear convexo de 5 MHz, em 210 e 211 fêmeas submetidas à inseminação intra-uterina e tradicional, respectivamente. No parto, foram coletados dados referentes ao número de leitões nascidos.

As taxas de retorno ao estro, de prenhez e de parto ajustada (calculada excluindo-se todos os animais que não pariram por causas não reprodutivas) e a presença de sangue após a realização da IA foram analisadas pelo teste do qui-quadrado. Os dados de tamanho de leitegada, de todas as fêmeas que pariram, foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM (SAS, 1999), sendo as médias comparadas pelo teste t. Foram calculados os percentuais de volume e de espermatozóides refluídos nas 64 fêmeas submetidas à coleta de refluxo de sêmen após a IA (32 de cada tratamento), considerando o total de inseminações recebidas por fêmea. Esses percentuais foram submetidos à análise não-paramétrica pelo procedimento NPAR1WAY (SAS, 1999), e a comparação entre os tratamentos foi efetuada pelo método de Mann-Whitney. Foi analisada a correlação do percentual de volume e de espermatozóides no refluxo com o número de leitões nascidos. Além disso, as fêmeas foram separadas em duas categorias, de acordo com o percentual de perda de espermatozóides no refluxo: abaixo de 20% (baixo) e acima de 20% (alto). As taxas de parto e o número de leitões nascidos foram comparados, entre os grupos de fêmeas, de acordo com esses percentuais de perda. Em todas as análises, o nível de significância foi 5%.

### **Resultados e Discussão**

Foi possível a introdução do cateter no lúmen uterino em 97,4% das fêmeas submetidas à inseminação intra-uterina (304/312). Desde o início das pesquisas com a deposição intra-uterina de sêmen suíno, independentemente do tipo de equipamento utilizado, como endoscópios (Vazquez et al., 2000), cateteres flexíveis (Martinez et al., 2001,2002; Vazquez et al., 2002) e pipetas específicas para IAU (Watson & Behan, 2002; Wolken, 2001; Mezalira et al., 2003), o sucesso da passagem da pipeta e do cateter no trato



genital das fêmeas sempre foi superior a 90%, inclusive no trabalho em que as inseminações foram conduzidas pelos funcionários das granjas (Watson & Behan, 2002). Provavelmente, fatores individuais das fêmeas sejam os principais responsáveis pela dificuldade ou facilidade de passagem do cateter, já que, em pesquisa anterior, nem a ordem de parto, com amplitude de dois a seis, nem a duração da lactação, de 16 a 27 dias, tiveram influência sobre este aspecto (Martinez et al., 2002).

Foi observada a presença de sangue no cateter ou no sêmen refluído, pelo menos em uma das IAU, em 9,5% das fêmeas (29/304). A taxa de retorno ao estro foi superior ( $p=0,002$ ) nas fêmeas com sangramento (4/29; 13,8%) em comparação à observada nas fêmeas sem sangramento (7/275; 2,6%). Watson & Behan (2002) utilizaram o mesmo tipo de pipeta empregada no presente trabalho e observaram presença de sangue em 1,8% das fêmeas, mas não avaliaram o efeito deste evento sobre a taxa de retorno ao estro. Sabe-se que a passagem do cateter de IAU, utilizado no presente experimento, não é possível em fêmeas nulíparas ou primíparas. A maior ocorrência de sangramento, no presente trabalho, talvez possa ser explicada pela inseminação de fêmeas de ordem de parto dois a quatro, inferior às utilizadas (2 a 11) por Watson & Behan (2002). Além disso, esses autores somente registraram a presença de sangue por ocasião da remoção do cateter de inseminação enquanto, no presente estudo, foi considerada também a presença de sangue no refluxo pós-inseminação.

O percentual de volume refluído até duas horas após a IA foi maior nas fêmeas IAU ( $p=0,0003$ ) quando comparadas às fêmeas IAT, não existindo diferenças ( $p>0,05$ ) no percentual de células espermáticas presentes no refluxo (Tabela 1). É possível que a deposição dos espermatozoides no terço inicial/médio do útero facilite a progressão rápida destes em direção ao reservatório espermático, permitindo maior retenção de células no trato genital, mesmo com grande volume de refluxo. Outra hipótese é que a presença do cateter no corpo ou corno uterino pode induzir uma maior liberação de hormônios que estimulam a contratilidade uterina, permitindo um transporte espermático mais eficiente (Martinez et al., 2002). Além disso, a IAU possibilita uma diminuição da perda das células que ficariam depositadas nos anéis cervicais, já que o sêmen é depositado diretamente dentro do útero.

O refluxo vulvar de sêmen após a inseminação parece ser freqüente em suínos. Os percentuais de volume e de espermatozóides no refluxo observados com a IAT, no presente trabalho, foram semelhantes aos verificados em trabalhos anteriores (Steverink et al., 1998; Flores, 2001). Com a IAU, contrariando o que era esperado, um grande percentual de volume refluído foi observado. A amplitude do percentual de volume de refluxo variou de zero a valores superiores a 100% em ambos os tratamentos, sendo que uma fêmea IAU e cinco IAT apresentaram refluxo igual a zero e 14 fêmeas IAU e uma IAT apresentaram refluxo superior a 100%. A grande amplitude observada no percentual de volume refluído está de acordo com os dados de outros autores que, utilizando IAT, observaram volume de refluxo entre 20 e 120% (Steverink et al., 1998) ou entre zero e 118% (Flores, 2001), evidenciando a presença de secreção proveniente do trato genital feminino na constituição do volume total de refluxo. Conforme Steverink et al. (1998) e Flores (2001), os valores de refluxo são variáveis entre fêmeas e entre as inseminações de uma mesma fêmea. No presente trabalho, ao considerar os dados das inseminações, para cada fêmea, foi confirmada essa variação, sendo possível apresentar alto volume de refluxo em uma das inseminações e baixo percentual na inseminação subsequente ou vice-versa.

Segundo Hancock (1959) e Levis et al. (2002), a IAU permite a diminuição da perda de células espermáticas por refluxo vulvar durante e após a realização da inseminação artificial. Steverink et al. (1998) observaram que perdas superiores a 5% do número de espermatozóides no momento da inseminação artificial tradicional afetaram negativamente a fecundação em fêmeas inseminadas com 1 bilhão de espermatozóides, mas não naquelas inseminadas com 3 e 6 bilhões, evidenciando a importância do refluxo em inseminações com baixo número de espermatozóides. No presente trabalho não foi registrado nenhum caso de refluxo no momento da IAU, confirmando que esta técnica permite reduzir as perdas no momento da inseminação. Por outro lado, as perdas de espermatozóides, até duas horas após a inseminação, não diferiram ( $p>0,05$ ) entre IAU e IAT (Tabela 1). Essas perdas não influenciaram a taxa de parto e o número de leitões nascidos, em ambos os tratamentos ( $p>0,05$ ), independentemente de serem inferiores ou superiores a 20% (Tabela 2). O fato de terem sido realizadas várias inseminações em cada fêmea pode ter contribuído para a não ocorrência de diferenças nas taxas de prenhez, bem

como para a ausência de correlação entre o percentual de espermatozóides no refluxo ( $p=0,39$ ) e o número de leitões nascidos.

Não houve diferença ( $p>0,05$ ) nas taxas de retorno ao estro, de prenhez, de parto, de parto ajustada e no número de leitões nascidos (Tabela 3). Isto indica que a deposição intra-uterina de 1,5 bilhão de espermatozóides permitiu a formação eficiente do reservatório espermático na junção útero-tubárica e adequada fecundação. As taxas de prenhez e de parto de ambos os tratamentos foram superiores às observadas normalmente nas granjas. Provavelmente, o fato de não terem sido selecionadas fêmeas com intervalo desmame-estro prolongado, magras, com problemas de aparelho locomotor, com retorno ao estro ou com lactação prolongada, pode ter influenciado positivamente nos resultados de ambos os tratamentos.

A dose inseminante de 1,5 bilhão de espermatozóides parece não ser o limite máximo de redução permitido pela técnica de deposição intra-uterina do sêmen, embora, em condições comerciais, poucos trabalhos tenham sido realizados para confirmar o sucesso da aplicação desta técnica com número reduzido de espermatozóides. Watson & Behan (2002) inseminaram fêmeas na rotina normal de IA de diferentes granjas com a técnica intra-uterina, e obtiveram 86,9% de parto e 12,1 leitões nascidos com doses de um bilhão de espermatozóides. Embora Martinez et al. (2002) tenham obtido taxas de parto de 76,2% e 82,9%, utilizando 50 e 150 milhões de espermatozóides em 5 mL de diluente, em inseminação única, as taxas de prenhez observadas por Wolken (2001) foram inferiores, com doses de 500 e 100 milhões de espermatozóides em 20 mL (77,3 e 65,2%, respectivamente). Bennemann et al. (2003) constataram que as taxas de prenhez e o número de embriões de 57 fêmeas submetidas a uma única IAU, em intervalos IAU-ovulação de 0 a 24h ou 25 a 36h, foram semelhantes para doses de 1 e 2 bilhões de espermatozóides em 60 mL de diluente. Mezalira et al. (2003) trabalharam com IAU direcionada para um intervalo de 0-24h entre IAU-ovulação e obtiveram taxas de prenhez de 85,5% com 500 milhões de espermatozóides em 20 mL, com redução significativa para 77,1%, quando a dose continha 250 milhões de espermatozóides. Esses dados apontam para a possibilidade de investigar o uso comercial da IAU com doses inferiores a 1 bilhão de espermatozóides, além de avaliar estratégias de IA, associando o número mínimo de espermatozóides necessários e o intervalo ideal entre a deposição intra-uterina do sêmen e o momento da ovulação.

### Conclusões

1. A inseminação intra-uterina de fêmeas suínas, de ordem de parto dois a quatro, com doses de 1,5 bilhão de espermatozóides, permite a obtenção de desempenho reprodutivo semelhante ao observado com a inseminação cervical tradicional, com doses de 3 bilhões de espermatozóides.

### Referências

BENNEMANN, P.E.; MILBRADT, E.; DIEHL, G.N.; VIDOR, R.; FRIES, H.C.C.; BERNARDI, M.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P. Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas à inseminação intra-uterina com 1 e 2 x 10<sup>9</sup> espermatozóides em diferentes intervalos pré-ovulatórios. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA, 2003. p.211-212.

BORTOLOZZO, F.P.; DALLANORA, D.; BERNARDI, M.L.; BENNEMANN, P.E.; WENTZ, I. Técnicas associadas à inseminação artificial no suíno que visam a redução do número de espermatozóides necessários por fêmea ao ano. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.27, n.2, p.133-139, 2003.

FLORES, L.A.S. **Comparação entre os métodos “auto-IA”, intermediário e tradicional de inseminação artificial em suínos.** 2001. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

HANCOCK, J.L Pig insemination technique. **Veterinary Record**, London, v.71, p.523-527, 1959.

HANCOCK, J.L.; HOVELL, J.R. The effect of semen volume and number of spermatozoa on the fertility of intra-uterine inseminations of pigs. **Animal Production**, Haddington, v.3, p.153-160, 1961.

KRUEGER, C.; RATH, D.; JOHNSON, L.A. Low dose insemination in synchronized gilts. **Theriogenology**, Stoneham, v.52, p.1363-1373, 1999.

KRUEGER, C.; RATH, D. Intrauterine insemination in sows with reduced sperm number. **Reproduction Fertility and Development**, Victoria, n.12, p.113-117, 2000.

LEVIS, D.G.; BURROUGHS, S.; WILLIAMS, S. Use of intrauterine insemination of pigs: pros, cons e economics. 2002. Disponível em: <<http://www.porkinfo.osu.edu>>. Acesso em: 01 nov. 2002.

MARTINEZ, E.A.; VAZQUEZ, J.M.; ROCA, J.; LUCAS, X.; GIL, M.A.; PARRILLA, I.; VAZQUEZ, J.L.; DAY, N. Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. **Reproduction**, Cambridge, v.123, p.289-296, 2001.

MARTINEZ, E.A.; VAZQUEZ, J.M.; ROCA, J.; LUCAS, X.; GIL, M.A.; PARRILLA, I.; VAZQUEZ, J.L.; DAY, N. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. **Reproduction**, Cambridge, v.123, p.163-170, 2002.

MEZALIRA, A.; DALLANORA, D.; SCHMIDT, A.C.T.; ZILLI, R.; BERNARDI, M.L.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P. Inseminação intra-uterina em fêmeas suínas com redução no volume e número de espermatozóides. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA, 2003, p.217-218.

RATH, D.; KRUEGER, C.; JOHNSON, L.A. Low dose insemination technique in the pig. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION, 4., 2000, Beltsville. **Proceedings...** Lawrence: Allen Press, 2000. p.115-118.

ROZEBOOM, K.J.; TROEDSSON, M.H.T.; CRABO, B.G. Characterization of uterine

leukocyte infiltration in gilts after artificial insemination. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, n.114, p.195-199, 1998.

SAS INSTITUTE (Cary, Estados Unidos). **Sas user's guide**: statistical analysis system. Version 8, Cary, 1999. 1464p.

**STEVERINK D.W.B.; SOEDE, N.M.; KEMP, B. Influence of insemination to ovulation interval and sperm cell dosage on fertilization in sows.** *Animal Reproduction Science, Amsterdam, v.54, p.109-119, 1998.*

VAZQUEZ, J.L.; MARTINEZ, E.A.; VAZQUEZ, J.M.; LUCAS, X.; GIL, M.A.; PARRILLA, I.; ROCA, J. Development of a non-surgical deep intrauterine insemination technique. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION, 4., 2000, Beltsville. **Proceedings...** Lawrence: Allen Press, 2000. p.262-265.

VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A.; PARRILLA, I., ROCA, J.; GIL, M.A.; VAZQUEZ, J.L. Birth of piglets after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. **Theriogenology**, Stoneham, v.59, n.7, p.1605-1614, 2002.

WATSON, P.F.; BEHAN, J.R. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. **Theriogenology**, Stoneham, v.57, p.1683-1693, 2002.

WOLKEN, A. **Untersuchungen zur unchirurgischen und chirurgischen distalen intrauterinen Besamung mit reduzierter Spermienzahl bei Jun- und Altausen.** 2001. 135p. Tese (Doutorado em Reprodução de Suínos) - Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, 2001.

**Tabela 1.** Percentual de volume e de espermatozoides refluídos até 120 minutos após a inseminação intra-uterina ou inseminação tradicional em fêmeas suínas<sup>(1)</sup>.

Inseminação	Volume refluído (%) <sup>(1)</sup>			Espermatozoides refluídos (%) <sup>(2)</sup>		
	Média	Mediana	Amplitude	Média	Mediana	Amplitude
Intra-uterina	75,4 ± 24,9	81,7	0-121,7	22,7 ± 14,2	21,2	0-85,7
Tradicional	62,7 ± 24,7	66,7	0-111,1	23,0 ± 14,2	20,0	0-62,7

<sup>(1)</sup>Significativo, na coluna, a 5% de probabilidade pelo teste de Mann-Whitney. <sup>(2)</sup>Não significativo, na coluna, a 5% de probabilidade pelo teste de Mann-Whitney.

**Tabela 2.** Taxa de parto e número de leitões nascidos em relação aos níveis baixo (inferior a 20%) ou alto (superior a 20%) do percentual de espermatozóides no refluxo da inseminação intra-uterina ou tradicional.

Inseminação	Taxa de parto <sup>(1)</sup>		Nascidos totais <sup>(2)</sup>	
	Baixo	Alto	Baixo	Alto
Intra-uterina	15/15 (100)	15/16 (93,8)	11,5 ± 2,0	11,9 ± 3,8
Tradicional	8/9 (88,9)	21/21 (100)	11,2 ± 1,7	11,5 ± 3,5

<sup>(1)</sup>Não significativo, na linha, a 5% de probabilidade, pelo teste de qui-quadrado. <sup>(2)</sup>Não significativo, na linha, a 5% de probabilidade, pelo teste t.



**Tabela 3.** Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após inseminação intra-uterina ou tradicional.

Parâmetros	Intra-uterina	Tradicional
Inseminações por fêmea (n <sup>o</sup> ) <sup>(1,3)</sup>	3,3 ± 0,48	3,3 ± 0,48
Taxa de retornos ao estro (%) <sup>(2)</sup>	3,6 (11/304)	4,3 (13/304)
Taxa de prenhez (%) <sup>(2)</sup>	99,5 (209/210)	97,2 (205/211)
Taxa de parto (%) <sup>(2)</sup>	92,8 (282/304)	93,4 (283/303)
Taxa de parto ajustada (%) <sup>(2)</sup>	94,9 (282/297)	94,3 (283/300)
Total de leitões nascidos (n <sup>o</sup> ) <sup>(1,3)</sup>	11,6 ± 2,6 (282)	11,8 ± 2,8 (283)

<sup>(1)</sup>Médias ± desvio-padrão. <sup>(2)</sup>Não significativo, na linha, a 5% de probabilidade, pelo teste de qui-quadrado. <sup>(3)</sup>Não significativo, na linha, a 5% de probabilidade, pelo teste t.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Provavelmente, as principais preocupações, quando novas tecnologias são desenvolvidas, são a viabilidade de sua utilização em condições de campo, sem alterações da rotina de trabalho das unidades, e sua viabilidade econômica.

A diferença básica entre a realização da técnica de inseminação intra-uterina em relação à inseminação tradicional é a introdução de um cateter através do canal cervical, além da pipeta normalmente utilizada. Têm sido sugerido que um breve treinamento da equipe de inseminação das granjas é suficiente para que a técnica seja realizada sem maiores dificuldades (WATSON, BEHAN, 2002; LEVIS *et al.*, 2002).

Uma das primeiras especulações sobre o uso da IA intra-uterina seria um possível aumento do tempo para realização da deposição da dose. No trabalho de Vazquez *et al.* (1999), o tempo necessário para colocação da pipeta e do cateter foi de 3 a 7 minutos e para Martinez *et al.* (2001/2002) o tempo necessário foi de 4,1 e 3,7 minutos, respectivamente, sendo esses dados semelhantes ao tempo de 3,6 minutos registrado por Flores (2001) para realização da colocação da pipeta de IA tradicional. Além disso, o tempo de infusão da dose é reduzido, visto a possibilidade de utilização de um menor volume.

Com a utilização da inseminação intra-uterina, alguns pontos do processo de produção de doses inseminantes passam a exigir maior atenção.

A importância da higiene durante o processo de produção da dose inseminante (coleta, diluição e envase do sêmen) e durante a realização da IA propriamente dita (limpeza da vulva e colocação da pipeta) torna-se ainda mais importante devido à localização do cateter e deposição da dose inseminante diretamente no útero.

O baixo número de espermatozóides por dose exige maior exatidão na determinação da concentração de espermatozóides do ejaculado *in natura*, já que a importância da precisão dessa medida é diretamente proporcional ao grau de redução do número de espermatozóides da dose. A utilização de métodos empíricos ou de pouca precisão não é aconselhada devido à sub ou superestimação da concentração espermática. A precisão da avaliação da concentração espermática dos ejaculados torna-se imprescindível, já que devido ao baixo número de espermatozóides por dose, qualquer variação pode representar um valor significativo, capaz de produzir prejuízos ao desempenho reprodutivo.

Em condições experimentais, a técnica de IA intra-uterina permite a utilização de doses com um número de espermatozóides 2 a 6 vezes menor que o utilizado na IA tradicional e a redução do volume de diluente utilizado em até 5 vezes. Em condições comerciais, os trabalhos publicados utilizaram reduções mais moderadas utilizando até 1 bilhão de espermatozóides e obtendo resultados comparáveis aos da IA tradicional.

A principal vantagem decorrente da possibilidade de redução do número de espermatozóides na dose é a otimização da utilização dos machos, pelo aumento do número de fêmeas inseminadas por ejaculado e redução nos custos de cobertura. Além disso, essa tecnologia viabiliza a utilização de inseminações com sêmen congelado sendo que, na IA tradicional, são necessários 6 a 9 bilhões de espermatozóides por dose e, na IA intra-uterina, bons resultados foram obtidos com doses de 1 bilhão (ROCA *et al.*, 2003). Além disso, seria possível a utilização da técnica de sexagem de espermatozóides, cuja velocidade do processo de citometria de fluxo não permite a produção de doses tradicionais em tempo hábil para ser usado na rotina (MARTINEZ *et al.*, 2002).

Em sistemas de IA tradicionais, um macho bem manejado produz 2000 doses inseminantes de 3 bilhões de espermatozóides/ano (BENNEMANN *et al.*, 2003b) e, utilizando IA intra-uterina com 500 milhões de espermatozóides, Wolken (2001) e Mezalira *et al.* (2003) obtiveram taxas de desempenho reprodutivo semelhantes à IA tradicional, indicando uma possibilidade de aumento do potencial de produção de doses em até 500% (12000 DI/macho/ano). Esse fato torna-se importante a partir da análise da participação do macho no custo total da dose. Segundo Bennemann *et al.* (2003b), em sistemas abertos de produção de doses, esse custo pode variar de 34 a 41%, dependendo do tamanho da central de inseminação. O custo de aquisição de animais geneticamente superiores é bastante alto e é desejável que suas características disseminem-se o mais rápido e eficientemente possível no plantel.

A viabilidade econômica dessa tecnologia atualmente está vinculada ao custo da pipeta de IA intra-uterina (LEVIS *et al.*, 2002). Possivelmente, com o início da difusão e utilização dessa tecnologia e aumento da escala de produção do equipamento ou o desenvolvimento de novos instrumentos, o custo tenderá a diminuir.

Uma limitação dessa tecnologia é a impossibilidade de utilização em leitoas e primíparas, possivelmente devido ao menor desenvolvimento do trato genital (Levis *et al.*,

2002), o que exige a utilização de diferentes técnicas de inseminação para as diferentes categorias de ordem de parto. Atualmente, novos equipamentos estão sendo testados no intuito de poderem ser utilizados em todas as fêmeas da granja (ECHEGARAY, 2003).

Outra limitação da utilização da IA intra-uterina é a sua viabilidade econômica somente em sistemas de produção em grande escala. Em pequenas centrais de inseminação, a necessidade de manutenção de machos reserva impede a possibilidade de diminuição do número de animais no plantel, o que é uma das principais vantagens da IA intra-uterina.

As perspectivas de pesquisa abordando a inseminação intra-uterina provavelmente devam encaminhar-se no sentido de avaliar o limite das reduções no número de espermatozoides e de buscar o intervalo ideal entre inseminações, em condições de campo, a fim de que essa tecnologia possa ser utilizada sem prejuízos ao desempenho reprodutivo.

## REFERÊNCIAS

- AAMDAL, J.; HÖGSET, I. Artificial insemination in swine. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.131, p.59-64, 1957.
- ABCS - Distribuição e evolução da utilização da inseminação artificial (IA) em suínos no Brasil. Disponível em <<http://www.abcs.gov.br>>. Acesso em 20 dez. 2003.
- BAKER, R.D.; DZIUK, P.J.; NORTON, H. W. Effect of volume of semen, number of sperm and drugs on transport of sperm in artificially inseminated gilts. **Journal of Animal Science**, v.27, p.88-93, 1968.
- BENNEMANN, P.E.; MILBRADT, E.; DIEHL, G.N. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas à inseminação intra-uterina com  $1$  e  $2 \times 10^9$  espermatozóides em diferentes intervalos pré-ovulatórios. In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, XI, 2003a, Goiânia, **Anais**. Goiânia, 2003, p.211-212.
- BENNEMANN, P.E.; WENTZ, IVO; BORTOLOZZO, F.P. Avaliação do custo de doses inseminantes em centrais de inseminação artificial de suínos em sistema aberto. In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, XI, 2003, Goiânia, **Anais**. Goiânia, 2003b, p.243-244.
- BORTOLOZZO, F.P., WENTZ, IVO. Inseminação artificial de suínos no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, p.13-15, 1997.
- DALLANORA, D.; MEZALIRA, A.; KATZER, L.H. *et al.* Volume e número de espermatozóides no refluxo de fêmeas suínas após inseminação intra-uterina. In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, XI, 2003, Goiânia, **Anais**. Goiânia, 2003, p.215-216.
- ECHEGARAY, A. Análisis de las nuevas técnicas y avances en la inseminación artificial porcina. In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, XI, 2003, Goiânia, **Anais – Palestras**, Goiânia, p.118- 125, 2003.
- FAZANO, F.A.T. Inseminação artificial em suínos. **Avicultura e Suinocultura Industrial**. São Paulo, v.50, n.826, p.101-102, 1978.
- FLORES, L.A.S. **Comparação entre os métodos “auto-IA”, intermediário e tradicional de inseminação artificial em suínos**. 2001. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- HANCOCK, J.L Pig insemination technique. **Veterinary Record**, v.71, p.523-527, 1959.
- HANCOCK, J.L.; HOVELL, J.R. The effect of semen volume and number of spermatozoa on the fertility of intra-uterine inseminations of pigs. **Animal Production**, v.3, p.153-160, 1961.

JOHNSON, L. A. Sex preselection in swine: altered sex ratio in offspring following surgical insemination of flow sorted X- and Y-bearing sperm. **Reproduction in Domestic Animals**, n.26, p.309-314, 1991.

KRUEGER, C.; RATH, D.; JOHNSON, L.A. Low Dose insemination in synchronized gilts. **Theriogenology**, v.52, p.1363-1373, 1999.

LANGENDIJK, P., BOUWMAN, E.G., SOEDE, N.M., TAVERNE, M.A.M., KEMP, B. Myometrial activity around estrus in sows: spontaneous activity and effects of estrogens, cloprostenol, seminal plasma and clenbuterol. **Theriogenology**, v.57, p.1563-1577, 2002.

LEVIS, D.G.; BURROUGHS, S.; WILLIAMS, S. Use of intrauterine insemination of pigs: pros, cons and economics. **Ohio Pork Industry Center**, 2002. Disponível em <<http://www.porkinfo.osu.edu>>. Acesso em 01 nov. 2002.

MARCHETTI, A.M. **Caracterização do perfil estral do rebanho, utilização de diferentes números de espermatozoides na dose e efeito de inseminações artificiais pré e pós ovulatórias sobre o desempenho reprodutivo de suínos**. 2001. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

MARTINEZ, E.A., VAZQUEZ, J.M., ROCA, J. *et al.* Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. **Reproduction**, v.122, p.289-296, 2001.

MARTINEZ, E.A.; VAZQUEZ, J.M.; ROCA, J. *et al.* Minimum number of spermatozoa requires for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. **Reproduction**, v.123, p.163-170, 2002.

MATHIAS, K. Understanding the differences between artificial insemination (AI), intra-uterine insemination (IUI), and deep intra-uterine insemination (DIUI). **American Association of Swine Veterinarians**, 2003.

MBURU, J.N.; EINARSSON, S.; LUNDEHEIM, N. *et al.* Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in the pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.45, p.109-121, 1996.

MEZALIRA, A.; DALLANORA, D.; SCHMIDT, A.C.T. *et al.* Inseminação intra-uterina em fêmeas suínas com redução no volume e número de espermatozoides. In: Congresso da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, XI, 2003, Goiânia. **Anais**. Goiânia, 2003, p. 217-218.

RATH, D.; KRUEGER, C.; JOHNSON, L.A. Low dose insemination technique in the pig. In: BOAR SEMEN PRESERVATION CONGRESS, IV., 2000, Beltsville. **Proceedings**. Beltsville, USA, 2000, p. 115-118.

**REED, H.C.B. Artificial Insemination. In: COLE, D.J.A. e FOXCROFT, G.R. Control of Pig Reproduction, p.65-90, 1982.**

**REVISTA PORKWORLD. Estatísticas. Disponível em <<http://www.porkworld.com.br>>. Acesso em 10 dez. 2003.**

**ROCA, J.; CARVAJAL, G.; LUCAS, X. et al. Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. Theriogenology, v.60, n.1, p.77-87, 2003.**

**SCHEID, I.R. Commercial swine artificial insemination in Brazil: development and current use. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION, II, 1991, Berlin. Proceedings. Berlin, Germany, 1991, p.299-302.**

**STRATMAN, F.W; SELF, H.L. Effect of semen volume and number of sperm on fertility and embryo survival in artificially inseminated gilts. Journal of Animal Science, v.19, p.1081-1088, 1960.**

**STEVERINK, D.W.B., SOEDE, N.M., BOUWMAN, E.G. et al. Influence of insemination to ovulation interval and sperm cell dosage on fertilization in sows. Journal of Reproduction and Fertility, v.111, p. 65-171, 1997.**

**STEVERINK D.W.B.; SOEDE, N.M.; KEMP, B. Influence of insemination to ovulation interval and sperm cell dosage on fertilization in sows. Animal Reproduction Science, v.54, p.109-119. 1998.**

**VAZQUEZ, J.L., MARTINEZ, E.A., VAZQUEZ, J.M. et al. Development of a non-surgical deep intra-uterine insemination technique. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION, IV, 1999, Beltsville. Abstract Book. Beltsville, USA, 1999, p.262-263.**

**VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A.; PARRILLA, I. et al. Birth of piglets after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. Theriogenology, v.59, n.7, p.1605-1614, 2003.**

VIRING, S.; EINARSSON, S. Sperm distribution within the genital tract of naturally inseminated gilts. **Nordisch Veterinarian Medicine**, v.33, p.145-149, 1981.

WATSON, P.F.; BEHAN, J.R. Intrauterine Insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. **Theriogenology**, v.57, p.1683-1693, 2002.

WEITZE, K.F. Update on the worldwide application of swine AI. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION CONGRESS, IV, 2000, Beltsville. **Proceedings**. Beltsville, USA, 2000, p.115-118.

WENTZ, Ivo; BORTOLOZZO, F.P. Inseminação artificial em suínos. In: **Suinocultura Intensiva**: Produção, manejo e saúde do rebanho. 2 ed., Concórdia, 1998.

WENTZ, IVO; VARGAS, A.J.; BORTOLOZZO, F.P. *et al.* Situação atual da inseminação artificial em suínos no Brasil e viabilização econômica do emprego dessa biotécnica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL MINITUB “INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS”, III, 2000, Flores da Cunha. **Anais**. Flores da Cunha, Brasil, 2000, p.5-12.

WOLKEN, A. **Untersuchungen zur unchirurgischen und chirurgischen distalen intrauterinen Besamung mit reduzierter Spermienzahl bei Jun- und Altausen**. Iaugural Dissertation, Doctor in Veterinarian Medicine. Tierärztliche Hochschule Hannover. 2001.



## APÊNDICE A – Seleção das fêmeas

Tabela 1 - Média de dados de ordem de parto, escore corporal visual, intervalo desmame-estro (IDE), duração da lactação (durlac) e tamanho da leitegada no parto anterior das fêmeas selecionadas para inseminação intra-uterina e tradicional.

	Geral	IA intra-uterina	IA tradicional
Ordem de parto	2,9	2,9	2,9
Escore corporal visual	3,3	3,4	3,3
IDE (dias)	4,3	4,3	4,3
Durlac (dias)	17	17,1	17
Leitegada anterior	11,5	11,6	11,4

## APÊNDICE B – Motilidade espermática

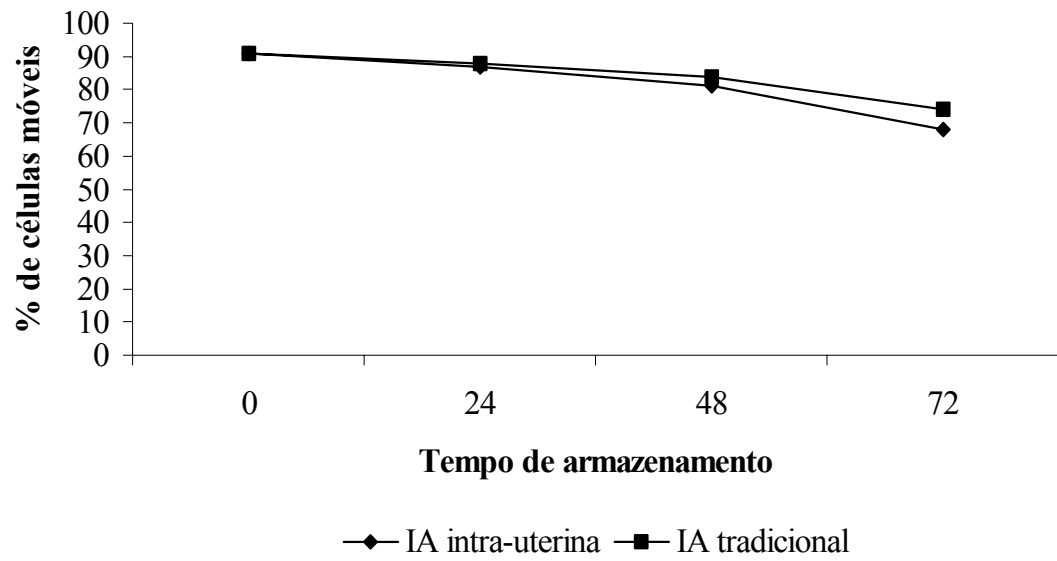


Figura 1 - Percentual de células móveis avaliado em doses para inseminação intra-uterina (1,5 bilhão de espermatozoides em 60 ml) ou inseminação tradicional (3 bilhões em 90 ml) e armazenadas de 0 a 72 horas após a coleta.

## APÊNDICE C - Distribuição das fêmeas de acordo com o percentual de volume refluído.

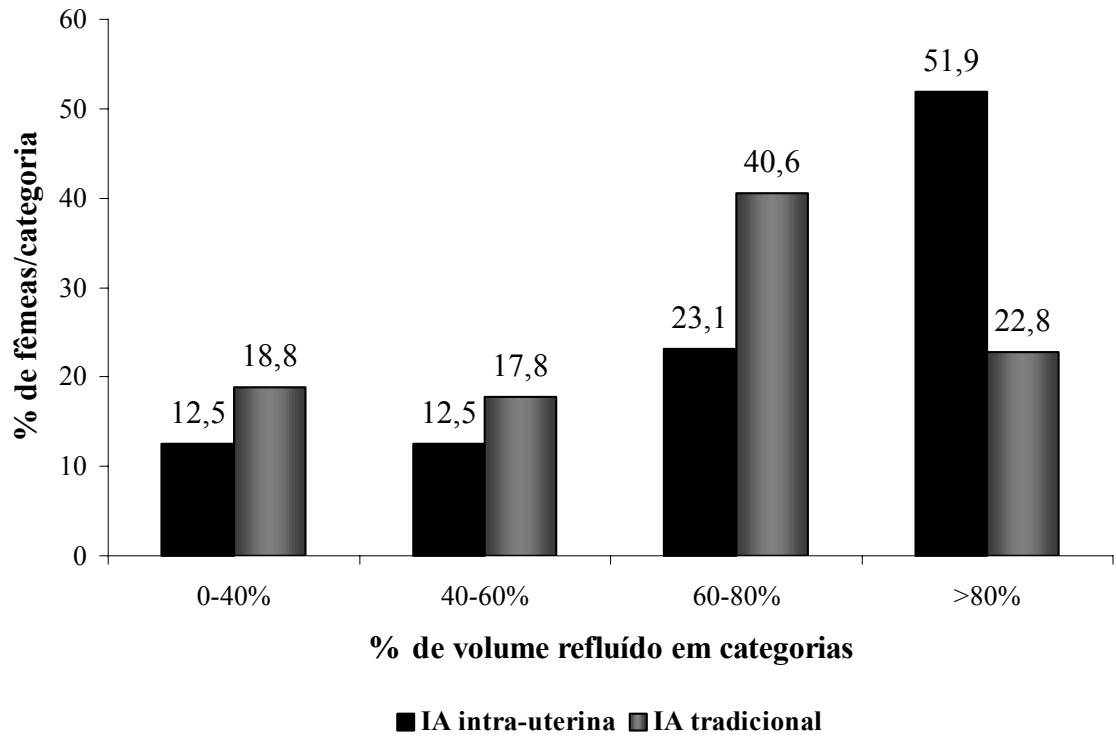


Figura 2 - Distribuição das fêmeas de acordo com o percentual de volume refluído (relativo à dose inseminante infundida) até 2 horas após a realização da inseminação intra-uterina (n=31; volume da dose 60 ml) ou tradicional (n=30; volume da dose 90 ml).

APÊNDICE D – Distribuição das fêmeas de acordo com o percentual de espermatozóides no refluxo.

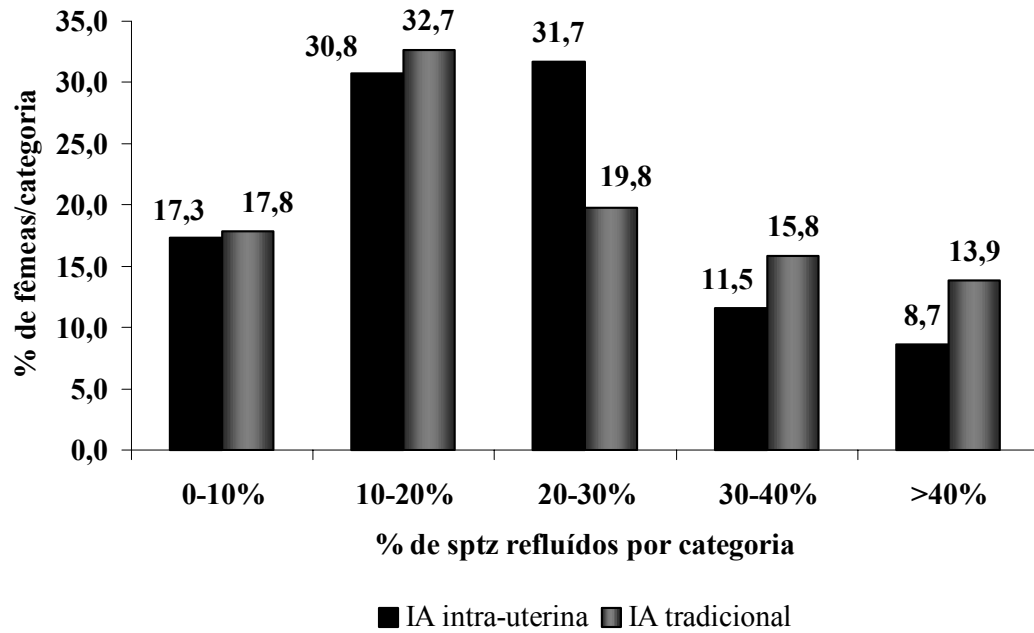


Figura 3 - Distribuição das fêmeas de acordo com o percentual de espermatozóides (sptz) refluído (relativo à dose inseminante infundida) até 2 horas após a realização da inseminação intra-uterina (n=31; dose com 1,5 bilhão de espermatozóides) ou tradicional (n=30; 3 bilhões de espermatozóides).

## APÊNDICE E – Tamanho da leitegada

Tabela 2 - Número total de leitões nascidos (nascidos vivos, natimortos e mumificados) após a inseminação intra-uterina ou tradicional de fêmeas suínas.

	n	Média Geral*	n	Inseminação intra-uterina*	n	Inseminação Tradicional*
Nascidos vivos	565	11,0±2,7	282	10,9±2,7	283	11,1±2,7
Natimortos	565	0,4±0,9	282	0,5±0,9	283	0,4±0,9
Mumificados	565	0,2±0,5	282	0,2±0,5	283	0,2±0,5
Total de Nascidos	565	11,8±2,7	282	11,6±2,6	283	11,8±2,8

n= número de fêmeas utilizadas para o cálculo das médias.

\* médias ajustadas ± desvio padrão.