

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

NOVA PIPETA PARA INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA EM SUÍNOS

GUSTAVO NOGUEIRA DIEHL

PORTO ALEGRE

2005

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

NOVA PIPETA PARA INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA EM SUÍNOS

Autor: GUSTAVO NOGUEIRA DIEHL

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

Orientador: Prof. Dr. Fernando P. Bortolozzo

PORTO ALEGRE

2005

D559n Diehl, Gustavo Nogueira

Nova pipeta para inseminação intra-uterina em suínos/ Gustavo Nogueira Diehl. – Porto Alegre: UFRGS, 2005.

57 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2005. Fernando Pandolfo Bortolozzo, Orient.

1. Reprodução animal 2. Inseminação artificial : suínos : técnicas
I. Bortolozzo, Fernando Pandolfo, Orient. II. Título.

CDD 619.3809

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Gustavo Nogueira Diehl

NOVA PIPETA PARA INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA EM SUÍNOS.

Aprovado em 18 de março de 2005.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo
Orientador e Presidente da Comissão

Profa. Dra. Fabiane Ferreira Mendonça
Membro da Comissão

Prof. Dr. Guilherme Borchardt Neto
Membro da Comissão

Prof. Dr. David Emílio S. N. Barcellos
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

A Deus,

A minha esposa Patrícia e aos meus filhos Gabriel e Giovanna pelo amor, amizade, companheirismo e pela compreensão das ausências durante o período de mestrado.

Aos meus pais Ernandes e Wilma pelo amor, apoio e exemplo de luta para alcançar os objetivos e porque foi através de seus esforços que tive condições de cursar tanto a graduação como a pós-graduação.

A minha Avó pelo apoio e amor .

Aos meus irmãos Marcelo e Ricardo que igualmente sempre me auxiliaram e apoiaram.

Aos colegas de pós-graduação: André, Vladimir, Alisson, Djane, Giancarlo, Wald'ma, Felipe, Carina, em especial a Paulo, Evandro, Rafael , Ricardo e Anamaria. Colegas com os quais pude contar nos momentos de necessidade e com os quais tive oportunidade de aprender muito.

A todos os bolsistas e estagiários do Setor de Suínos: especialmente ao João, Diogo , Vinícius e Ângela pessoas que foram indispensáveis para realização do experimento.

A todos os colegas que auxiliaram na execução do experimento (Wald'ma, Felipe, Carina, Rafael, Diogo, Vinícius e Ângela).

Aos professores Ivo Wentz e David E. S. N. Barcellos, pela amizade pelos conhecimentos transmitidos e pela orientação.

Em especial ao meu orientador professor Fernando Pandolfo Bortolozzo pela amizade, pelos conhecimentos transmitidos pela orientação e pela confiança

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

A Cotrisal.

A Minitüb do Brasil representada pelos amigos Dr. Luís Paulo e Alexandre Marchetti

Em especial ao amigo César Castagna.

A CAPES.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RESUMO

Nova pipeta para inseminação intra-uterina em suínos

Autor: Gustavo Nogueira Diehl

Orientador: Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo

Co-orientador: Prof. Dr. Ivo Wentz

A inseminação intra-uterina (IAU) permite reduzir o número de espermatozoides e o volume de diluente em comparação à inseminação tradicional. No entanto, a técnica ainda apresenta algumas limitações a serem superadas para que seja uma alternativa de diminuição dos custos de cobertura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo de 423 fêmeas suínas de ordem de parto 1 a 9 submetidas à inseminação intra-uterina (IAU), com um novo modelo de pipeta (T1) cuja extremidade não é fixada na cérvix ou uma pipeta de IAU modelo Verona® e que permite a fixação da sua extremidade em espiral na cérvix (T2). Para comparar as duas pipetas foi considerado o grau de dificuldade para realização das inseminações, o tempo necessário para realizá-las, presença de sangramento após a inseminação, a presença de refluxo no momento da inseminação, as taxas de retorno ao estro (TR), de prenhez (TPR) e de parto ajustada (TPA), além do número de leitões nascidos (NT). As fêmeas de ambos os grupos foram inseminadas com doses de 1 bilhão de espermatozoides, em intervalos de 24 horas. A passagem do cateter de IAU através da cérvix foi possível em 95,9% das fêmeas, sem diferença entre os tratamentos ($P>0,05$). Em pelo menos uma das inseminações, foi observado sangue no cateter, após a realização da IAU, em 20,6% das fêmeas do T1 e 15,2% das fêmeas do T2 ($P=0,14$). O tempo médio necessário para realizar a inseminação foi de 2,1 minutos para o T1 e 2,3 minutos para o T2 ($P=0,26$). O percentual de fêmeas com refluxo de sêmen no momento da inseminação foi maior ($P=0,01$) no T1 (8,4%) em comparação ao T2 (2,9%). Não houve diferença ($P>0,05$) nas variáveis TR (8,0 e 4,8%), TPR (93,4 e 96,2%) e NT (12,4 e 12,7 leitões) entre T1 e T2, respectivamente. A TPA do T1 (90,6%) apresentou tendência ($P=0,07$) de ser inferior à do T2 (95,1%). No T1, as fêmeas primíparas apresentaram maior TR e menor TPA em comparação às pluríparas ($P<0,05$). Os resultados mostram que a nova pipeta pode ser utilizada sem prejuízos ao desempenho reprodutivo, em fêmeas pluríparas, mas sugerem cautela para sua utilização em fêmeas primíparas.

Palavras-chave: inseminação intra-uterina, pipeta, fêmeas primíparas, suínos.

ABSTRACT

New pipette for intrauterine insemination in pigs

Author: Gustavo Nogueira Diehl

Advisor: Prof. Dr. Fernando Pandolfo Bortolozzo

Co-advisor: Prof. Dr. Ivo Wentz

Intrauterine insemination (IAU) allows the reduction of the number of spermatozoa and the volume of extender if compared with the traditional artificial insemination. However, to be an alternative for reducing the insemination costs, this technique still presents some limitations that need to be overcome. The aim of this work was to evaluate the reproductive performance of 423 swine females of parities 1 to 9 inseminated with two different intrauterine artificial insemination (IAU) pipettes. The first group (T1) was formed by sows inseminated with a new pipette whose extremity was not fixed in the cervix. The second group (T2) was formed by females inseminated with a Verona® pipette model, with its extremity fixed in the cervix. For the comparison of these pipettes were considered the degree of difficulty to perform the insemination, the time spent during the insemination, the presence of blood after insemination and of semen backflow during insemination. Return to oestrus rate (RO), pregnancy rate (PR), adjusted farrowing rate (AFR) and total litter size (TLS) were also evaluated. All females were inseminated with 1 billion spermatozoa per dose applied at intervals of 24 hours. The catheter of IAU was successfully inserted in 95.9% of females without difference between treatments ($P>0.05$). The presence of blood, in at least one insemination, was observed in 20.6% of T1 and 15.2% of T2 females ($P=0.14$). The average time to perform the insemination was 2.1 for T1 and 2.3 minutes for T2 females ($P=0.26$). The percentage of females with semen backflow was significantly higher ($P=0.01$) in T1 (8.4%) compared to T2 (2.9%) group. There were no differences ($P>0.05$) in RO (8.0% and 4.8%), PR (93.4% and 96.2%) and TLS (12.4 and 12.7 piglets) between T1 and T2 groups, respectively. AFR of T1 (90.6%) tended ($P=0.07$) to be lower than that of T2 (95.1%). Primiparous females of T1 showed higher RO and lower AFR in comparison to pluriparous ($P<0.05$). The results show that the new pipette can be used in pluriparous females without compromising their reproductive performance. However, caution is necessary for the utilization of this new pipette in primiparous females.

Key words: *intrauterine insemination, pipette, primiparous females, swine.*

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	Características da inseminação intra-uterina (IAU) e desempenho reprodutivo de fêmeas inseminadas com nova pipeta (T1) ou pipeta tradicional de IAU (T2).....	46
TABELA 2-	Desempenho reprodutivo de fêmeas inseminadas com nova pipeta (T1) ou pipeta tradicional de IAU (T2) de acordo com a ordem de parto (OP).....	47
TABELA 3-	Desempenho reprodutivo das fêmeas que apresentaram ou não problemas durante a inseminação intra-uterina (IAU) com a nova pipeta (T1) ou pipeta tradicional de IAU (T2).....	48
TABELA 4-	Custo estimado por fêmea coberta através da inseminação artificial tradicional (IAT) e inseminação artificial intra-uterina (IAU) com diferentes pipetas, levando em consideração 2,2 IAs/estro.....	56

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	Extremidade do novo modelo de pipeta utilizado no T1.....	57
FIGURA 2 -	Extremidade da pipeta utilizada no T2.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

BTS	Beltsville Thawing Solution
CIA(s)	Central de Inseminação Artificial
cm	Centímetros
DI(s)	Dose Inseminante
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
h	Horas
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
IA(s)	Inseminação Artificial
IAT(s)	Inseminação Artificial Tradicional
IAU(s)	Inseminação Artificial Intra-uterina
m	Metros
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
mm	Milímetros
n	Número de Animais
NT	Número de Leitões Nascidos Totais
°C	Graus Celsius
OP	Ordem de Parto
psptz	Percentual de Espermatozóides no Refluxo
pvol	Percentual do Volume no Refluxo
R\$	Reais
RS	Rio Grande do Sul
RTM	Reflexo de Tolerância ao Homem na Presença do Macho
SC	Santa Catarina
sptz	Espermatozóides
TL	Tamanho da Leitegada
TPA	Taxa de Parto Ajustada
TPR	Taxa de Prenhez
TR	Taxa de Retorno ao Estro
U\$	Dólares

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Histórico da inseminação artificial.....	14
2.2 Inseminação artificial tradicional.....	15
2.3 Deposição intra-uterina de sêmen.....	16
2.3.1 Inseminação intra-uterina cirúrgica.....	18
2.3.2 Inseminação intra-uterina não cirúrgica.....	19
2.4 Comparação do desempenho reprodutivo entre IAT e IAU.....	20
2.5 Protocolos de inseminação artificial.....	21
2.6 Particularidades no emprego da inseminação intra-uterina.....	22
2.6.1 Passagem do cateter através da cérvix.....	22
2.6.2 Utilização da IAU em leitoas e primíparas.....	24
2.6.3 Risco de lesões na cérvix e lúmen uterino.....	25
2.6.4 Refluxo durante a inseminação.....	25
2.6.5 Número de espermatozóides na dose inseminante.....	28
2.6.6 Volume da dose inseminante.....	29
2.6.7 Possibilidade de implementar novas tecnologias como uso de sêmen congelado ou sexagem de espermatozóides.....	30
2.6.8 Treinamento para realização da técnica de IAU.....	31
2.6.9 Análise e diluição de sêmen na inseminação intra-uterina.....	32
2.7 Avaliação Bioeconômica.....	32
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	34
RESUMO.....	35
ABSTRACT.....	36
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	43
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS GERAIS.....	51
APÊNDICES.....	56

APÊNDICE A – Simulação de custos da IAU x IAT.....	56
APÊNDICE B – Pipetas utilizadas na execução do experimento.....	57

1 INTRODUÇÃO GERAL

A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica utilizada na exploração comercial de suínos no Brasil desde a década de 70 (SCHEID, 1991), mas realizada desde a década de 30 em outros países, apresentando taxas de concepção ao redor de 70% desde aquela época (POLGE, 1956). Essa biotécnica, além de outros benefícios, reduziu o custo por prenhez quando comparada à monta natural (FLOWERS, 1995).

A maioria dos países da União Européia adota a IA em 60 a 80% de suas matrizes (WEITZE, 2000). Dados do ano 2000 indicavam que o uso da IA em suínos praticamente havia duplicado nos últimos 5 anos no Brasil. Estimava-se que 660.000 matrizes fossem inseminadas no ano 2000. Este número representava cerca de 51% das matrizes alojadas em plantéis tecnificados no Brasil (WENTZ et al., 2000).

A tecnologia tradicionalmente utilizada preconiza o uso de uma dose inseminante (DI) contendo aproximadamente 3-4 bilhões de espermatozóides, diluídos em 80 a 100 mL, armazenadas por até 3 dias à temperatura de 15 a 18° C (MARTINEZ et al., 2001a). Normalmente são realizadas três inseminações durante o estro totalizando 12 bilhões de espermatozóides por fêmea coberta (RATH; KRUEGER; JOHNSON, 2000).

O excesso de espermatozóides, que não são requeridos para a fecundação, é eliminado do trato reprodutivo através do processo de fagocitose e através da vulva durante o processo de refluxo. Apenas uma reduzida população de espermatozóides chega na junção útero-tubárica (MATHIAS, 2003). Se no mínimo 5×10^6 espermatozóides forem depositados próximo à junção útero-tubárica de cada corno uterino, eles serão suficientes para garantir níveis de fecundação adequados e tamanhos de leitegada normais (RATH; KRUEGER; JOHNSON, 2000).

No entanto, outras estratégias têm sido desenvolvidas com objetivo de reduzir o custo por prenhez em granjas tecnificadas, seja pela redução do número de inseminações no estro ou pela redução do número de espermatozóides na dose inseminante.

A técnica não cirúrgica de deposição intra-uterina do sêmen foi descrita na década de 50 (HANCOCK, 1959), mas somente no final da década de 90, esta biotécnica foi aperfeiçoada (VAZQUEZ et al., 2001) e a partir de então, surgiu como uma alternativa para redução no custo de prenhez sem prejuízo ao desempenho reprodutivo. Reduções no

número de espermatozóides na inseminação artificial tradicional promovem prejuízos ao desempenho reprodutivo das fêmeas, mas esta redução é possível com uso da inseminação artificial intra-uterina (WATSON; BEHAN, 2002).

A fertilidade e a prolificidade obtidas em trabalhos científicos quando é utilizada a inseminação intra-uterina (IAU) na suinocultura tem mostrado que é possível conseguir resultados reprodutivos semelhantes aos obtidos com a inseminação convencional. A técnica já está presente em diversas companhias distribuídas em diferentes países (GIL; TORTADES; ALEVIA, 2002).

Algumas vantagens descritas para a IAU são: menor refluxo ocorrendo durante ou após a inseminação, necessidade de um número menor de células espermáticas por dose, assim como um menor volume de sêmen, menor tempo necessário para infusão da dose inseminante após a passagem do cateter, redução nos custos com aquisição e manutenção de machos (uma vez que um macho poderá atender um maior número de fêmeas). Ainda pode se especular que com a IAU seria possível utilizar tecnologias como sexagem de espermatozóides e inseminações com sêmen congelado (LEVIS; BURROUGHS; WILLIAMS, 2002).

Algumas desvantagens ou limitações do uso da IAU são o aumento do custo por inseminação devido ao custo do cateter, tempo necessário para treinamento do pessoal para uso da tecnologia, o cateter de IAU não é recomendado para uso em leitoas e primíparas, o tempo necessário para introduzir o cateter é maior, existe um aumento do risco de lesões na cérvix ou no corpo uterino, é necessário um alto nível de assepsia do cateter porque sua parte interna alcança o corpo uterino (LEVIS; BURROUGHS; WILLIAMS, 2002). Além disso, é necessário um rígido controle da concentração e qualidade espermática das doses inseminantes.

Se a técnica de deposição de sêmen no lúmen uterino for aperfeiçoada e obtiver validação a campo, poderá trazer benefícios econômicos devido à redução do número de espermatozóides em até mais de 50% e a redução significativa do volume de diluente utilizado. Com a possibilidade de produzir um maior número de DI a partir de um mesmo ejaculado permite-se a otimização do aproveitamento de animais geneticamente superiores e dos ganhos que a difusão de suas características podem proporcionar ao plantel.

Para validação da IAU faz-se necessário o desenvolvimento de novos dispositivos mais simples que superem algumas limitações da técnica como a impossibilidade de utilizar a tecnologia em primíparas e a possibilidade de redução no custo do cateter.

O objetivo do trabalho foi testar um novo dispositivo para IAU ou deposição pós-cervical de sêmen utilizando um novo modelo de pipeta para inseminação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico da inseminação artificial

A IA iniciou, mundialmente, na década de 30 em países como a Rússia e o Japão (WENTZ; BORTOLOZZO, 1998) e, desde aquela época, buscava-se determinar qual o mínimo volume e número de células espermáticas necessários para atingir bons índices de fecundação e, conseqüentemente, tamanho de leitegada e taxa de não-retorno ao estro satisfatórios.

No Brasil, a IA em suínos começou efetivamente 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 inseminação artificial (CIAs) em Concórdia-SC e Estrela-RS no ano de 1976, embora as primeiras tentativas de IA em suínos tenham sido realizadas por Junqueira e Braun em 1947, com sêmen *in natura*, obtendo 40% de não-retorno ao estro (FAZANO, 1978). No Brasil o desenvolvimento da inseminação artificial 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).

Somente duas décadas mais tarde houve uma grande difusão da inseminação artificial. Até o início da década de 90, apenas 2% do rebanho nacional utilizava inseminação artificial (SCHEID, 1991) e, em uma década, a IA era aplicada em 27% do total de matrizes (WENTZ et al., 2000), o que correspondia a mais da metade das coberturas realizadas em granjas tecnificadas. Weitze (2000) coletou dados de 29 países e apresentou dados sobre a utilização mundial da IA, onde 48% das fêmeas (24,1 milhões de animais) eram inseminadas artificialmente e, citou o exemplo de países desenvolvidos

como os EUA onde a inseminação artificial é utilizada como método de reprodução em quase 70% das matrizes.

2.2 Inseminação artificial tradicional (IAT)

A inseminação artificial tradicional é uma biotécnica de reprodução bem estabelecida e aplicada na suinocultura, cujo objetivo principal é a maximização do uso de ejaculados, mantendo ou mesmo melhorando a eficiência reprodutiva e produtiva, quando comparada à monta natural (WENTZ; BORTOLOZZO, 1998). Além disso, tem extrema importância na prevenção da transmissão de doenças venéreas (COLENBRANDER; FEITSMA; GROOTEN, 1993).

Apesar da técnica de IAT em suínos já ser realizada desde a década de 30, foi nas décadas de 50 e 60 que houve estudos mais conclusivos objetivando determinar o volume e o número de espermatozóides necessários para alcançar bons índices de fecundação.

Na década de 60, Stratman e Self (1960) não observaram efeito do número de espermatozóides na dose inseminante (DI) sobre a taxa de concepção e tamanho da leitegada (TL) em leitoas inseminadas com 2,5, 5 e 10 bilhões de espermatozóides distribuídos em volumes de 10, 20 e 50 mL. No mesmo trabalho foi observado efeito do volume da dose utilizada, onde os índices de fertilidade foram superiores nos grupos inseminados com 50 mL.

Na mesma década, Baker, Dziuk e Norton (1968) inseminaram leitoas com doses contendo 1; 5 e 10 bilhões de espermatozóides em volumes de 20, 100 e 200 mL. Sendo os animais abatidos para avaliação do número de espermatozóides no oviduto e do número de oócitos fecundados. Os resultados mostraram que as inseminações com doses de 100 mL tiveram maior proporção de oócitos fecundados e o número de espermatozóides na zona pelúcida foi maior à medida que se aumentou o número de espermatozóides na dose. 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.

Duas décadas mais tarde, as pipetas mais utilizadas eram as espirais desenvolvidas por Melrose e O'Hagan (1961 *apud* REED, 1982). De acordo com o autor as doses inseminantes utilizadas comercialmente tinham concentração variando de 1 a 3 bilhões de

espermatozóides e 50-150 mL. E as taxas de concepção com emprego da IA oscilavam entre 60-90% e alguns fatores que possivelmente interferissem no sucesso do programa de IA passaram a ser conhecidos, como o tamanho do rebanho, ordem de parto das fêmeas e número de IAs por estro.

Passaram-se anos e tanto o número de espermatozóides como o volume da dose inseminante ou as pipetas utilizadas na inseminação tradicional ainda são muito semelhantes àqueles adotados inicialmente nas décadas de 50 e 60. Segundo Singleton (2001) na IA de suínos o número de espermatozóides por dose varia de 2,5 a 4 bilhões em um volume de 70 a 100 mL. Colenbrander, Feitsma e Grooten (1993) afirmaram que a dose inseminante padrão para inseminação artificial tradicional contém 3×10^9 células espermáticas. A dose é depositada na cérvix, através de instrumentos que mimetizam a estrutura morfológica do pênis suíno (pipetas ou cateteres).

Objetivando a redução do número de espermatozóide por DI na IAT Marchetti (2001) inseminou 561 fêmeas com doses inseminantes de 2, 3 e 4 bilhões de espermatozóides (sptz). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos para taxa de retorno ao estro e taxa de parto ajustada. Para os dados de nascidos totais (NT), 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 ($P=0,20$). Segundo o autor, a redução no número de espermatozóides de 4 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.

2.3 Deposição intra-uterina de sêmen

Buscando obter uma redução no número de espermatozóides por DI, estão sendo propostas modificações na técnica de inseminação em suínos. Essas modificações são baseadas na deposição dos espermatozóides diretamente no lúmen uterino, através de deposição cirúrgica dos espermatozóides próximos ao local de fecundação (JOHNSON, 1991; KRUEGER; RATH; JOHNSON, 1999; WOLKEN, 2001) ou através de deposição não cirúrgica com uma pipeta tradicional associada a um cateter que se estende 20 cm além

desta, alcançando o corpo/corno uterino, sem necessidade de sedação e praticamente sem lesões ao trato genital (VAZQUEZ et al., 2000; MARTINEZ et al., 2001a; WATSON; BEHAN, 2002).

Segundo Bennemann (2005b), devido a essa redução no número de espermatozóides por dose inseminante, a inseminação intra-uterina possibilita uma otimização do uso de reprodutores de alto valor genético, no que se refere ao número de reprodutores e a utilização dos ejaculados, pois é possível obter um ganho de até 300% no número de doses inseminantes produzidas por reprodutor por ejaculado.

No final da década de 50, Hancock (1959) sugeriu que o local de deposição da dose inseminante dentro do trato genital da fêmea poderia ser um fator determinante do desempenho reprodutivo subsequente. Também sugeriu, já na década de 50, que a deposição de espermatozóides diretamente dentro do útero permitiria a utilização de doses inseminantes com um menor volume e número de células espermáticas. O equipamento utilizado na época era uma sonda de 35 cm fixada a cérvix e, internamente a esta, um cateter de 52 cm, o qual permitia a escolha do local de deposição do sêmen.

Hancock (1959) comparou a deposição de sêmen na vagina, na cérvix e no interior do útero, inseminando as fêmeas uma única vez, com 100 mL de sêmen não diluído. 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.

Diversos autores têm realizado comparações entre a inseminação intra-uterina e a inseminação tradicional (VAZQUEZ et al., 2001; WATSON; BEHAN, 2002; DALLANORA, et al., 2004a; BENNEMANN et al., 2005a). Nestes trabalhos, os resultados sempre indicaram que é possível reduzir o número de células espermáticas na dose inseminante através do uso da IAU.

Segundo Mathias (2003), a inseminação dos espermatozóides diretamente no útero pode ser classificada em intra-uterina, quando os espermatozóides são depositados no corpo do útero ou no terço inicial dos cornos uterinos, e em intra-uterina profunda, quando os espermatozóides são depositados no terço final dos cornos, próximo à junção útero-tubárica.

2.3.1 Inseminação intra-uterina cirúrgica

Inicialmente foram utilizadas técnicas cirúrgicas, para realizar a inseminação intra-uterina, depositando os espermatozóides próximos ao local da fecundação. A deposição próxima ao local da fecundação, diminuiria as perdas de células espermáticas e permitiria a utilização de DI's com reduzido número de espermatozóides (JOHNSON, 1991; KRUEGER; RATH; JOHNSON, 1999; WOLKEN, 2001). Mas essa deposição cirúrgica era realizada com o animal sob anestesia, o que inviabilizaria a utilização a campo.

Segundo Johnson (1991), através da deposição cirúrgica dos espermatozóides próxima à junção útero-tubárica é possível a obtenção de prenhez com doses de 200 a 400 mil espermatozóides por oviduto.

Krueger, Rath e Johnson (1999) realizaram dois experimentos com o objetivo de avaliar os resultados obtidos em IAs com reduzido número de espermatozóides e DI's depositadas por via cirúrgica, em ambos os cornos uterinos, próximo à junção útero-tubárica. As fêmeas foram divididas em 5 grupos, com DI's de 1, 5, 10, 100 e 500 milhões de espermatozóides por corno uterino (diluídos em 0,5 mL). Somente as fêmeas inseminadas com 1 milhão de espermatozóides tiveram menores taxas de prenhez e de parto em relação às demais doses inseminantes ($P < 0,05$), não existindo essa diferença nas fêmeas inseminadas logo após a ovulação. Não houve efeito da dose inseminante sobre o tamanho da leitegada ($P > 0,05$).

Krueger e Rath (2000) trabalharam com espermatozóides depositados cirurgicamente no corno uterino com doses contendo 5×10^8 , 1×10^8 e 1×10^7 , a 5 cm da junção útero tubárica e compararam com a inseminação artificial tradicional. Os autores demonstraram não haver diferença entre as taxas de prenhez, de parto e tamanho da leitegada entre a IAU cirúrgica e a inseminação tradicional com 3×10^9 espermatozóides.

Wolken (2001), em experimento com IAU cirúrgica em leitoas, utilizou doses com 10, 50 e 100 milhões de espermatozóides, diluídos em 0,5 ou 10 mL, e um grupo controle de 100 milhões de espermatozóides em 50mL. A dose foi depositada 10 cm após a bifurcação do corpo do útero, dentro de cada corno uterino. Adicionalmente realizou mais um experimento no qual as doses continham 100 milhões de espermatozóides/20 mL introduzidas em apenas um corno uterino, 50 milhões/10mL em ambos os cornos uterinos e

100 milhões/20 mL depositados no corpo do útero. Em ambos os trabalhos, não houve diferença na taxa de fecundação ao abate, 48 horas após a IA, em relação aos diferentes volumes, doses inseminantes e locais de deposição da dose.

2.3.2 Inseminação intra-uterina não cirúrgica

Para que uma tecnologia seja adotada na rotina de trabalho de uma granja, é de fundamental importância que ela apresente praticidade suficiente para ser executada pelos inseminadores. Apesar disso, poucos trabalhos têm sido realizados avaliando a inseminação intra-uterina utilizando protocolos de inseminação semelhantes aos tradicionalmente empregados pelas granjas de suínos (DALLANORA, 2004c).

Os instrumentos utilizados na IAU não cirúrgica são endoscópios, sondas e pipetas de IAT modificadas que possibilitam a ultrapassagem da cérvix e alcançam o ambiente intra-uterino sem necessidade de sedação das fêmeas (DALLANORA, 2004c).

Inseminação intra-uterina profunda

Wolken (2001) inseminou 28 matrizes suínas 24-32 h após o início do estro, através de IAU profunda com 100 milhões de espermatozóides diluídos nos volumes de 5, 10 e 50 mL. Não foram observadas diferenças na taxa de prenhez e tamanho das leitegadas entre os diferentes volumes das doses.

Com objetivo de determinar o número de espermatozóides necessários para manter os níveis ótimos de fertilidade, usando um cateter flexível (1,8 m de comprimento e 1,8 mm de diâmetro) para IAU profunda, Martinez et al. (2002) inseminaram 372 fêmeas com doses contendo 150, 50, 25 e 10 milhões de espermatozóides diluídos em 10 mL e 147 fêmeas controle com doses de 3 bilhões/100 mL. Foi possível passar o cateter com sucesso através da cérvix até um dos cornos uterinos em 95,4% das porcas. As taxas de parição após IAU profunda com 150 ou 50 milhões de espermatozóides não diferiram do grupo controle (82,9%, 76,2% e 83% respectivamente). Porém, existiu uma diminuição significativa ($P < 0,001$) quando as porcas foram inseminadas com doses contendo 25 ou 10 milhões de espermatozóides (46,7% e 39,1%), (MARTINEZ et al., 2002).

Inseminação intra-uterina

Na maioria dos trabalhos com IAU é utilizado, para deposição das DIIs, um sistema de duas peças composto por uma pipeta tradicional associada a um cateter que se estende 20-25 cm além desta, alcançando o corpo/corno uterino (WATSON; BEHAN, 2002; BENNEMANN, 2004; DALLANORA, 2004a; MEZALIRA, 2005).

Bennemann et al. (2004) realizaram IAU em 57 fêmeas de ordem de parto (OP) 3 a 7 com doses de 1 e 2 bilhões de espermatozóides diluídas em 60 ml. Obtiveram 100% de sucesso na passagem do cateter através da cérvix. Não houve diferença na taxa de prenhez (82,1% e 96,5%), no número de embriões totais (15,9 e 14,9) e na sobrevivência embrionária (69,8% e 64,7%) para 1 e 2 bilhões de espermatozóides, respectivamente.

Mezalira et al. (2005) utilizaram a mesma tecnologia de Bennemann et al. (2004), para inseminar fêmeas suínas. Empregando doses com diferentes concentrações espermáticas (0,25, 0,5 e 1,0 bilhão de espermatozóides) e obtiveram resultados promissores mesmo com doses contendo menor número de espermatozóides do que as utilizadas por Bennemann et al. (2004).

2.4 Comparação do desempenho reprodutivo entre a inseminação artificial tradicional (IAT) e inseminação intra-uterina (IAU)

Watson e Behan (2002) compararam a inseminação intra-uterina com a inseminação tradicional trabalhando com doses de 1, 2 e 3 bilhões de espermatozóides diluídos em 80 mL. No experimento foram utilizados 3240 animais selecionados 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 positivo) e 24 h após. Não existiram diferenças na taxa de parto e tamanho da leitegada entre as doses com 1, 2 e 3 bilhões de espermatozóides com IAU, mas com IAT as taxas de parto e o tamanho da leitegada nas inseminações realizadas com 1 bilhão de espermatozóides foram significativamente menores ($P < 0,001$) quando comparadas com as inseminações com doses de 2 e 3 bilhões de espermatozóides.

Dallanora et al. (2004a) utilizando doses inseminantes contendo 1,5 bilhão de espermatozoides em 60 mL para IAU e doses com 3 bilhões de espermatozoides em 90 mL para inseminação artificial tradicional, não encontraram diferença na taxa de prenhez (99,5% e 97,5%), taxa de parto ajustada (94,9% e 94,3%) e tamanho da leitegada (11,6 e 11,8 leitões) entre IAU e IAT, respectivamente.

Bennemann et al. (2005a) realizaram uma comparação entre a IAU com doses contendo 0,5 bilhão de espermatozoides em 20 mL e IA tradicional com doses de 3 bilhões de espermatozoides em 90 mL, visto que, no experimento de Mezalira et al. (2005) foram obtidos índices de prenhez superiores a 85% com 0,5 bilhão de espermatozoides na IAU. Os autores não observaram diferença na taxa de prenhez ou na taxa de parto ajustada entre os tratamentos, no entanto, com o número de sptz utilizado na IAU o tamanho da leitegada sofreu uma redução.

2.5 Protocolos de inseminação artificial

Existe uma grande variação individual entre o início do estro e a ovulação e, com a tecnologia disponível na atualidade, não é possível prever o momento da ovulação. Com isso, sob condições práticas, é necessário realizar inseminações repetidas durante o estro, sendo usualmente realizadas inseminações em intervalos de 12h (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002).

Steверink et al. (1997) determinaram o momento da ovulação através de ultrasonografia e utilizaram IAT com doses de 1 bilhão de espermatozoides inseminados entre 12 e 24 h antes da ovulação, doses com 6 bilhões de espermatozoides inseminadas entre 24 e 36 h antes da ovulação e doses com 3 bilhões foram empregadas em ambos os intervalos (12 a 24 e 24 a 36 h). Com o objetivo de comprovar a hipótese de que, aumentando o número de espermatozoides na dose inseminante, o intervalo entre IA e ovulação poderia ser aumentado sem prejuízos à fecundação. As fêmeas foram abatidas em média 120 h após a ovulação. O desenvolvimento de embriões normais não foi afetado pelo número de espermatozoides ($P=0,89$) 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 h e de 3 para 6 bilhões no intervalo 24-36 h.

Vários trabalhos com IAT realizados com multíparas têm demonstrado que a população espermática permanece viável, de uma maneira geral, por um período de até 24 horas antes da ovulação (SOEDE et al., 1995; NISSEN et al., 1997). Com isso, é necessário que sejam realizadas inseminações repetidas durante o estro, já que não é possível prever o momento da ovulação durante o estro e dessa forma, que seja realizada pelo menos uma inseminação no período de 24 horas antes da ovulação. Mas como a população de espermatozóides permanece viável por até 24 horas é possível realizar uma inseminação por dia. (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002). Partindo deste pressuposto, Castagna (2002) compararam o desempenho de multíparas inseminadas uma ou duas vezes ao dia durante o estro e, como esperado, o tratamento com uma inseminação diária provocou uma redução de 35% no número de inseminações realizadas sem prejuízo ao desempenho reprodutivo.

Extrapolando estas conclusões para IAU, Bennemann et al. (2004) avaliaram o efeito do intervalo inseminação-ovulação na inseminação intra-uterina e não observaram diferenças na taxa de prenhez e na sobrevivência embrionária quando as fêmeas receberam uma IAU em intervalos de 0-24 ou 25-36 horas. Entretanto, o número de embriões totais foi reduzido quando o intervalo inseminação ovulação foi superior a 24 horas. Segundo Bennemann et al. (2004) na IAU uma população de espermatozóides apta à fecundação permanece viável no trato genital de fêmeas suínas por um período de até 36 horas. Mas o envelhecimento espermático poderia causar danos ao espermatozóide e, estes danos, poderiam comprometer a viabilidade do embrião. Dessa forma, o intervalo inseminação-ovulação onde o desempenho reprodutivo é maximizado continua sendo de até 24 horas.

2.6 Particularidades no emprego da inseminação intra-uterina

2.6.1 Passagem do cateter através da cérvix

Inicialmente, uma das principais limitações para utilização da IAU era a dificuldade de ultrapassar 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 (DALLANORA, 2004c) A possibilidade de passagem dos endoscópios ou cateteres específicos utilizados para IAU apresentada nos estudos realizados até o momento retratam um grau de sucesso sempre superior a 90% (VAZQUEZ et al., 2000; MARTINEZ et al., 2002; WATSON; BEHAN, 2002; ROCA et al., 2003; DALLANORA et al., 2004a).

Para IAU a cérvix representa a maior barreira física a ser vencida, mas quando a dose inseminante é depositada diretamente no útero este é mais efetivamente estimulado e suas contrações facilitam o transporte espermático, o que possibilita a redução da necessidade por um maior número de células espermáticas (WATSON; BEHAN, 2002).

Vazquez et al. (2000) utilizaram um endoscópio flexível (1,95 m de comprimento e 3,3 mm de diâmetro) para IAU profunda 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. Também não foram observadas complicações ou infecções, após o procedimento, em nenhuma fêmea.

Martinez et al. (2002), também empregando IAU profunda, 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. Obtiveram sucesso durante a passagem do cateter através da cérvix em 95,4% das porcas com tempo médio de 3,7 minutos. Tanto a OP (2 a 6) como a duração da lactação (16 a 27 dias) não influenciaram nas dificuldades encontradas pelos autores, ou 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 qual revelou que 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.

Para realizar IAU não profunda em fêmeas de OP variando de 2 a 11, Watson e Behan (2002) utilizaram um cateter com 2 mm de diâmetro interno conduzido por uma pipeta de inseminação tradicional. O cateter pôde ser inserido em sua totalidade em 90,2% dos animais e o procedimento pôde ser realizado sem dificuldades.

Roca et al. (2003) empregando 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 de Dallanora et al. (2004a) e no experimento de Bennemann et al. (2004), foi obtido 97,4% e 100% de sucesso na passagem do cateter, respectivamente, em fêmeas inseminadas com uma pipeta comercial especificamente desenvolvida para a prática da IAU.

2.6.2 Utilização da IAU em leitoas e primíparas

Levis, Burroughs e Williams (2002) não recomendam o uso da IAU para nulíparas e primíparas, possivelmente devido ao pequeno desenvolvimento do trato genital em relação a pluríparas. Entretanto, tal dificuldade no emprego da IAU é encontrada também em algumas pluríparas.

Segundo Dallanora (2004c), a passagem do cateter de IAU não é possível em fêmeas nulíparas e primíparas. Nas demais ordens de parto, provavelmente fatores individuais das fêmeas sejam os principais responsáveis pela dificuldade ou facilidade de passagem do cateter.

Martinez et al. (2001b), em experimento com objetivo de desenvolver um novo processo para transferência de embriões não cirúrgica em leitoas e porcas, utilizaram um cateter de inseminação artificial com um cateter flexível no seu interior para alcançar o lúmen uterino. Os autores avaliaram o grau de dificuldade para inserção do cateter e a correta localização do cateter flexível através de laparotomia. Foi impossível passar o cateter em 10,3% das leitoas, houve dificuldades médias a altas em outras 20,7% e, nestas leitoas com dificuldade média a alta, o cateter estava na posição correta em 50% das fêmeas. Já com porcas não ocorreram casos onde foi impossível passar o cateter e dificuldades médias a altas foram encontradas em apenas 2,9% das fêmeas.

2.6.3 Risco de lesões na cérvix e lúmen uterino

Watson e Behan (2002) utilizando uma pipeta para IAU, observaram sangue em 1,8% das fêmeas, mas não avaliaram o efeito deste evento sobre a taxa de retorno ao estro.

No experimento de Dallanora et al. (2004a) foi observada a presença de sangue no cateter, em pelo menos uma das IAUs, em 9,5% das fêmeas. A taxa de retorno ao estro foi superior ($P=0,002$) nas fêmeas que apresentaram sangue na pipeta (13,8%) em comparação à das fêmeas sem sangue (2,6%).

Empregando pipeta semelhante Bennemann et al. (2005a) observaram a presença de sangue na extremidade do cateter ou na espiral da pipeta na IAU e ainda realizaram inspeção do vestíbulo vaginal a procura de evidências de sangue, 120 minutos após a IAU, estes sangramentos foram evidenciados em 8,4% das fêmeas. Segundo o autor para diminuir as possibilidades de traumatismo, o cateter deve ser inserido somente enquanto puder ser manipulado suavemente, não devendo ser forçado.

A maior ocorrência de sangramento no trabalho de Dallanora et al. (2004a) e Bennemann et al. (2005a) talvez possa ser explicada pela inseminação de fêmeas de ordem de parto dois a quatro, inferior às utilizadas (dois a 11) por Watson e Behan (2002).

Buscando verificar se haveria uma redução do desempenho reprodutivo na parição subsequente a IAU, Watson e Behan (2002) inseminaram com IAT 1153 fêmeas, submetidas a IAU na parição anterior. Não foram observadas diferenças significativas na taxa de parto ou no tamanho da leitegada subsequente de fêmeas previamente inseminadas com IAU quando comparadas a fêmeas inseminadas somente com IAT.

2.6.4 Refluxo durante a inseminação

A ocorrência de refluxo é comumente observada durante e após a inseminação artificial cervical e este refluxo pode afetar negativamente a taxa de parto e o tamanho da leitegada (LEVIS; BURROUGHS; WILLIAMS, 2002). Segundo os autores, 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.

Embora bilhões de células sejam infundidas, 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 destas 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; KRUEGER; JOHNSON, 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 duas 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; SOEDE; KEMP, 1998).

Steverink, Soede e Kemp (1998) utilizando IAT, avaliaram o refluxo em fêmeas suínas inseminadas uma única vez, com doses de 80 mL e contendo 1, 3 e 6 bilhões de espermatozóides. O refluxo foi avaliado em três momentos: durante a IA (M1), durante os primeiros 30 minutos após a IA (M2) e dos 30 até 150 minutos após a IA (M3). O volume coletado ao final de 150 minutos variou de 17 a 120% do volume infundido e o percentual de espermatozóides coletados variou de 3 a 48% do número de espermatozóides infundidos. Os autores constataram 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. O percentual de espermatozóides refluídos não foi influenciado pelo número de espermatozóides da DI ($P>0,05$) e o intervalo IA-ovulação não teve relação com o volume de refluxo em nenhuma das três medidas ($P>0,05$).

Flores (2001), também empregando IAT, inseminou 604 fêmeas com DIs de 100 mL e 4 bilhões de espermatozóides distribuídas em três tratamentos: 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. Neste experimento o autor coletou refluxo durante a IA (n=604) e até 120 minutos após cada IA de 108 fêmeas. Durante a infusão da dose, o mais comum foi à ausência de refluxo, embora, em algumas fêmeas, tenha sido eliminado 65 e até 80% do volume original. Até duas horas após a

realização da IA, foi observado volume refluído variando de 65 a 73% e um percentual de 28 e 32% de células espermáticas refluídas.

Dallanora et al. (2004b) avaliaram o percentual de volume (pvol) e o percentual de espermatozóides (psptz) no refluxo após a inseminação intra-uterina ou tradicional. Foi realizada a coleta de refluxo no momento e até 120 minutos após a realização da inseminação no experimento A e até 60 minutos após a realização da IAU no experimento B. No experimento A as fêmeas foram distribuídas em dois tratamentos T1A IAU com doses contendo 1,5 bilhões de sptz em 60mL e T2A IAT com doses contendo 3 bilhões de sptz em 90 mL. No experimento B as fêmeas foram distribuídas em três tratamentos e inseminadas pela técnica IAU com doses de 1 bilhão (T1B), 500 milhões (T2B) e 250 milhões (T3B) de espermatozóides em 20 ml. Tanto no experimento A como no B não ocorreu refluxo no momento da realização da IAU em nenhuma fêmea. No experimento A o grupo T1A apresentou maior percentual de volume refluído mas o psptz refluído foi semelhante entre os tratamentos. Neste experimento não existiu correlação entre psptz e o número de leitões nascidos totais. No experimento B o percentual de volume refluído foi em média de 66%, 64% e 68% e o percentual de espermatozóides refluídos foi de 14%, 14% e 12%, para T1B, T2B e T3B, respectivamente. Houve correlação significativa negativa entre o psptz 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 T1B (78,6% para 57,9%) e T3B (88,9% para 71,4%).

Da mesma forma, infundindo através de IAU doses inseminantes com volume de 20 mL Bennemann et al. (2004) não observaram refluxo de sêmen durante a inseminação. É possível que a deposição de um volume menor de sêmen permita uma rápida distribuição do sêmen no amplo ambiente uterino e tenha como consequência à ausência de refluxo. Outra hipótese para explicar a ausência de refluxo no momento da inseminação é que com a IAU existe uma grande distensão da cérvix e do corno uterino, pela passagem do cateter o que pode induzir uma maior liberação de hormônios envolvidos na contratilidade uterina, tornando, desta forma, o transporte espermático mais eficiente (MARTINEZ et al., 2002).

2.6.5 Número de espermatozóides na dose inseminante

Tradicionalmente na inseminação cervical são usadas doses inseminantes contendo 2,5 a 4 bilhões de espermatozóides (LEVIS; BURROUGHS; WILLIAMS, 2002). Contudo, a maioria destes espermatozóides, que não são requeridos para a fecundação, são eliminados do trato reprodutivo. Visto que, apenas uma reduzida população de espermatozóides na junção útero-tubárica é suficiente para garantir níveis de fecundação adequados e tamanhos de leitegada normais (RATH; KRUEGER; JOHNSON, 2000), é possível através da inseminação intra-uterina a redução do número de espermatozóides na dose inseminante.

Visando determinar a margem de segurança para evitar subfertilidade com emprego da IAU, Gil, Tortades e Alevia (2004) compararam o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas a IAU com doses inseminantes contendo 1 bilhão de sptz em 30 mL, 0,5 bilhão em 15 mL, 0,25 bilhão em 7,5 mL, 0,125 bilhão em 3,75 mL (nestes dois últimos grupos eram acrescentados mais 17 e 20 mL de diluente respectivamente) com um grupo controle inseminado com IA tradicional com doses de 3 bilhões de sptz em 90 mL. A taxa de parto e o tamanho da leitegada dos grupos inseminados com 1 e 0,5 bilhão de sptz apresentaram resultados semelhantes ao grupo controle. Segundo os autores a redução do número de sptz abaixo da 0,5 bilhão causou uma diminuição considerável nos resultados de fertilidade e prolificidade.

Mezalira et al. (2005) realizaram experimento objetivando determinar o menor número de células espermáticas possível de ser usada na IAU, sem prejuízos para o desempenho reprodutivo. Foram inseminadas 211 fêmeas com doses de 1 bilhão, 500 milhões e 250 milhões de espermatozóides, em uma única dose direcionada para um intervalo de 0 a 24 h 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 entre 34 e 41 dias para contagem de embriões e os resultados mostram que é possível a obtenção de taxas de prenhez superiores a 85% e 14 embriões utilizando 500 milhões de espermatozóides com deposição intra-uterina do sêmen.

Bennemann et al. (2005a) compararam o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas a IAU com doses de 0,5 bilhão de espermatozoides ou a inseminação tradicional com doses de 3 bilhões de espermatozoides. Não foram observadas diferenças na TPR (95,4% - 97,9%) ou na TPA (92,7% - 95,1%), evidenciando que a IAU com doses contendo 0,5 bilhão de espermatozoides foi eficiente na formação de um reservatório espermático adequado na junção útero-tubárica, capaz de levar a índices de prenhez superiores a 95%. No entanto, o TL diferiu entre os tratamentos ($P < 0,05$) sendo observada uma redução de 0,8 leitão nas fêmeas da IAU em comparação a IAT e, segundo os autores outros fatores como intervalo inseminação-ovulação e viabilidade espermática poderiam estar envolvidos na redução do TL.

2.6.6 Volume da dose inseminante

As recomendações para inseminação cervical são de 80 a 100 mL por dose inseminante, sendo esse volume mínimo de sêmen importante para que haja um fluxo adequado de espermatozoides ao longo da cérvix e do útero (LEVIS; BURROUGHS; WILLIAMS, 2002).

Behan e Watson (2004) utilizando inseminação intra-uterina com doses inseminantes de 1,5 bilhões de espermatozoides em volumes de 75, 50 e 25 mL encontraram diferenças significativas na taxa de parto e tamanho da leitegada quando compararam as inseminações com doses de 25 mL (63,4% e 10,7) com as inseminações realizadas com volumes de 50 (91,9% e 12,4) ou 75 mL (91,5% e 12,5). Também encontraram diferença significativa ($P = 0,01$) no tamanho da leitegada quando compararam inseminações realizadas com doses de 25 mL em fêmeas velhas ou em fêmeas jovens, sendo as mais velhas aquelas que apresentam uma redução no TL quando inseminadas com doses de 25mL. Os autores explicam que esta diferença pode acontecer devido a maior capacidade do trato reprodutivo das fêmeas mais velhas.

No entanto, Mezalira et al. (2005) e Bennemann, et al. (2005a) empregando doses inseminantes com volume de 20 mL para IAU e obtiveram taxas de prenhez superiores a 85% e 95% respectivamente. Wolken (2001) com doses inseminantes em volumes de 20 ml (1×10^8 spzt) e 10 mL (5×10^7 spzt) não observou diferença significativa na taxa de

prenhez e no número de embriões viáveis. Esses dados demonstram que na IAU realizada com volumes de 20 mL (ou menores), existe uma eficiente formação de um reservatório espermático na junção útero-tubárica, capaz de levar a índices de prenhez adequados.

2.6.7 Possibilidade de implementar novas tecnologias como uso de sêmen congelado ou sexagem de espermatozóides

Com uso da tecnologia de criopreservação, utilizando inseminação artificial cervical observa-se uma diminuição dos índices reprodutivos na ordem de 10-20% na taxa de parição e 1-3 leitões no tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas com sêmen congelado/descongelado. Essas conseqüências negativas sobre o desempenho devem-se, basicamente ao declínio da motilidade, perda da integridade da membrana plasmática, degeneração do acrossoma e redução da atividade metabólica da célula, as quais influenciam a capacidade fecundante do espermatozóide e sua viabilidade no trato reprodutivo da fêmea (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002).

Levando em consideração o aspecto econômico quando se utiliza a criopreservação aumentam os custos por fêmea inseminada, já que é necessário praticamente dobrar o número de espermatozóides por dose, em média, 5-6 bilhões contra 2-3 bilhões nas doses tradicionalmente utilizadas (ROCA et al., 2003). Além disso, a técnica de congelamento é relativamente demorada e complexa, sendo necessárias 7-9 horas para processamento de um ejaculado (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002).

Roca et al. (2003) avaliaram a inseminação intra-uterina com um reduzido número de espermatozóides congelados/descongelados em fêmeas desmamadas. Para isso os autores realizaram dois experimentos sendo que no experimento 1 utilizaram quatro tratamentos, IAU com sêmen congelado em doses com 1×10^9 espermatozóides, IAU com sêmen refrigerado (15-18°C) em doses com 150×10^6 espermatozóides, IA cervical com sêmen congelado em doses com 6×10^9 espermatozóides e um tratamento controle utilizando sêmen refrigerado com doses de 3×10^9 espermatozóides. Nos três primeiros tratamentos a dose infundida tinha o volume de 7,5 mL. As fêmeas foram inseminadas no experimento 1 após tratamento hormonal (eCG/hCG) e não foram encontradas diferenças na taxa de parto ou tamanho da leitegada entre os tratamentos. No experimento 2 delineado

da mesma forma que o experimento 1, mas utilizando fêmeas inseminadas após estro espontâneo também não houve diferença no tamanho da leitegada, contudo a taxa de parto foi significativamente superior no tratamento controle.

A técnica de sexagem de espermatozóides por citometria de fluxo pode promover comprometimento parcial da membrana dos espermatozóides, alterando a viabilidade, possibilidade de armazenamento e fertilidade das células. Além disso, é uma técnica de baixo rendimento, pois a cada hora são produzidos apenas 10-15 milhões de espermatozóides sexados (VAZQUEZ et al., 2003).

Vazquez et al. (2003) produziram doses com 70 e 140 milhões de espermatozóides submetidos ou não a sexagem e inseminaram fêmeas suínas por deposição intra-uterina com pipeta e cateter flexível em dois experimentos. No experimento 1, as fêmeas tiveram estro induzido com eCG + hCG. As fêmeas inseminadas com doses submetidas a sexagem apresentaram redução na taxa de prenhez e de parição comparando com as não sexadas, independentemente do número de espermatozóides utilizados ($P < 0,05$). Mas, o tamanho das leitegadas não foi influenciado nem pelo número de espermatozóides da dose, nem pelo processo de sexagem ou não. No experimento 2, foram utilizadas doses nas mesmas concentrações utilizadas no experimento 1 para inseminar fêmeas múltiparas com estro espontâneo. Neste experimento 2 os autores apenas observaram 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.

2.6.8 Treinamento para realização da técnica de IAU

Segundo Echegaray (2003) em testes de validação realizados em escala comercial, foi encontrada uma queda nos índices produtivos das granjas quando se comparou a IAU com a IA cervical, o que não é observado em experimentos científicos. No caso de uma granja onde esta queda foi mais acentuada os autores atribuíram a queda a deficiências na técnica de inseminação, o que confirma a necessidade de treinamento de pessoal, já que a má inserção da sonda pode resultar em prejuízos para a performance reprodutiva.

Entretanto, a inseminação intra-uterina é uma técnica simples de ser aplicada e, desde que haja um treinamento, os funcionários da granja podem executá-la (WATSON;

BEHAN, 2002; GIL; TORTADES; ALEVIA, 2002). No entanto, até o momento, poucos trabalhos têm sido realizados em condições práticas de granja, utilizando protocolos de inseminação semelhantes aos tradicionalmente empregados (BENNEMANN, 2005b).

2.6.9 Análise e diluição de sêmen na inseminação intra-uterina

Com a redução do número de espermatozóides por dose inseminante para 1×10^9 ou $0,5 \times 10^9$, tornar-se-á possível a produção de 3 a 6 seis vezes mais doses por ejaculado, que possibilita uma redução da necessidade de machos do plantel. Por outro lado, há necessidade de maiores cuidados, pois a importância da presença de falhas no processo é proporcionalmente maior à medida que é reduzido o volume de espermatozóides por dose. Portanto, torna-se imprescindível a precisão na avaliação da concentração espermática, já que qualquer variação poderia representar um valor significativo, capaz de produzir prejuízos ao desempenho reprodutivo (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002).

Além disso, a diluição em pequenos volumes implica em cuidados redobrados com a temperatura de todos os materiais que entram em contato com o sêmen, temperatura de diluição, qualidade e procedência do diluidor e da água. A redução do número de espermatozóides por dose inseminante leva a necessidade de extrema precisão na avaliação da concentração espermática e exige a utilização de métodos diretos de determinação, devido a maior confiabilidade (uma das opções é a contagem na câmara hemocitométrica). Mas como essa redução no número de espermatozóides também resulta num número menor de coletas por dia, é possível que seja gasto um tempo maior e que seja dada uma maior atenção para as avaliações do ejaculado, resultando na maior confiabilidade das análises, o que é extremamente desejável (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002).

2.7 Avaliação bioeconômica

Levis, Burroughs e Willians (2002) realizaram um estudo econômico comparativo do custo do processo de inseminação intra-uterina com doses contendo 2×10^9 espermatozóides ou inseminação tradicional com doses contendo 3×10^9 espermatozóides e obtiveram um custo total por dose inseminante de US\$ 3,38 para a inseminação tradicional e

U\$ 2,74 para a inseminação intra-uterina. Entretanto, o custo total por prenhez (custo das doses acrescido do custo do cateter) foi de U\$ 8,20 para a inseminação tradicional e U\$ 9,49 para a inseminação intra-uterina.

Weber et al. (2004), visando realizar uma avaliação bio-econômica do processo de inseminação intra-uterina, realizaram uma simulação de custos de produção de doses para IA cervical e IAU. Para IA cervical foi considerada uma CIA com 50 machos alojados e uma produção de 8 mil doses por mês (com 3 bilhões de espermatozoides). No caso da IAU foi considerado que a CIA produziria a mesma quantidades de doses ao mês com a produção de 80% das doses para IAU (com 1 bilhão de espermatozoides) e 20% das doses para IA cervical (com 3 bilhões de espermatozoides para usar em leitoas). O custo das doses produzidas na CIA que produzia doses para IAU foi reduzido devido à redução nos custos associados aos reprodutores (já que passou a operar com um número menor de reprodutores) e também devido à redução nos custos relacionados ao material de consumo da CIA. Adicionalmente foram simuladas mais duas situações: uma CIA para IAU com machos de maior valor genético e outra CIA onde, além de machos de maior valor genético, empregava-se diluente de longa duração a um custo superior ao diluente utilizado na IA cervical. Partindo dos custos das DIs foi simulado o custo estimado por fêmea coberta e foi observado que o custo final por fêmea coberta ficou muito próximo (R\$ 10,55 na IA cervical e R\$ 10,45 na IAU). Baseado nestas simulações os autores concluíram que na comparação do uso da IAU com a IA cervical, a IAU não proporciona uma redução direta expressiva dos custos de cobertura das matrizes (Tabela 4).

**3 ARTIGO SUBMETIDO À COMISSÃO EDITORIAL DA CIÊNCIA RURAL EM
MARÇO DE 2005**

Redigido e apresentado segundo as normas da Revista citada.

¹NOVA PIPETA PARA INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA EM SUÍNOS
(NEW PIPETTE FOR INTRAUTERINE INSEMINATION IN PIGS)

Gustavo Nogueira Diehl², Waldma Amaral Filha³, Rafael Kummer⁴, Felipe Koller⁵, Mari
Lourdes Bernardi⁶, Ivo Wentz⁷, Fernando Pandolfo Bortolozzo⁸

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo de 423 fêmeas suínas de ordem de parto 1 a 9 submetidas à inseminação intra-uterina (IAU), com um novo modelo de pipeta (T1) cuja extremidade não é fixada na cérvix ou uma pipeta de IAU modelo Verona® e que permite a fixação da sua extremidade em espiral na cérvix (T2). Para comparar as duas pipetas foi considerado o grau de dificuldade para realização das inseminações, o tempo necessário para realizá-las, presença de sangramento após a inseminação, a presença de refluxo no momento da inseminação, as taxas de retorno ao estro (TR), de prenhez (TPR) e de parto ajustada (TPA), além do número de leitões nascidos (NT). As fêmeas de ambos os grupos foram inseminadas com doses de 1 bilhão de espermatozoides, em intervalos de 24 horas. A passagem do cateter de IAU através da cérvix foi possível em 95,9% das fêmeas, sem diferença entre os tratamentos ($P>0,05$). Em pelo menos uma das inseminações, foi observado sangue no cateter, após a realização da IAU, em 20,6% das fêmeas do T1 e 15,2% das fêmeas do T2 ($P=0,14$). O tempo médio necessário para realizar a inseminação foi de 2,1 minutos para o T1 e 2,3 minutos para o T2 ($P=0,26$). O percentual de fêmeas com refluxo de sêmen no momento da inseminação foi maior ($P=0,01$) no T1 (8,4%) em comparação ao T2 (2,9%). Não houve diferença ($P>0,05$) nas variáveis TR (8,0 e 4,8%), TPR (93,4 e 96,2%) e NT (12,4 e 12,7 leitões) entre T1 e T2, respectivamente. A TPA do T1 (90,6%) apresentou tendência ($P=0,07$) de ser inferior à do T2 (95,1%). No T1, as fêmeas primíparas apresentaram maior TR e menor TPA em comparação às pluríparas ($P<0,05$). Os resultados mostram que a nova pipeta pode ser

¹ Parte da dissertação do primeiro autor apresentada no PPGCV da UFRGS, Porto Alegre. RS

² Médico Veterinário, PPGCV- UFRGS E-mail: gustavond@yahoo.com.br

³ Médica Veterinária, MSc, PPGCV – UFRGS, ⁴ Médico Veterinário, MSc, PPGCV – UFRGS

⁵ Médico Veterinário, PPGCV- UFRGS ⁶ Médica veterinária, Doutora, Prof(a) adjunto do Dep. de Zootecnia da Faculdade de Agronomia da UFRGS, ⁷ Médico veterinário, Doutor, Prof. adjunto do Dep. de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária da UFRGS. ⁸ Médico veterinário, Doutor, Prof. adjunto do Dep. de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária da UFRGS. Setor de Suínos, Av. Bento Gonçalves, 9090, CEP 91540-000, Porto Alegre – RS , e-mail: fpbortol@ufrgs.br

utilizada sem prejuízos ao desempenho reprodutivo, em fêmeas pluríparas, mas sugerem cautela para sua utilização em fêmeas primíparas.

Palavras-chave: inseminação intra-uterina, pipeta, fêmeas primíparas, suínos.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the reproductive performance of 423 swine females of parities 1 to 9 inseminated with two different intrauterine artificial insemination (IAU) pipettes. The first group (T1) was formed by sows inseminated with a new pipette whose extremity was not fixed in the cervix. The second group (T2) was formed by females inseminated with a Verona® pipette model, with its extremity fixed in the cervix. For the comparison of these pipettes were considered the degree of difficulty to perform the insemination, the time spent during the insemination, the presence of blood after insemination and of semen backflow during insemination. Return to oestrus rate (RO), pregnancy rate (PR), adjusted farrowing rate (AFR) and total litter size (TLS) were also evaluated. All females were inseminated with 1 billion spermatozoa per dose applied at intervals of 24 hours. The catheter of IAU was successfully inserted in 95.9% of females without difference between treatments ($P>0.05$). The presence of blood, in at least one insemination, was observed in 20.6% of T1 and 15.2% of T2 females ($P=0.14$). The average time to perform the insemination was 2.1 for T1 and 2.3 minutes for T2 females ($P=0.26$). The percentage of females with semen backflow was significantly higher ($P=0.01$) in T1 (8.4%) compared to T2 (2.9%) group. There were no differences ($P>0.05$) in RO (8.0% and 4.8%), PR (93.4% and 96.2%) and TLS (12.4 and 12.7 piglets) between T1 and T2 groups, respectively. AFR of T1 (90.6%) tended ($P=0.07$) to be lower than that of T2 (95.1%). Primiparous females of T1 showed higher RO and lower AFR in comparison to pluriparous ($P<0.05$). The results show that the new pipette can be used in pluriparous females without compromising their reproductive performance. However, caution is necessary for the utilization of this new pipette in primiparous females.

Key words: intrauterine insemination, pipette, primiparous females, swine.

INTRODUÇÃO

O uso da inseminação artificial em suínos tem sido expandido rapidamente, nos últimos anos. Juntamente com essa expansão, também tem sido intensificada a busca por novas tecnologias, com o objetivo de diminuir custos de produção ou aumentar a produtividade.

Uma das alternativas para a diminuição de custos seria a redução do número de espermatozóides/fêmea/ano que, dentre outras maneiras, pode ser obtida pela deposição não cirúrgica da dose inseminante (DI) diretamente no lúmen uterino, ou seja, a inseminação intra-uterina (IAU). A técnica de IAU consiste no emprego de um cateter que desliza pelo interior de uma pipeta tradicional, passa pela cérvix e é introduzido até 20 a 25 cm no corpo ou corno uterino (WATSON & BEHAN, 2002). Essa tecnologia permite a redução no número de espermatozóides e no volume da DI. Com isso, além da redução do custo da DI, há possibilidade de potencializar o uso de machos geneticamente superiores, incrementando o ganho genético (BORTOLOZZO et al., 2002).

Vários grupos de pesquisa vêm trabalhando neste tema e muitos progressos foram alcançados. Com os estudos realizados, tem aumentado o conhecimento a respeito do número mínimo possível de espermatozóides empregados na dose (GIL et al., 2002; MEZALIRA et al., 2005; BENNEMANN et al., 2005), o protocolo ideal para realizar as inseminações (BENNEMANN et al., 2004) e os detalhes na tecnologia de produção das DIs. Além disso, foi demonstrada a importância de cuidados no treinamento e capacitação técnica do ser humano responsável por realizar todos esses procedimentos (BENNEMANN et al., 2005).

Dentre as vantagens descritas para a IAU estão o menor refluxo ocorrendo durante ou após a inseminação (DALLANORA et al., 2004b), a redução do número de células espermáticas por dose e do volume da DI (WATSON & BEHAN, 2002; GIL et al., 2002; MEZALIRA et al., 2005; BENNEMANN et al., 2005), o menor tempo necessário para infusão da DI após a passagem do cateter (VAZQUEZ et al. 2000; MARTINEZ et al., 2002; WATSON & BEHAN, 2002) e a redução nos custos com aquisição e manutenção de machos, já que um macho poderá atender um maior número de fêmeas. Ainda, pode se especular que, com o uso da IAU, seria possível utilizar tecnologias como sexagem de espermatozóides e inseminação com sêmen congelado (LEVIS et al., 2002).

Algumas desvantagens ou limitações do uso da IAU são a necessidade de utilizar um cateter específico para IAU, cujo custo é maior, o tempo necessário para treinamento do pessoal para uso da tecnologia, a dificuldade do emprego da tecnologia em leitoas e primíparas, o maior tempo necessário para introduzir o cateter, o aumento do risco de lesões na cérvix ou no corpo uterino e o alto nível de higienização do cateter porque sua parte interna alcança o corpo uterino (LEVIS et al., 2002). Também é necessário um rígido controle da concentração e qualidade da DI.

Em vários estudos envolvendo IAU (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA et al., 2004a; BENNEMANN et al., 2004; MEZALIRA et al., 2005) não foram observadas diferenças no desempenho entre fêmeas inseminadas pela técnica de IAU e a IA tradicional, demonstrando que não há prejuízo nos índices produtivos com o emprego da inseminação intra-uterina.

Vários instrumentos, como endoscópios, sondas ou cateteres acoplados a pipetas têm sido utilizados para depositar o sêmen diretamente no útero. Alguns desses instrumentos foram testados e já são comercializados, embora tenham limitações de custo e de aplicação em fêmeas jovens. O objetivo deste trabalho foi testar um novo modelo de pipeta para IAU, mais simples, e que poderia superar essas limitações. Para isto, esse novo modelo de pipeta foi comparado a um modelo tipo “Melrose” comercialmente disponível para IAU. Foram avaliados a aplicabilidade da técnica e o desempenho reprodutivo das fêmeas inseminadas com os dois modelos de pipeta de IAU.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma unidade produtora de leitões localizada na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Foram utilizadas, em delineamento completamente casualizado, 423 fêmeas pluríparas de três linhagens comerciais, com ordem de parto (OP) variando de 1 a 9, intervalo desmame estro de 1 a 6 dias, duração da lactação entre 13 a 29 dias e média de tamanho da leitegada (TL) nos partos anteriores de 12,0 leitões. Após o início do estro, as fêmeas foram distribuídas em dois tratamentos procurando uniformizá-las quanto às variáveis descritas anteriormente. O novo dispositivo ou cateter de inseminação intra-uterina (T1) foi composto por um sistema de duas peças, uma bainha com 3 cm de diâmetro externo e 60 cm de comprimento, com uma extremidade

arredondada e uma abertura operculada nesta extremidade, e de um cateter de 0,4 cm de diâmetro e 88 cm de comprimento, que deslizava internamente à bainha, rompendo a abertura no momento da IA. Ao ser introduzido no trato reprodutivo das fêmeas, esse cateter era estendido 20-25 cm além da cérvix, alcançando o corpo do útero ou um dos cornos uterinos, permitindo a deposição intra-uterina da DI. No T2, as fêmeas receberam inseminações intra-uterinas com a pipeta descartável de IAU modelo Verona®, que consiste de uma pipeta de IA descartável tipo “Melrose” com um cateter de 0,4 cm de diâmetro e 88 cm de comprimento, que desliza internamente à pipeta. Para ambos os tratamentos foram empregados cateteres e pipetas descartáveis.

As DIs eram provenientes de uma central de inseminação artificial (CIA), onde a concentração dos ejaculados era aferida por espectrofotômetro, diluídas em BTS em doses de 3,0 bilhões de espermatozóides em 90mL. Na granja, as DIs eram submetidas a duas novas contagens em câmara hemocitométrica para aferir a concentração espermática. A partir da média dessas contagens era determinado o volume que contivesse 1 bilhão de espermatozóides. A partir dessa determinação, foram empregados volumes de 25 a 35 mL, para cada inseminação, de acordo com a partida de sêmen utilizada. Após a determinação da concentração, a motilidade das DIs foi avaliada diariamente, para que só fossem utilizadas aquelas que apresentassem no mínimo 75% de espermatozóides móveis no momento da IA. Após 48 horas de armazenamento as doses eram desprezadas.

O diagnóstico de estro era realizado 2 vezes ao dia, após o desmame, pelo reflexo de tolerância ao homem na presença do macho (RTM). A primeira IA era realizada no turno seguinte ao início do estro, repetindo-se em intervalos de 24 horas, enquanto a fêmea estivesse em estro. Durante as inseminações, eram registrados os tempos necessários para execução do procedimento e o grau de dificuldade para realização da técnica. O grau de dificuldade foi considerado baixo, médio e alto quando houve uma, duas a três e mais de três tentativas de passagem do cateter, respectivamente. Além disso, foi registrada a presença de refluxo durante ou imediatamente após a inseminação (sim ou não) e a presença de sangramento (sim ou não), na pipeta ou na vulva da fêmea, no momento da inseminação e até aproximadamente 2 horas após.

Após o início do estro, por ultra-sonografia transcutânea em tempo real, com transdutor de 5 MHz buscava-se estimar o momento da ovulação, repetindo-se a avaliação a

cada 24 horas e, com isso, certificar que houve pelo menos uma inseminação entre 0-24 horas antes da ovulação.

Foi efetuado o diagnóstico de retorno ao estro a partir dos 18 dias após a IA, pelo teste de RTM. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 23-30 dias após IA, por ultrasonografia transcutânea em tempo real, com transdutor de 5 MHz. No parto, foram coletados os dados referentes ao número de leitões nascidos (NT). O grau de dificuldade, as taxas de refluxo, de sangramento, de retorno ao estro (TR), de prenhez (TPR) e de parto ajustada (TPA), que foi calculada excluindo-se todos os animais que não pariram por causas não reprodutivas, foram analisadas pelo teste Qui-quadrado ou pelo teste de Fisher, este último quando a frequência esperada foi menor do que cinco. Os dados de tempo da inseminação, o número de inseminações e o número total de nascidos foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM (SAS, 1998) sendo as médias comparadas pelo teste t. No modelo de análise do número total de nascidos foi mantido como covariável o número médio de leitões nascidos nos partos anteriores. Dentro de cada tratamento, as fêmeas foram divididas em categorias de ordem de parto (OP 1, OP>1) e de acordo com a presença ou ausência de problemas durante a inseminação, tais como alta dificuldade de inserção do cateter, sangramento ou refluxo de sêmen. Foram comparadas as variáveis TPR, TPA, TR e NT dessas categorias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A passagem do cateter através da cérvix foi realizada com sucesso em 95,9% das fêmeas. Em 8 fêmeas do T1 (3,5%) e 10 do T2 (4,5%) não foi possível passar o cateter ($P>0,05$). Essas fêmeas não foram incluídas nas análises por terem sido submetidas à inseminação convencional. Foi observado que a maioria das fêmeas não apresentava reações que pudessem indicar desconforto, mostrando ser um procedimento bem tolerado pelas fêmeas, o que confirma as observações de VAZQUEZ et al. (2000), os quais conseguiram ultrapassar a cérvix em 90% dos animais e alcançar a extremidade do corno uterino, utilizando um endoscópio flexível. MARTINEZ et al. (2002) utilizaram um cateter flexível com 4 mm de diâmetro e 1,8 m de comprimento e obtiveram sucesso na passagem do cateter através da cérvix em 95,4% das porcas. 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. Em estudos brasileiros, nos quais foi utilizada uma pipeta comercial especificamente desenvolvida para a prática da IAU, houve 97,4% (DALLANORA et al., 2004a) e 100% (BENNEMANN et al., 2004) de sucesso na passagem do cateter.

Uma das limitações da IAU seria a dificuldade de passagem do cateter através da cérvix em fêmeas jovens, não sendo recomendada para nulíparas e primíparas, possivelmente devido ao pequeno desenvolvimento do trato genital em relação às pluríparas (LEVIS et al., 2002). MARTINEZ et al. (2001) utilizaram um cateter flexível para a transferência de embriões, em procedimento semelhante à IAU, e verificaram a impossibilidade de passagem do cateter em 10,3% das leitoas. Além disso, houve dificuldade média a alta em 20,7% das leitoas, comparado com apenas 2,9% nas porcas. No presente estudo, os percentuais de fêmeas de acordo com o grau de dificuldade (alto, médio e baixo) não diferiram entre os tratamentos (Tabela 1; $P=0,54$). Em ambos os tratamentos, a inseminação foi realizada com baixo grau de dificuldade, em elevado percentual de fêmeas (72,7% e 69,4% para o T1 e T2, respectivamente). Ao efetuar a inseminação intra-uterina profunda em fêmeas de ordem de parto 2 a 6, MARTINEZ et al. (2002) observaram que a dificuldade de passagem do cateter não foi influenciada pela ordem de parto, embora tenham constatado grau médio e alto de dificuldade em 8% das fêmeas pluríparas, provavelmente por características individuais das fêmeas. Os maiores percentuais de fêmeas com grau médio e alto de dificuldade, observados no presente estudo, podem ser devido à inclusão de primíparas ou pelo tipo de cateteres utilizados. De fato, o percentual de fêmeas com grau baixo de dificuldade diferiu entre as categorias de ordem de parto, tendo sido menor que 55% nas primíparas e superior a 70% nas outras ordens de parto, tanto no T1 como no T2 (Tabela 2).

O tempo necessário para realizar a IA não diferiu ($P=0,26$) entre os tratamentos (2,1 e 2,3 minutos para o T1 e T2, respectivamente). Esses resultados mostram que o tempo para a realização da IAU não é maior do que os 3,6 minutos registrados para a inseminação tradicional (FLORES et al., 2004), pois uma eventual demora na inserção do cateter seria compensada pelo menor tempo gasto para a infusão de menor volume da dose inseminante.

O percentual de fêmeas com refluxo de sêmen, no momento da inseminação, foi maior ($P= 0,01$) no T1 (8,4%) quando comparado ao T2 (2,9%). Em outros estudos, nos quais foi utilizada a mesma pipeta de IAU empregada no T2 (BENNEMANN et al., 2004;

MEZALIRA, 2005), não foi observado refluxo durante a inseminação, em nenhuma fêmea. Segundo MARTINEZ et al. (2002), é possível que, com a deposição de menor volume durante a IAU, ocorra uma rápida distribuição do mesmo no amplo ambiente uterino e, conseqüentemente, não seja observado refluxo durante a inseminação. Apesar do pequeno volume inseminado, o maior percentual de fêmeas com refluxo, no T1, possivelmente tenha ocorrido porque a pipeta empregada não promove um bloqueio mecânico tão eficaz como aquela do T2, cuja ponta em espiral lamelada fica presa na cérvix. Além disso, o baixo percentual de fêmeas com refluxo no T2 pode ser, conforme MARTINEZ et al. (2002), devido à distensão da cérvix e do corno uterino, pela passagem do cateter de IAU, o que pode induzir maior liberação de hormônios envolvidos na contratilidade uterina, tornando, desta forma, o transporte espermático mais eficiente.

Ocorreu sangramento, em pelo menos uma das inseminações, em 20,6% das fêmeas do T1 e em 15,2% das fêmeas do T2 ($P=0,14$, Tabela 1). WATSON & BEHAN (2002) utilizaram uma pipeta semelhante à do T2 e observaram sangue em 1,8% das fêmeas. Com a mesma pipeta do T2, BENNEMANN et al. (2004) e DALLANORA et al. (2004a) observaram a presença de sangue na extremidade do cateter ou na espiral da pipeta em 8,4% e 9,5% das fêmeas, respectivamente. No presente trabalho, o maior percentual de sangramento pode ser explicado pela inclusão de fêmeas primíparas, ao contrário dos demais estudos, nos quais foram inseminadas fêmeas com OP maior ou igual a dois. Além disso, também é possível que, pelo fato da pipeta utilizada no T1 não ter sua extremidade fixada na cérvix, ela provoque um pouco mais de traumatismos na mucosa vaginal ou na entrada da cérvix, quando o inseminador tenta encontrar a abertura do canal cervical e realizar a passagem através desse. Essa possibilidade de traumatismo poderia explicar o maior percentual de sangramento nas fêmeas primíparas do T1 em comparação com as pluríparas (Tabela 2).

Não houve diferença nas variáveis TR ($P=0,17$), TPR ($P=0,20$) e NT ($P=0,29$) entre os tratamentos (Tabela 1). Entretanto, houve uma tendência ($P=0,07$) para menor TPA no T1 em relação ao T2. Em análise com detalhamento do desempenho reprodutivo por categorias de OP, foi constatado maior comprometimento do desempenho reprodutivo nas fêmeas primíparas do T1 (Tabela 2). Nas fêmeas pluríparas do T1, bem como em todas as fêmeas do T2, os valores de TPA foram superiores a 92% e NT acima de 12,5 leitões

(Tabela 2). Esses resultados mostram que fêmeas de ordem de parto 2 ou maior podem ser inseminadas com a nova pipeta o que, provavelmente, trará redução nos custos da IAU. Por outro lado, há necessidade de cautela ao utilizar a pipeta do T1 em fêmeas primíparas, devido à possibilidade de comprometimento do seu desempenho reprodutivo.

Na tabela 3 são apresentados os dados de análise de acordo com o fato das fêmeas terem ou não apresentado algum problema durante a inseminação, tais como alto grau de dificuldade para realização da técnica, presença de sangramento ou refluxo de sêmen. Tanto no T1 como no T2, houve tendência ($P \leq 0,10$) para maior TR e menor TPA nas fêmeas com problemas. Além disso, as fêmeas do T1 com problemas apresentaram menor ($P=0,01$) número de leitões nascidos (11,5) que aquelas sem problema (12,7), o que não foi observado no T2. Esses resultados mostram que o sucesso da IAU pode ser influenciado por problemas observados durante a inseminação. A utilização da nova pipeta está mais sujeita à redução do desempenho em função desses problemas, principalmente em termos de tamanho da leitegada.

CONCLUSÃO

Embora o desempenho reprodutivo de fêmeas primíparas seja comprometido com a utilização da nova pipeta para deposição intra-uterina de sêmen suíno, a mesma pode ser utilizada em fêmeas pluríparas. Além disso, fêmeas inseminadas com a nova pipeta e que apresentam problemas durante a realização da técnica como sangramento, alta dificuldade de passagem do cateter ou presença de refluxo no momento da IA apresentam redução do tamanho da leitegada.

AGRADECIMENTOS

A CAPES e ao CNPq, a COTRISAL, a MINITÜB do Brasil e aos colaboradores Ângela, Carina, Diogo e Vinícius.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENNEMANN, P.E. et al. Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. **Animal Reproduction**, v.1, n.1, p.106-110. 2004.

- BENNEMANN, P.E. et al. Performance reprodutiva de fêmeas suínas submetidas à inseminação artificial intra-uterina ou tradicional. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2005. Submetido para publicação.
- BORTOLOZZO, F. P. et al. Avanços na inseminação artificial em suínos. In: Encontros técnicos da Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos do RGS, 2002. **Anais...** Estrela, 2002, p.01-20.
- DALLANORA, D. et al. Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas pela técnica intra-uterina ou tradicional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p. 815-819, 2004a.
- DALLANORA, D. et al. Volume and sperm number in the semen backflow after intrauterine or cervical insemination in sows. In: 15th International Congress on Animal reproduction, 2004, Porto Seguro. **Anais...**, 2004b, p.387.
- FLORES, L.A.S. et al. Comparação entre diferentes métodos de inseminação artificial em suínos. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1169-1175, 2004.
- GIL, J. et al. Post cervical insemination use of different volumes and sperms number. In: 17th IPVS Congress, 2002, Iowa, USA. **Proceedings...**, 2002, p.59.
- LEVIS, D.G. et al. Use of intrauterine insemination of pigs: pros, cons e economics. **Ohio Pork Industry Center**, 2002. Disponível em <<http://www.porkinfo.osu.edu>>. Acesso em 01 nov. 2002.
- MARTINEZ, E.A. 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. et al. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. **Reproduction**, v.123, p.163-170, 2002.
- MEZALIRA, A. et al. Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. **Reproduction in domestic animals**, v.40, p.1-5. 2005.
- ROCA, J. 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.

SAS INSTITUTE (Cary, NC). **Sas user's guide:** Statistical Analysis System, Release 6.12, 1998.

VAZQUEZ, J.L. et al. Development of a non-surgical deep intrauterine insemination technique. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION CONGRESS, IV, 2000, Beltsville. **Proceedings...** Beltsville, USA, 2000, p. 115-118.

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.

Tabela 1. Características da inseminação intra-uterina (IAU) e desempenho reprodutivo de fêmeas inseminadas com nova pipeta (T1) ou pipeta tradicional de IAU (T2).

	T1	T2	P
Número de fêmeas avaliadas	213	210	-
Grau de dificuldade alto, %(n)	10,8 (23)	10,0 (21)	0,54
Grau de dificuldade médio, %(n)	16,5 (35)	20,6 (43)	0,54
Grau de dificuldade baixo, %(n)	72,7 (155)	69,4 (145)	0,54
Fêmeas com refluxo de sêmen %(n)	8,4 (18)	2,9 (6)	0,01
Fêmeas com sangramento, %(n)	20,6 (44)	15,2 (32)	0,14
Tempo da inseminação em minutos	2,1 ± 1,5	2,3 ± 1,2	0,26
Taxa de prenhez %(n)	93,4 (199)	96,2 (202)	0,20
Taxa de retorno %(n)	8,0 (17)	4,8 (10)	0,17
Taxa de parto ajustada %(n/n)	90,6 (184/203)	95,1 (196/206)	0,07
Número total de leitões nascidos	12,4 ± 3,0	12,7 ± 2,9	0,29

P = nível de probabilidade; grau de dificuldade alto = mais de 3 tentativas de passagem do cateter; grau de dificuldade médio = 2 a 3 tentativas de passagem do cateter; grau de dificuldade baixo = passagem do cateter na primeira tentativa.

Os dados referentes ao tempo de inseminação, número de inseminações e número total de leitões nascidos correspondem a médias ajustadas ± desvio-padrão.

Tabela 2. Desempenho reprodutivo de fêmeas inseminadas com nova pipeta (T1) ou pipeta tradicional de IAU (T2) de acordo com a ordem de parto (OP).

OP (n)	T1			T2		
	OP 1(40)	OP > 1(173)	P	OP 1(39)	OP > 1(171)	P
Grau de dificuldade alto, %(n)	25,0 (10)	7,5 (13)	0,001	17,9 (7)	8,2 (14)	0,07
Grau de dificuldade médio, %(n)	22,5 (9)	15,0 (26)	0,25	33,3 (13)	17,6 (30)	0,03
Grau de dificuldade baixo, %(n)	52,5 (21)	77,5 (134)	0,001	48,7 (19)	74,1 (126)	0,002
Fêmeas com sangramento %(n)	32,5 (13)	17,9 (31)	0,04	12,8 (5)	15,8 (27)	0,64
Fêmeas com refluxo %(n)	12,5 (5)	7,5 (13)	0,34	7,7 (3)	1,75 (3)	0,04
Taxa de prenhez %(n)	87,5 (35)	94,8 (164)	0,09	89,7 (35)	97,7 (167)	0,02
Taxa de retorno % (n)	17,5 (7)	5,8 (10)	0,01	10,3 (4)	3,5 (6)	0,07
Taxa de parto ajustada %(n/n)	81,6 (31/38)	92,7(153/165)	0,03	92,1 (35/38)	95,8(161/168)	0,33
Número total de nascidos	11,5 ± 3,2	12,5 ± 3,0	0,11	12,7 ± 2,9	12,7 ± 3,2	0,97

OP1= primíparas; OP>1= fêmeas de OP superior a 1.

Grau de dificuldade alto= mais de 3 tentativas de passagem do cateter, grau de dificuldade médio= 2 a 3 tentativas de passagem do cateter; grau de dificuldade baixo= passagem do cateter na primeira tentativa.

Os dados referentes ao número total de leitões nascidos correspondem à média ajustada ± desvio-padrão.

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, dentro do mesmo tratamento, indicam valores diferentes (P<0,05).

Tabela 3. Desempenho reprodutivo das fêmeas que apresentaram ou não problemas durante a inseminação intra-uterina (IAU) com a nova pipeta (T1) ou pipeta tradicional de IAU (T2).

	Problemas - T1			Problemas – T2		
	Com	Sem	P	Com	Sem	P
TPR (n/n)	89,2 (58/65)	95,3 (141/148)	0,12	92,4 (49/53)	97,4 (152/156)	0,27
TR (n/n)	12,3 (8/65)	6,1 (9/148)	0,10	7,5 (4/53)	3,8 (6/156)	0,10
TPA (n/n)	85,5 (53/62)	92,2 (131/141)	0,09	90,2 (46/51)	96,7 (149/154)	0,06
NT	11,5 ± 3,1	12,7 ± 3,0	0,01	12,9 ± 2,8	12,7 ± 3,2	0,54

P= nível de probabilidade; TPR = taxa de prenhez aos 23 a 30 dias de gestação; TR = taxa de retorno ao estro; TPA = taxa de parto ajustada (calculada excluindo os animais que não pariram por causas não reprodutivas); NT = média ajustada ± desvio-padrão do número total de leitões nascidos.

Foram consideradas com problemas as fêmeas que apresentaram refluxo, sangramento ou grau de dificuldade alto por ocasião da inseminação.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na última década, vários grupos de pesquisa vêm trabalhando com inseminação artificial intra-uterina e muitos progressos têm sido alcançados. Progressos esses que permitiram estabelecer os processos necessários para implementar esta tecnologia e, também, permitiram que se fizesse alguns questionamentos sobre as limitações da técnica antes de sua utilização em escala comercial.

Apesar de ser encontrado um certo grau de dificuldade, relacionado a fatores individuais da fêmea, na grande maioria, a inseminação propriamente dita ocorre com pouca ou nenhuma dificuldade, tanto com a nova pipeta de IAU testada neste experimento como aquela disponível no comércio. No entanto, é necessário que o indivíduo que realiza a IAU tenha o cuidado para inserir o cateter sem forçá-lo e, assim, evitar o risco de sangramento que pode aumentar as chances de queda do desempenho reprodutivo.

A IAU é uma tecnologia promissora. Pode se especular que seria possível viabilizar o uso de biotécnicas como a sexagem de espermatozóides e a inseminação com sêmen congelado, já que na IAU é possível o uso de menor número de espermatozóides e volumes reduzidos. Além disso, a IAU pode ser economicamente rentável para a produção de doses inseminantes de machos puros ou de alto valor genético. Já que as doses inseminantes desses machos teriam um custo superior, tornar-se-ia vantajosa a produção de um maior número de doses a partir de um ejaculado, mesmo com aumento do custo por matriz coberta.

Cabe salientar que ao implementar novas tecnologias não se deve descuidar de procedimentos básicos relacionados à qualidade das doses inseminantes, ao diagnóstico de estro e cobertura e a qualificação e motivação do ser humano que realiza todos esses procedimentos (BORTOLOZZO; WENTZ; DALLANORA, 2002).

Embora haja sugestões de que a margem de segurança quanto ao número de espermatozóides para a IAU esteja entre 0,5 e 1 bilhão (GIL; TORTADES; ALEVIA, 2004), os índices de desempenho reprodutivo observados no presente estudo mostram que é plenamente possível reduzir o número de espermatozóides e o volume da dose inseminante, em relação à inseminação artificial tradicional, em até um terço. Essa redução possibilitaria

a otimização da utilização dos machos, através do aumento do número de fêmeas que podem ser inseminadas a partir de um mesmo ejaculado.

Uma das limitações da IAU é o custo do cateter, ainda alto quando comparado com o custo das pipetas de inseminação artificial tradicional. A implementação de uma tecnologia deve estar baseada nas vantagens econômicas ou sanitárias que venha a trazer. Até o momento, a redução de custos relacionados com a produção das doses inseminantes obtida com uso da IAU ainda não é suficiente para compensar o incremento no custo por fêmea coberta devido ao custo do cateter. Este é um fator determinante na viabilidade econômica da tecnologia, pois numa atividade de pequenas margens de lucro, a opção será pela técnica de melhor rentabilidade, desde que sejam mantidos os índices de produtividade. Mesmo havendo uma pequena redução no desempenho reprodutivo das fêmeas primíparas e naquelas que apresentaram problemas durante a inseminação, a utilização da nova pipeta, com doses contendo 1 bilhão de espermatozoides, em volumes de 25 a 35 mL, possibilitaram, no geral, a obtenção de taxas de parto superiores a 90% e mais de 12 leitões por fêmea. Além disso, os resultados mostram que fêmeas de ordem de parto 2 ou maior podem ser inseminadas com a nova pipeta o que, provavelmente, trará redução nos custos da IAU.

REFERÊNCIAS GERAIS

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.

BEHAN, J.R.; WATSON, P.F. A commercially based field trial to investigate trans-cervical insemination at reduced volume and sperm concentration in sows. In: 15th INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 2004, Porto Seguro. **Anais**, p. 573, 2004.

BENNEMANN, P.E. et al. Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. **Animal Reproduction**, v.1, n. 1, p. 106-110, 2004.

BENNEMANN, P.E. et al. Performance reprodutiva de fêmeas suínas submetidas à inseminação artificial intra-uterina ou tradicional. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2005a. Submetido para publicação.

BENNEMANN, P.E. Redução do número de espermatozóides por fêmea inseminada por ano. 2005b. 81f. **Tese** de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; DALLANORA, D. Avanços na inseminação artificial em suínos. In: ENCONTROS TÉCNICOS DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2002. **Anais**, Estrela, p.01-20, 2002.

CASTAGNA, C.D., Considerações sobre programas de inseminação artificial em suinocultura. 2002. 145f. **Tese** de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

COLENBRANDER, B., FEITSMA, H., GROOTEN, H.J. Optimizing semen production for artificial insemination in swine. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**. v. 48, p.207-215, 1993

DALLANORA, D. et al. Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas pela técnica intra-uterina ou tradicional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.39, n.8, p. 815-819, 2004 a.

DALLANORA, D. et al. Volume and sperm number in the semen backflow after intrauterine or cervical insemination in sows. In: 15th INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 2004, Porto Seguro. **Anais**. p. 387, 2004b.

DALLANORA, D. Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após a inseminação artificial intra-uterina ou tradicional. 2004c. 53f. **Dissertação** de Mestrado, Programa de Pós-

Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

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** de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

FLOWERS, W.L. Optimizing management of natural and artificial matings in swine. In: NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 1995, Orlando, Florida. **Proceedings**. p.519-52, 1995

GIL, J., TORTADES, J.M., ALEVIA, A. Post cervical insemination use of different volumes and sperms number. In: 17th IPVS CONGRESS, 2002, Iowa, USA. **Proceedings**. p.493, 2002.

GIL, J., TORTADES, J.M., ALEVIA, A. Post-cervical insemination use of small volumes and sperm numbers. In: 18th IPVS CONGRESS, 2004, Hamburg, Germany. **Proceedings**. p.456. 2004.

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

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.

KRUEGER, C., RATH, D. Intrauterine insemination in sows with reduced sperm number. **Reprod. Fertl. Dev**. n.12, p.113-117, 2000.

LEVIS, D.G.; BURROUGHS, S.; WILLIAMS, S. Use of intrauterine insemination of pigs: pros, cons e 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 espermatozóides na dose e efeito de inseminações artificiais pré e pós

ovulatórias sobre o desempenho reprodutivo de suínos. 2001. 66 f. **Dissertação** de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,RS, Brasil.

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

MARTINEZ, E.A. et al. Successful non-surgical deep intrauterine catheterization in gilts and sows during metoestrus. In: 6th INTERNATIONAL CONFERENCE ON PIG REPRODUCTION, 2001, Missouri – Columbia. **Abstracts**. Missouri-Columbia, USA, p.133, 2001b.

MARTINEZ, E.A. 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), intrauterine insemination (IUI), and deep intrauterine insemination (DIUI). **American Association of Swine Veterinarians**. 2003.

MBURU, J.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. et al. Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. **Reproduction in domestic animals**. v. 40, p.1-5, 2005.

NISSEN, A.K. et al. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. **Theriogenology**. n. 47, p.1571-1582, 1997

POLGE, C. Artificial insemination in pigs. **The Veterinary Record**. V.68, p.62-76, 1956

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, p. 115-118, 2000.

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

ROCA, J. 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.

SAS INSTITUTE (Cary, NC). **Sas user's guide**: Statistical Analysis System, Release 6.12, 1998.

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, p. 299-302, 1991.

SINGLETON, W.L. State of the art in artificial insemination of pigs in the United States. **Theriogenology**. v. 56, p. 1305-1310, 2001.

SOEDE, N. M. et al. Effect of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 104, p.99-106, 1995

STEVERINK, D.W.B. et al. Influence of insemination to ovulation interval and sperm cell dosage on fertilization in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 111, p. 165-171, 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.

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.

VAZQUEZ, J.L. et al. Development of a non-surgical deep intrauterine insemination technique. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BOAR SEMEN PRESERVATION CONGRESS, IV, 2000, Beltsville. **Proceedings**. Beltsville, USA, 2000, p. 262-263, 2000.

VAZQUEZ, J.M. et al. Deep intrauterine insemination in natural pos-weaning estrus sows. In: 6th INTERNATIONAL CONFERENCE ON PIG REPRODUCTION, 2001, Missouri-Columbia. **Abstracts**. Missouri-Columbia, USA, p.134, 2001.

VAZQUEZ, J.M. 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.

WEBER, D. et al. É viável implementar a inseminação intra-uterina em suínos? **Suinocultura em foco**. v.12, p.3, 2004

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

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

WENTZ, I. et al. Situação atual da inseminação artificial em suínos no Brasil e viabilização econômica do emprego desta biotécnica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL MINITUB “INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS”, III, 2000, Flores da Cunha. **Anais**. Flores da Cunha, Brasil, p.5-12, 2000.

WOLKEN, A. Untersuchungen zur unchirurgischen und chirurgischen distalen intrauterinen Besamung mit reduzierter Spermienzahl bei Jun- und Altausen. Tierärztliche Hochschule Hannover. 2001.

APÊNDICE A – Simulação de custos da IAU x IAT

Tabela 4 – Custo estimado por fêmea coberta através da inseminação artificial tradicional (IAT) e inseminação artificial intra-uterina (IAU) com diferentes pipetas, levando em consideração 2,2 IAs/estro

	IAT MR	IAT DS	IAU com cateter descartável		
			DI Básico	DI Médio	DI Superior
Custo da Dose inseminante (DI) (R\$)	4,24	4,24	2,85	4,46	5,00
Custo cateter (R\$)	0,15	0,60	1,50	1,50	1,50
Custo da Mão-de-Obra/IA (R\$)	0,40	0,35	0,40	0,40	0,40
Custo IA (R\$)(MO+Cateter+DI)	4,79	5,19	4,75	6,36	6,90
Custo total 2,2 IA/estro (R\$)	10,55	11,42	10,45	13,99	15,18

IA = Inseminação artificial

MR = pipeta de melrose reutilizável, DS = pipeta tradicional descartável

DI básico – dose de IAU com macho R\$ 3.000,00 de valor genético

DI médio – dose de IAU com macho R\$ 8.000,00 de valor genético

DI superior – dose de IAU com macho R\$ 8.000,00 de valor genético e diluente com custo 5 x superior aos demais.

APÊNDICE B – Pipetas utilizadas na execução do experimento.



FIGURA 1 – Extremidade do novo modelo de pipeta utilizado no T1.



FIGURA 2 – Extremidade da pipeta utilizada no T2 .