



Relato de Caso sobre Índices Reprodutivos Obtidos com o Uso de Sêmen Suíno Congelado em Macro-Palhetas

Paulo R. da Silveira¹
Henrique Chave Cabral²
Jerônimo A. Fávero³
Arlei Coldebella⁴

1. Introdução

Em suínos a utilização de sêmen congelado representa uma alternativa para maximizar o melhoramento de características de desempenho e de qualidade de carcaça, acelerando a obtenção de benefícios econômicos para as unidades de produção e centrais de inseminação artificial (IA) e indústria. Porém os baixos índices de fertilidade, os protocolos extremamente laboriosos e a variação na congelabilidade do sêmen entre os doadores têm dificultado o emprego rotineiro desta técnica.

O congelamento do sêmen causa danos ao acrossomo, declínio da motilidade, perda da integridade da membrana plasmática e redução da atividade metabólica dos espermatozoides, levando à perda de sua capacidade fecundante. Nestas condições, a utilização extensiva de sêmen congelado na produção comercial de suínos é economicamente inviável e limita-se às situações de preservação e intercâmbio de linhagens de alto valor genético.

O presente relato descreve, na experiência da Embrapa Suínos e Aves, a resposta da utilização a campo de sêmen suíno importado, congelado em macro-palhetas, sobre o desempenho reprodutivo das porcas inseminadas.

2. Descrição do estudo

No período de março de 2001 a fevereiro de 2004, foram inseminadas 278 porcas na granja experimental de melhoramento genético da Embrapa Suínos e Aves, localizada no Estado de Santa Catarina. Vinte e seis (26) machos das raças Landrace, Large White e Pietrain, serviram como doadores do sêmen exportado e comercializado por uma central de inseminação artificial da Alemanha. Para o congelamento das doses foi utilizada a técnica modificada de Westendorf et al. (1975), com concentração final de 2% de glicerol e envase em macro-palhetas (5,0 ml). A concentração de espermatozoides nas macro-palhetas, de acordo com a informação da Central fornecedora, foi de $5,0 \times 10^9$ espermatozoides/ml.

Logo após a aquisição das doses, foi procedida uma avaliação da morfologia espermática após o descongelamento, numa única amostra de cada cachaco. O descongelamento das palhetas foi realizado em banho-maria a 50°C por 50 segundos. Posteriormente, esta teve o seu conteúdo ressuspendido em 75 ml de diluente BTS + plasma seminal (30%) a temperatura de 30°C. Nesta amostragem inicial, para verificação da morfologia do

¹ Médico Veterinário, D.Sc., Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Cx. Postal 21, CEP 89700-000, Concórdia – SC, e-mail: silveira@cnpasa.embrapa.br

² Médico Veterinário, B.Sc.

³ Engenheiro Agrônomo, M.Sc.

⁴ Médico Veterinário, D.Sc., Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves,, e-mail: arlei@cnpasa.embrapa.br

acrossomo, uma alíquota de sêmen descongelado foi diluída em 1ml de formol citrato 2,9% e avaliada em microscópio óptico de contraste de fase (1000x.). Para avaliação da motilidade (MOT), em cada uma das 278 doses utilizadas, três amostras de cada macro-palheta descongelada foram avaliadas pelo método subjetivo de microscopia (100x) após 10 minutos a 37° C.

As porcas, todas multíparas, foram inseminadas com uma única dose de sêmen, 24 a 36 horas após o início do estro. Para a realização das inseminações foi utilizado o seguinte protocolo: nas fêmeas com intervalo desmamecio (IDC) de 3 e 4 dias foi feita aplicação de uma única dose de sêmen 36 horas após o início do reflexo de tolerância ao cachaço (RT). Nas fêmeas com IDC de 5 e 6 dias uma única dose foi aplicada 24 horas após o início do RT.

3. Resultados e Discussão

A taxa de parição obtida foi de 56,11% e as médias de nascidos totais e nascidos vivos foram de 8,63 e 8,29, respectivamente (Tabela 1). Hammitt & Martin (1989), relataram taxa de parição de 51,4% e médias de 8,8 leitões nascidos após a inseminação em porcas com estro sincronizado. Scheid et al.(1986) trabalhando com a mesma técnica de congelamento e inseminando leitoas, obtiveram 74,2% de prenhez e 8,8 embriões viáveis após 28-35 dias de gestação. Estes resultados foram bastante semelhantes aos obtidos no presente estudo, assim

como as condições de inseminação única, envazamento em macro-palhetas e número de fêmeas inseminadas.

Nas condições relatadas de uma única aplicação de sêmen durante o estro, o momento da inseminação permanece como um dos muitos fatores que podem ter influenciado a fertilidade do sêmen congelado. Outros estudos sobre a aplicação de sêmen congelado em macro-palhetas apontaram médias de nascimentos superiores, com 12,8 e 9,5 leitões vivos, respectivamente (Martin et al.,2000; Gil et al.,1996). Entretanto sob condições experimentais ou eventualmente com mais de uma inseminação por estro, fica difícil a comparação com resultados de uma única inseminação campo.

A motilidade média geral do sêmen após descongelamento foi de 42 % (Tabela 1). Em boa parte dos estudos anteriores (Hofmo & Almlid,1991; Almlid & Hofmo,1996), independentemente do protocolo de congelamento/descongelamento utilizado, a motilidade após o descongelamento foi normalmente inferior a 50%, embora também existam trabalhos que obtiveram motilidade de 51% e 54 % (Ohata et al, 2001; Ohata et al.,2005). Assim, embora uma redução da motilidade já ocorra com o resfriamento, esta é muito mais acentuada no sêmen congelado, caindo após o descongelamento para um valor de no máximo a metade do valor apresentado antes da criopreservação.

Tabela 1. Dados reprodutivos de porcas inseminadas* com sêmen congelado em macro-palhetas.

VARIÁVEL	RESULTADOS
N° de machos	26
N° fêmeas	278
Motilidade pós-descongelamento (%)	0,42 ± 0,004 [#]
Taxa de parição (%)	56,11
Nascidos totais	8,63±0,23
Nascidos vivos	8,29±0,22

*Uma única inseminação artificial 24 a 36 horas após o início do estro.

Erro padrão da média.

O congelamento/descongelamento do sêmen provoca várias alterações nos espermatozoides, entre elas o declínio da motilidade, a perda da integridade da membrana plasmática e a degeneração do acrossoma. Os efeitos deletérios provocados durante a fase de descongelamento parecem resultar de velocidades de aquecimento inapropriadas para o ritmo de resfriamento previamente utilizado. Vários rela-

tos da literatura ressaltam que como consequência dessas alterações, o transporte espermático, a capacidade de sobrevivência no trato feminino e o desenvolvimento embrionário podem ser afetados, resultando na redução da fertilidade do sêmen congelado. O uso de sêmen suíno congelado propicia baixos índices reprodutivos, com perdas de 20 a 30% na taxa

de parição e de 1 a 3 leitões por leitegada. (Flowers,1995).

No presente estudo foi observada correlação positiva entre a motilidade e o número de nascidos totais (Fig. 1). Para cada 10 pontos percentuais de aumento da motilidade do sêmen, observou-se um acréscimo de 1,0 leitão nascido ($r=0,25$). Por exemplo, estabelecendo-se um corte nos resultados de motilidade, os animais que apresentaram motilidade média $\geq 42\%$ obtiveram índices superiores de nascidos totais comparativamente aos de motilidade $\leq 41\%$ (9,18 vs 8,10 leitões). O mesmo tipo de relação também foi observada com a taxa de parição analisada pelo teste de regressão logística (Fig. 2). Para cada unidade percentual de acréscimo no índice de motilidade do sêmen descongelado, ocorreu um aumento correspondente de 1.03 na taxa de parição das porcas inseminadas ($p<0,06$). De acordo com Hofmo & Almlid (1991), a reduzida fertilidade e prolificidade obtidas com sêmen congelado decorrem, em parte, das baixas taxas de motilidade e de integridade de membranas espermática pós-descongelamento.

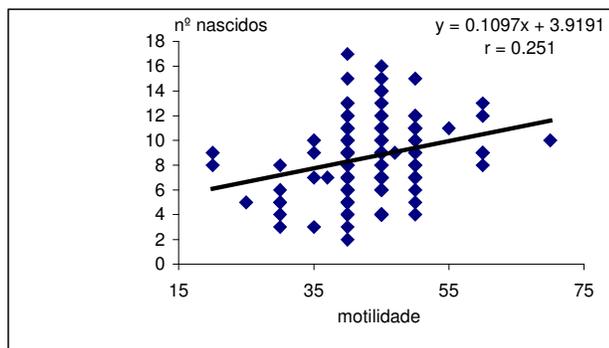


Fig. 1 - Correlação entre motilidade e número total de leitões nascidos

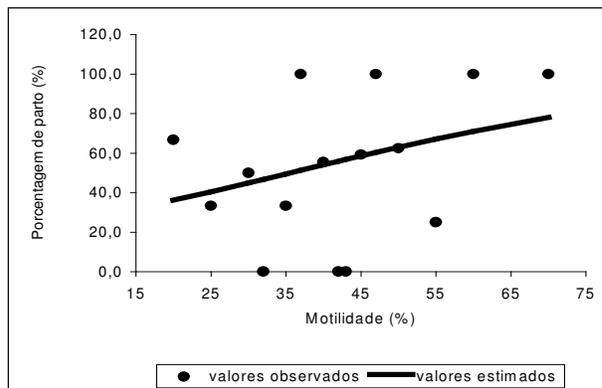


Fig. 2 - Associação* entre Motilidade e porcentagem de parto. * *Regressão Logística*

Ao longo do período de observação, no decorrer das análises de rotina da motilidade pós-descongelamento, por ocasião de cada IA, foi constatada uma grande variação entre machos quanto à motilidade espermática. Apesar da composição genética semelhante, foram observadas diferenças entre os machos de até 27% nos índices de motilidade após o descongelamento. O elevado número de machos doadores (26) frente a população de porcas inseminadas (278), não permitiu nenhuma análise específica do efeito do cachaço sobre os parâmetros de fertilidade das porcas, devido ao baixo número de inseminações efetivadas para cada macho em particular.

No presente estudo, os índices de motilidade pós-descongelamento se refletiram nos parâmetros de fertilidade das porcas inseminadas. É preciso ressaltar, entretanto, com base na literatura, que nem sempre as diferenças na qualidade espermática constatadas *in vitro*, em diferenças significativas na taxa de concepção ou taxa de parto.

O momento da inseminação é bastante crítico quando se usa sêmen congelado, visto que os espermatozoides suínos congelados permanecem férteis por aproximadamente 12-16 horas, contrastando com 24 horas, estimadas para espermatozoides resfriados. Por esta razão para se obter uma maior fecundidade com o uso de sêmen congelado, a inseminação deve ser realizado o mais próximo possível do momento da ovulação (4-8hs antes) e quando possível é recomendado o uso de duas inseminações por estro dentro do seguinte protocolo:

Porcas com IDC de 3-4 dias: 1ª IA – cerca de 30h após o início do estro e a 2ª IA 10-12 h após a primeira.

Porcas com IDC de 5 a 6 dias : 1ª IA – cerca de 24hs após o início do estro e a 2ª IA 10-12h após a primeira.

4. Conclusões e Recomendações Finais

Os índices de fertilidade obtidos no presente caso, com uma única aplicação de sêmen congelado, continuam bem abaixo dos resultados da aplicação comercial com duas doses de sêmen resfriado. Os resultados sugerem que os índices de motilidade pós-descongelamento apresentaram relação com a fertilidade potencial do sêmen congelado.

Não obstante, para os programas genéticos nacionais incorporarem os progressos do melhoramento já alcançados no exterior, a prática do uso de IA com sêmen congelado é recomendada com base nesses mesmos resultados, os quais podem ser considerados satisfatórios para as condições de uso a campo, especialmente quando uma única dose inseminante foi utilizada. Possivelmente, a associação com a prática da inseminação pós-cervical poderá incrementar os resultados de campo com uso de sêmen congelado, pelo fato dos espermatozoides serem depositados profundamente no trato genital, reduzindo perdas espermáticas durante o transporte até o sítio da fecundação.

5. Referências Bibliográficas

ALMLID, T.; HOFMO, P.O. A brief review of frozen semen application under Norwegian AI service conditions. **Reproduction in Domestic Animals**, v.31. n.1, p.169-173, 1996.

FLOWERS, W.L. Reproductive management: a technical and economical analysis of natural mating (NM) versus artificial insemination (AI). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 7., 1995 Blumenau. **Anais**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1995. p. 49-51.

GIL, J.; JIMENEZ, M.; DIAZ, C.; SANCHEZ, R.; MARTIN RILLO, S. Swine AI with frozen boar semen in work routine. **Reproduction in Domestic Animals**, v.31, n.1, p.289-290, 1996.

HOFMO, P.O.; ALMLID, T. Recent developments in freezing of boar semen with special emphasis on cryoprotectants. **Reproduction in Domestic Animals**, p.111-122, 1991. Suplemento 1.

HAMMITT, D.G.; MARTIN, P.A. Fertility of frozen-thawed porcine semen following controlled-rate freezing in straws. **Theriogenology**, v.32, n.3, p.359-368, 1989.

MARTIN, M.J.; EDGERTON, S.; WISEMAN, B. Frozen semen: a breeding protocol that results in high fecundity. **Swine Health Production**, v.8, n.6, p.275-277, 2000.

OHATA, P.M.; WENTZ, I.; BERNARDI, M.L.; CASTAGNA, M.L. & BORTOLOZZO, F.P. Viability of frozen swine semen submitted to a pre-freezing equilibrium time in the presence or absence of plasma seminal. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 29, p.123-129, 2001.

OHATA, P.M.; BERNARDI, M.L.; REIS, G.R.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Freezability of swine semen according to equilibration time and chilling sensitivity. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 69-74, 2005.

SCHEID, I.; WENTZ, I.; SOUZA, N.M.; MARIANO, S.M. **Resultados comparativos da inseminação artificial em suínos com sêmen congelado e resfriado**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1986. 2p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 100).

WESTENDORF, P.; RICHTER, L.; TREU, H. Zur Tiefgefrierung von Ebersperma. **Dtsch. Tierarzt. Wacherisch**, v.82, p.26-67, 1975.

Comunicado Técnico, 443

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Suínos e Aves
Endereço: Br 153, Km 110,
Vila Tamanduá, Caixa postal 21,
89700-000, Concórdia, SC
Fone: 49 3441 0400
Fax: 49 3442 8559
E-mail: sac@cnpsa.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2006): tiragem: 100

Comitê de Publicações

Presidente: Claudio Bellaver
Membros: Teresinha M. Bertol, Cícero J. Monticelli, Gerson N. Scheuermann, Airton Kunz, Valéria M. N. Abreu
Suplente: Arlei Coldebella

Revisores Técnicos

Cícero J. Monticelli, Nelso Móres, Isabel R. Scheid, Irene Z.P. Camera

Expediente

Supervisão editorial: Tânia M. B. Celant
Editoração eletrônica: Vivian Fracasso
Foto: Paulo R. da Silveira e Isabel R. Scheid