



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA COM INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL INTRA-CERVICAL E PÓS- CERVICAL, EM
FÊMEAS SUÍNAS, ASSOCIADA À CONCENTRAÇÃO
ESPERMÁTICA E PERFIL ESTRAL**

CAROLINA GONÇALVES SERRET

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação do Prof. Thomaz Lucia Júnior, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Agrícola, Área de Concentração: Reprodução Animal, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

**PELOTAS
Rio Grande do Sul - Brasil
Março de 2005**

CAROLINA GONÇALVES SERRET

**EFICIÊNCIA REPRODUTIVA COM INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL INTRA-CERVICAL E PÓS- CERVICAL, EM
FÊMEAS SUÍNAS ASSOCIADO A CONCENTRAÇÃO
ESPERMÁTICA E PERFIL ESTRAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob orientação do Prof. Thomaz Lucia Júnior, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Agrícola, Área de Concentração: Reprodução Animal, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

APROVADA: 31 de março de 2005

Prof. Marcio Nunes Corrêa

Prof. Eraldo Lourenso Zanella

Prof. João Carlos Deschamps

Prof. Thomaz Lucia Júnior
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À Deus

A meus pais Djalma e Ana Eliza pelo amor, carinho, compreensão e apoio dedicados a mim.

Ào meu esposo Sandro pelo amor e carinho e crença em nossos planos futuros.

Ao Dindo e a Dinda pelo carinho e ajuda nos momentos difíceis.

À família Tonieto e Navarini pelo carinho.

Ao colega Marcus Vinicius Alvarenga pelo apoio, pela amizade e pelo empenho e dedicação no desenvolvimento e execução desta dissertação.

Ao meu orientador Thomaz Lucia Júnior pelas oportunidades oferecidas a mim.

Ao amigo Marcio Nunes Corrêa por ser um exemplo de dedicação e determinação na conquista de seus ideais.

À Vitagri, a Cooagril e a Intergen por disponibilizarem a granja e a central de inseminação artificial para o desenvolvimento desta dissertação.

Aos colegas atualmente integrantes do grupo PIGPEL e também aqueles que já tomaram outros destinos profissionais, meu sincero carinho e amizade.

ÍNDICES

AGRADECIMENTOS	III
SUMÁRIO	VI
SUMMARY	VIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Inseminação Artificial em Suínos	5
2.2. Perfil Estral e Protocolos de IA	7
2.3. IA intra-Cervical	10
2.4. IA Pós Cervical	11
2.5. Inseminação Intra-uterina Profunda	14
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
4. EFICIÊNCIA REPRODUTIVA COM INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL INTRA- CERVICAL E PÓS-CERVICAL, EM FÊMEAS SUÍNAS, ASSOCIADA A CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA E PERFIL ESTRAL	
RESUMO	20
ABSTRACT	22
OBJETIVO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25

RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÕES GERAIS	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Delineamento Experimental	29
Tabela 2: Distribuição das fêmeas, taxas de concepção e parição e total de leitões nascidos em função dos tratamentos.....	32
Tabela 3: Regressão Logística para taxa de parição em função dos tratamentos	33
Tabela 4: Tamanho total da leitegada em função da interação e ordem de parto	35

SUMÁRIO

Serret, C.G. **Eficiência reprodutiva com inseminação artificial intra-cervical e pós-cervical, em fêmeas suínas, associada à concentração espermática e perfil estral.** Pelotas RS, 2005. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Agrícola). Orientador: Thomaz Lucia Júnior.

A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica reprodutiva que vem sendo intensamente utilizada na suinocultura, em função dos benefícios genéticos e sanitários, permitindo que as agroindústrias coloquem no mercado produtos saudáveis e de qualidade. A técnica de IA pós-cervical (IAPC) possibilita a deposição do sêmen no corpo do útero, utilizando doses inseminantes com de 1×10^9 espermatozoides/dose. Portanto, com a IAPC, a fertilidade do reprodutor utilizado como doador de sêmen, passa a influenciar o desempenho reprodutivo de um número três vezes maior de fêmeas, quando comparado a IA convencional. Este estudo teve como objetivo comparar o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas a IAIC, com dose inseminante convencional com a IAPC com 3 diferentes concentrações ($2; 1; e 0,5 \times 10^9$ espermatozoides/ dose). O estudo incluiu 338 fêmeas F1, sendo que, 232 fêmeas receberam a primeira dose inseminante 12 h após a detecção de cio e as doses subseqüentes em intervalos de 12 h, enquanto 106 fêmeas foram inseminadas imediatamente após a ovulação, confirmada por ultra-sonografia em tempo real. Taxas de concepção e parição (TPAR) para a IAIC (98,9% e 97,9%, respectivamente), foram maiores ($P < 0,001$) às observadas para a IAPC (87,1% e 84,3%, respectivamente). Tanto para taxa de concepção como TPAR, os índices observados para o T8 foram

numericamente inferiores aos demais tratamentos, porém sem diferença significativa ($P > 0,05$). O total de leitões nascidos por parto não diferiu entre os tratamentos ($P = 0,09$). Para as fêmeas com 1, 2 , 3 ou mais partos, a TPAR foi igual a 90,2%, 82,7% e 88,9% ($P = 0,40$). No entanto, o total de leitões nascidos foi influenciado pela ordem de parto (OP) das matrizes, sendo inferior ($P = 0,0004$) para fêmeas primíparas ($9,1 \pm 0,4$) do que para fêmeas com 2 e 3 ou mais partos ($11,5 \pm 0,5$ e $11,5 \pm 0,2$, respectivamente). Também houve interação entre o efeito dos tratamentos e a OP com relação ao tamanho de leitegada, pois a resposta foi inferior ($P < 0,05$) em fêmeas primíparas em alguns dos tratamentos com IAPC. Com isso, podemos concluir que o método de IAPC, em condições de rotina em uma granja comercial, atingiu índices de desempenho reprodutivo semelhantes quando comparado com o IAIC, com doses de até 1×10^9 espermatozóides.

Palavras-chave: suínos, inseminação pós-cervical, taxa de parição, tamanho de leitegada.

SUMMARY

Serret, C.G. **Reproductive efficiency with intra-cervical and post-cervical artificial insemination in female swine associated with spermatozoa concentration and estrus profile.** Advisor: Thomaz Lucia Júnior.

Artificial insemination (AI) is a technique intensively used in the swine farms nowadays, due to its benefits related to genetic improvement and health status, allowing the industry to market high-quality healthy products. The post-cervical AI (PCAI) allows the deposition of semen in the uterine body, using 1×10^9 spermatozoa dose. Thus, with PCAI the fertility of one particular boar can influence the reproductive performance of a much higher number of females than in ICAI-based systems. The objective of this study was to compare the subsequent reproductive performance of swine breeding females submitted to either intra-cervical artificial insemination (ICAI) with sperm concentrations of 3.5×10^9 spermatozoa per dose or post-cervical artificial insemination (PCAI) with 2, 1, or 0.5×10^9 spermatozoa per dose. The study was conducted in a commercial farm including 338 F1 females. Among them, 232 were first inseminated 12 h after estrus detection, receiving the subsequent doses after 12 h intervals, whereas 106 were inseminated right after ovulation diagnosis through real-time ultrasound. Conception and farrowing (FR) rates for ICAI (98.9% e 97.9%, respectively) did not differ ($P < 0,001$) from those observed for PCAI (87.1% e 84.3%, respectively). Total litter size did not differ across treatments ($P = 0.09$). Although TP did not

differ ($P = 0,40$) for different parities, total litter size for primiparous females (9.1 ± 0.4) was lower ($P = 0,0004$) than for parity-2 and -3 females (11.5 ± 0.5 e 11.5 ± 0.2 , respectively). There was a significant effect of an interaction between treatment and parity on total litter size ($P < 0.05$), generally characterized by the occurrence of lower litter sizes for PCAI in primiparous females than for other treatment by parity combinations. In conclusion, reproductive performance for PCAI and ICAI were similar with sperm concentrations up to 1×10^9 spermatozoa per dose.

Palavras-chave: swine, post-cervical artificial insemination, farrowing rate, total litter size.

1. INTRODUÇÃO

Estimativas indicam que existem aproximadamente 70 milhões de fêmeas suínas no mundo (Corrêa *et al.*, 2001), das quais 50% estariam em sistemas de produção tecnificados, com 25% deste total acasalado por IA. Portanto, a IA é uma biotécnica integrada, de modo irreversível, ao manejo reprodutivo da espécie suína (Deschamps *et al.*, 1998; 2000). A grande difusão da IA, deve-se, principalmente a fatores como: ganho genético com o emprego de machos superiores; redução nos custos de cobertura; melhor aproveitamento das instalações; maior segurança sanitária; maiores cuidados higiênicos nas coberturas; eliminação de ejaculados impróprios para uso; e evolução técnica da equipe na implantação do emprego dessa tecnologia (Corrêa *et al.*, 2001; Deschamps *et al.*, 1998; 2000; Bortolozzo *et al.*, 2003).

O protocolo de execução da IA tem grande influência sobre o sucesso de programas de IA, principalmente a partir das associações entre intervalo desmame-estro, duração do estro e o momento da ovulação. A fêmea suína, na maioria das vezes, apresenta ovulação no início do terço final do estro, que possui duração relativamente longa, entre 48 e 60 horas (Weitze *et al.*, 1994; Soede *et al.*, 1996; Nissen *et al.*, 1997; Wentz *et al.*, 1997; Lucia *et al.*, 1999). No entanto,

os estudos citados também relatam que a duração do estro é altamente variável, o que dificulta a estimativa do momento da ovulação. Em função disto, o uso de 2-3 doses inseminantes, com elevadas concentrações de espermatozóides (entre 2,5 e $3,0 \times 10^9$), compensaria eventuais prejuízos à fertilidade subsequente, em função de possíveis perdas na viabilidade espermática durante o trânsito dos espermatozóides, desde a cérvix até o oviduto, onde ocorrerá a fertilização, uma vez que a técnica mais utilizada seria a IA intra-cervical (IAIC).

Recentemente, foi desenvolvido o método de IA pós-cervical (IAPC), realizada com catéteres capazes de depositar o sêmen no corpo do útero (Watson *et al.*, 2001; Watson & Behan 2002). Desta forma, o número de barreiras mecânicas e fisiológicas a serem vencidas pelos espermatozóides no seu trajeto até o local da fertilização seria reduzido, encurtando a duração de seu trajeto até o oviduto. Conseqüentemente, menores concentrações de espermatozóides por dose inseminante poderiam ser usadas, proporcionando um aproveitamento mais eficiente dos ejaculados.

Vários grupos de pesquisa estão estudando essa nova técnica, porém no Brasil ainda não foi realizado nenhum trabalho utilizando a ultra-sonografia e a ovulação espontânea de fêmeas suínas o que demonstra há carência de estudos com relação a técnica de IAPC, principalmente em condições de campo. O objetivo do trabalho foi estudar a técnica de inseminação artificial pós-cervical em suínos, com reduzidas concentrações espermáticas (2,0, 1,0 e $0,5 \times 10^9$ espermatozóides), comparando indicadores de eficiência reprodutiva (taxa de parição e tamanho de leitegada), com as obtidas com inseminação artificial intra-cervical com dose inseminante convencional ($3,5 \times 10^9$ espermatozóides),

considerando também diferentes protocolos de IA, baseadas no perfil estral adotado pela granja e na determinação do momento da ovulação através de ultrasonografia em tempo real.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Para que haja um incremento cada vez maior da competitividade em suinocultura, é fundamental aumentar a eficiência reprodutiva da fêmea suína, ou seja, o número de leitões desmamados / fêmea / ano (Stein, 1988; Apud Corrêa, 1998), o qual é largamente influenciado pela média anual de dias não produtivos (DNP), (Dial *et al.*, 1992; Apud Corrêa, 1998). Para a obtenção de resultados satisfatórios, uma série de fatores devem ser observados, dentre os quais o momento da realização da Inseminação Artificial (IA) / cobertura e neste contexto, a duração do estro e o momento da ovulação, desempenham papel fundamental (Bortolozzo, 1993).

Estimativas indicam que existem aproximadamente 70 milhões de fêmeas suínas no mundo (Corrêa *et al.*, 2001), das quais 50% estariam em sistemas de produção tecnificados, com 25% deste total de fêmeas acasalado através de IA. No Brasil, existiriam aproximadamente 2,7 milhões de fêmeas suínas, das quais 70% estariam em sistemas tecnificados de criação (FNP/ABCS/ABIPECS/IBGE, 2003).

Assim, a IA é uma biotécnica integrada, de modo irreversível, ao manejo reprodutivo da espécie suína. Essa consolidação ocorreu nos últimos 20 anos a nível mundial e deve-se a enormes vantagens advindas do emprego dessa

tecnologia, tais como: ganho genético com o emprego de machos superiores, redução nos custos de cobertura, melhor aproveitamento das instalações, maior segurança sanitária, maiores cuidados higiênicos nas coberturas, eliminação de ejaculados impróprios para uso e evolução técnica da equipe na implantação do emprego dessa tecnologia (Bortolozzo *et al.*, 2003).

A grande difusão da IA, deve-se, principalmente ao surgimento de linhagens genéticas de machos terminais que agregam às carcaças de seus descendentes as qualidades exigidas pela tipificação instituída na indústria de carnes (Bortolozzo *et al.*, 2003). A necessidade de atender as exigências do mercado consumidor no que diz respeito à qualidade da carne e teor de gordura na carcaça foram os principais responsáveis pelos progressos genéticos nessa área, na espécie suína.

Recentemente, foi desenvolvido o método de IA intra-uterina ou pós cervical (IAPC), realizada com catéteres capazes de depositar o sêmen no útero em posição pós-cervical, no corpo do útero (Watson *et al.*, 2001; Watson & Behan 2002) ou ainda mais profundamente, nos cornos uterinos, no método chamado de IA intra-uterina profunda (Vazquez *et al.*, 2001). Desta forma, o número de barreiras mecânicas e fisiológicas a serem vencidas pelos espermatozóides no seu trajeto até o local da fertilização seria reduzido, encurtando a duração de seu trajeto até o oviduto. Conseqüentemente, menores concentrações de espermatozóides por dose inseminante poderiam ser usadas, proporcionando um aproveitamento mais eficiente dos ejaculados (Watson *et al.*, 2001; Watson & Behan 2002).

2.1. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS

A IA é uma biotécnica reprodutiva cujo uso vem crescendo substancialmente em granjas comerciais de produção de suínos (Deschamps *et al.*, 1998; 2000). Portanto a IA, tem se mostrado uma prática indispensável a qualificação da produtividade, possibilitando a elevação dos índices de desempenho reprodutivo e oferecendo novas perspectivas tecnológicas a atividade. No Brasil, a IA, desenvolveu-se, a partir de 1975, com a criação de centrais de IA na região sul. Em 1990, cerca de 2% do rebanho nacional já estava sendo inseminado (Reis, 1997).

Mundialmente, a IA está relacionada a um aumento na comercialização de sêmen pelas centrais de IA (sistemas abertos) e também pelo aumento no número de programas de produção de sêmen em ambiente de granja (sistemas fechados) (Deschamps *et al.*, 1998); e principalmente com a redução do custo final de produção obtido com a implementação desta técnica quando comparada à Monta Natural (MN) (Bortolozzo & Wentz, 1997).

A marcante expansão no uso da IA vêm sendo direcionada por diversos fatores. O principal seria a possibilidade de disseminação acelerada de material genético de animais superiores, reduzindo a distância entre os pólos extremos da pirâmide genética (Visscher *et al.*, 2000).

Em granjas manejadas com fluxo de produção intenso, a implantação da IA introduz uma vantagem adicional, uma vez que os espaços anteriormente reservados aos machos podem ser alocados para alojar mais fêmeas em produção. Assim, a granja não apenas teria maior produção bruta, como também

maior eficiência de produção, uma vez que mais leitões seriam produzidos por unidade de tempo e por unidade de espaço. Outra vantagem importante esta relacionada à sanidade, pois com a implantação da IA, há um incremento na bissegurança, uma vez que existe uma redução no volume de machos introduzidos no rebanho (Deschamps *et al.*, 2001).

A IA é utilizada com sêmen resfriado à temperatura de 14–18°C, dentro de, no máximo 72 h, com a grande maioria das IA (85%) realizadas no dia da coleta do sêmen ou no dia seguinte (Johnson *et al.*, 2000). O acondicionamento deve promover a manutenção da qualidade espermática, de modo que a motilidade não deva ser menor que 60% antes da IA, mantendo-se mais de 2,5 bilhões de células vivas por dose (Corrêa *et al.*, 2001).

O uso de sêmen congelado foi descrito, pela primeira vez, por Pursel & Johnson (1975). Porém, o sêmen congelado praticamente não é usado em condições de campo, pois os índices de fertilidade pós-descongelamento (em torno de 60%) inviabilizam a sua aplicação (Roca *et al.*, 2003).

De acordo com Corrêa *et al.* (2001), pode-se conferir que na MN, a relação macho:fêmea está entre 1:15 e 1:25, e que em sistemas de IA esta relação passa a ser de 1:80 e 1:200. Portanto, o emprego da IA, mesmo com uma tecnologia tradicional, permitiu um aumento no número de fêmeas atendidas por macho quando comparada à monta natural.

Atualmente, vários grupos de pesquisa tem estudado o desenvolvimento de um novo método chamado de IA intra-uterina ou pós-cervical (IAPC), realizada com catéteres capazes de depositar o sêmen no útero em posição pós-cervical, no corpo do útero (Watson *et al.*, 2001; Watson & Behan 2002). Com a consolidação

da técnica de inseminação pós-cervical, este número (proporção macho:fêmea) aumentará para 1:300 a 1:2000 (Vazquez *et al.*, 2001; Watson *et al.*, 2002). O uso desta técnica poderá permitir uma utilização mais eficiente de um reduzido número de machos, de maior mérito genético, atingindo um maior número de fêmeas, sem perdas em fertilidade e prolificidade (Vazquez *et al.*, 2001).

2.2. PERFIL ESTRAL E PROTOCOLOS DE IA

O sucesso de programas de IA depende do estabelecimento de protocolos de acasalamento ajustados a diversos parâmetros relacionados ao perfil estral do plantel de fêmeas, incluindo: o intervalo desmame-estro (IDE); a duração do estro (DE); e o momento da ovulação (MOV).

O IDE é um dos intervalos com maior impacto sobre os DNP, uma vez que DNP se acumulam neste intervalo, a cada ciclo reprodutivo, durante a vida reprodutiva de cada fêmea (Lucia, 2000). O perfil estral é um procedimento realizado para se estabelecer um adequado protocolo de IA e é caracterizado pela estimativa da duração média do estro das fêmeas de cada granja (Corrêa *et al.*, 2001). Este procedimento permite que seja estimado o momento da ovulação, possibilitando a inseminação das fêmeas no momento mais apropriado.

O IDE também possui um potencial impacto sobre o desempenho reprodutivo subsequente da fêmea. Fêmeas que demonstram sinais de estro mais precocemente podem apresentar taxa de parição e tamanho de leitegada subsequentes superiores aos observados para fêmeas com manifestação de estro mais tardia (Xue *et al.*, 1998). Este efeito poderia ser consequência da relação

negativa entre o IDE e a DE subsequente, pois fêmeas com IDE mais curto tendem a apresentar estro mais prolongado (Lucia *et al.*, 1999a).

Porém, tanto o IDE, quanto a DE estão sujeitos à grande variação. Em condições normais, 80% das fêmeas em plantéis comerciais apresentam IDE de, no máximo, 6 a 7 dias (Weitze *et al.*, 1994), pois o IDE, normalmente é mais longo em fêmeas primíparas do que em fêmeas com maior número de partos. Com relação à DE, estudos conduzidos na Europa relatam médias entre 50 e 60 h, com amplitudes entre 24 e 96 h (Weitze *et al.*, 1994; Nissen *et al.*, 1997), enquanto estudos conduzidos no Brasil relatam médias entre 48 e 61 h (Lucia *et al.*, 1999a). Uma associação de grande magnitude entre IDE e a DE, em granjas brasileiras, somente foi observada em fêmeas tratadas com Gonadotrofina Coriônica Equina após desmame (Lucia *et al.*, 1999b).

O momento da ocorrência da ovulação (MOV) pode ser estimado a partir do IDE, considerando as médias observadas para o IDE e a DE (Lucia *et al.*, 1999a). Esta estimativa é importante para a definição da frequência de acasalamentos a serem executados durante o estro, cuja execução deve estar sincronizada ao MOV, que em geral ocorre no início do terço final do estro. O MOV pode ocorrer entre 35 e 45 h após o início do estro, com amplitude de 10 a 120 h (Weitze *et al.*, 1994; Nissen *et al.*, 1997). No entanto, o perfil estral apresenta um grande potencial de imprecisão, por ser baseado em informações retrospectivas e por não considerar as variações individuais entre as fêmeas.

Em função da DE ser relativamente longa e das dificuldades da determinação do MOV, a maioria das granjas utilizam a IA duas a três vezes por estro, com intervalos de 12 h. Portanto, o momento mais indicado para a

realização da IA, em relação à ovulação, pode ser considerado como o ponto de estrangulamento mais crítico para o estabelecimento de protocolos de IA. Ainda que o uso de um maior número de IA (quantas forem possíveis realizar durante o estro) sejam utilizadas em algumas granjas, supostamente para compensar possíveis falhas na determinação do MOV, esta prática não promove aumento nas taxas de parição e no número total de leitões nascidos por parto (Viana *et al.*, 2001), e, em alguns casos, pode até ser associada com redução no desempenho. Além disto, o uso de um maior número de doses onera o sistema, exigindo um maior número de horas trabalhadas por fêmea/estro, aumentando a demanda de sêmen e sobrecarregando a central de coletas, o que pode interferir negativamente na qualidade do sêmen (Corrêa *et al.*, 2001). O intervalo ideal entre a realização da IA e a ovulação não está bem determinado, variando de 12 até 28 h antes e 4 h após a ovulação (Waberski *et al.*, 1994; Soede *et al.*, 1995; Nissen *et al.*, 1997).

Outra forma de diagnosticar o momento da ovulação em fêmeas suínas é através da ultra-sonografia em tempo real (Soede *et al.*, 1995). Este método é mais preciso, porém, altamente dependente da habilidade e do treinamento do profissional. Soede *et al.* (1995) observaram através de ultrassonografia trans-retal, em fêmeas pluríparas, que o momento ótimo para a IA seria entre 24 e 0 h, antes do momento da ovulação. Posteriormente, Nissen *et al.* (1997) observaram que ótimos índices de fertilização ocorreram em fêmeas pluríparas inseminadas entre 28 h antes e 4 h após o momento da ovulação. Viana *et al.* (2001) demonstraram que não há variação nem na taxa de fecundação, nem na viabilidade embrionária, quando se inseminam fêmeas pluríparas até 36 h antes

ou até 12 h após a ovulação, sendo que há uma acentuada diminuição do número de espermatozóides acessórios quando as inseminações são realizadas além de 12 h antes da ovulação.

2.3. IA INTRA-CERVICAL

O método mais comum de IA é o intra-cervical (IAC), com utilização de doses inseminantes com concentração entre $2,5-3,0 \times 10^9$ espermatozóides (Corrêa *et al.*, 2001). O sêmen é depositado no interior da cérvix, onde grande parte deste fica retido nas criptas cervicais, e, portanto o restante percorre um trajeto longo até chegar à ampola, região em que ocorre a fecundação (Rath, 2002). As pipetas utilizadas são na grande maioria do tipo Melrose, mas pipetas plásticas descartáveis também são usadas.

Quando o sêmen é depositado no trato reprodutivo da fêmea suína, são desencadeados mecanismos de defesa do organismo da fêmea, pois o sêmen é reconhecido como um material estranho depositado no útero. Como consequência destes processos, ocorre diminuição do volume e do número de espermatozóides (Matthijs *et al.*, 2000). Os espermatozóides que não alcançam o reservatório uterino são eliminados do trato genital da fêmea através de refluxo ou fagocitose (Steverink *et al.*, 1998). A fagocitose das células espermáticas é a principal forma de eliminação de espermatozóides do trato genital feminino (Matthijs *et al.*, 2000). Esse processo de limpeza é fisiológico e necessário e, basicamente tem a função de preparar o útero para receber os embriões.

Apesar de ser tratado como um fenômeno comum durante a execução da IA, o refluxo de sêmen representa uma redução no conteúdo de células espermáticas que efetivamente são inseridas no trato reprodutivo da fêmea. Segundo Baker *et al.* (1968), cerca de 22-39% de um volume de 100 mL seria perdido por refluxo, no momento da IA. A ocorrência de refluxo seria dependente do volume da dose inseminante, da falta de paciência e de habilidade do inseminador e de variações na contratilidade uterina (Dallanora *et al.*, 2003). Para minimizar as perdas por refluxo, é recomendado dar especial atenção ao desencadeamento do reflexo de tolerância na presença do macho durante todo o procedimento (Bortolozzo *et al.*, 2003). O impacto da perda de células devido ao refluxo poderá se constituir em um fator de maior impacto, na medida em que se utilizem técnicas de IA com reduzido número de espermatozóides por dose inseminante.

2.4. IA PÓS CERVICAL

A IA pós-cervical (IAPC) se baseia na introdução de um catéter de 20-25 cm, que desliza pelo interior de uma pipeta de IA tradicional, passando através da cérvix, sendo introduzido no corpo do útero (Martinez *et al.*; 2001, Watson & Behan, 2002).

A principal vantagem desta técnica seria o uso de doses inseminantes com reduzida concentração de espermatozóides e com menor volume total. Comparações entre IAIC e IAPC com concentrações de 3, 2 e 1 x 10⁹ espermatozóides/mL evidenciaram que as duas técnicas não diferiram quanto a

taxa de parição e tamanho total de leitegada nas maiores concentrações, mas a IAPC apresentou melhores índices quando usou-se a concentração de 1×10^9 espermatozóides/mL (Watson & Behan, 2002). Esta concentração corresponde a uma redução de 1/3 no total de células empregadas nas doses convencionais e de 25-30% do diluente consumido por uma central de IA.

Portanto, a aplicação desta técnica em programas de IA promoveria um incremento no impacto dos machos utilizados como doadores de sêmen, pois o material genético destes seria usado em um maior número de fêmeas. Como consequência, Centrais de IA poderiam reduzir o número de espaços para alojamento dos machos, com consequente redução nos custos com alimentação, tratamentos, vacinas, etc. Este cenário poderia representar uma aparente desvantagem para as empresas de melhoramento genético, supondo que houvesse substancial redução nas vendas de reprodutores. Porém, considerando que os reprodutores usados como doadores de sêmen sejam animais de mérito genético superior, esta perda poderia ser compensada pelo aumento no preço dos machos.

Outra vantagem desta técnica seria a redução das perdas de espermatozóides por refluxo e fagocitose, já que o trajeto percorrido pelas células espermáticas até o oviduto seria menor e a cérvix, principal barreira mecânica para o trânsito espermático, já teria sido ultrapassada (Bortolozzo *et al.*, 2003,). Com relação à IAIC, a duração da IAPC é mais prolongada, em cerca de 1 minuto, em função de que, inicialmente, a passagem do catéter é mais difícil que na IAIC. Porém, uma vez atingido o corpo do útero, o sêmen é depositado mais rapidamente, em função da menor dose e, também, pela ocorrência de contrações

uterinas que facilitam a propulsão do sêmen até a ampola (Bortolozzo *et al.*, 2003).

É importante relatar que essa nova tecnologia apresenta algumas limitações. Uma destas limitações seria a necessidade de treinamento e supervisão, de forma mais intensiva que a tradicional, até que a aplicação da técnica seja assimilada pela equipe da granja. Também pode haver aumento nos custos, pois o catéter para IAPC, nas condições atuais de mercado, é mais caro. Também há a necessidade de uso de tecnologia de alta precisão na determinação da concentração das doses inseminantes, o que nem sempre é conduzido da maneira correta em Centrais de IA de grande porte, em função do grande número de doses a serem processadas. Ainda é importante ressaltar a dificuldade na IAPC de fêmeas nulíparas e primíparas, devido à dificuldade de passagem do catéter através da cérvix, em alguns casos (Bortolozzo *et al.*, 2003).

Além disso, em algumas granjas comerciais nas quais foram usadas pipetas pós-cervicais compostas (pipeta padrão e sonda interna semi-rígida que se projeta 20 mm além da ponta da pipeta externa), observou-se que inseminando com $0,5-1,5 \times 10^9$ espermatozóides viáveis/dose por meio de um sistema de inseminação trans-cervical, o índice de fecundação foi semelhante ao obtido pela inseminação tradicional com 3×10^9 espermatozóides viáveis/dose (Dallanora *et al.*, 2003; Mezalira *et al.*, 2003).

É importante também ressaltar que, a maioria dos trabalhos publicados com IAPC, foram realizados com estro induzido (Watson & Behan, 2002; Martinez *et al.*, 2001) e não com ovulação espontânea.

2.5. IA INTRA-UTERINA PROFUNDA

Considerando a necessidade de tornar o processo produtivo mais eficiente, a otimização do uso de reprodutores destinados a IA conduziria a uma redução ainda mais intensa na concentração de espermatozoides por dose inseminante, a partir da deposição do sêmen o mais próximo possível do local onde ocorre a fecundação (Pallas, 2004). Para que ocorra a fecundação, não é necessária a presença de um número elevado de espermatozoides viáveis na junção útero-tubária, pois, através da IA intra-uterina profunda (IAIUP), com deposição cirúrgica de doses com concentrações de 20×10^6 espermatozoides, foram obtidas taxas de prenhez satisfatórias (Rath, 2002). No entanto, a necessidade de realizar a deposição cirúrgica seria uma limitação desta técnica.

Recentemente, foi desenvolvida uma nova técnica não cirúrgica para a IAIUP, com deposição do sêmen no final de um dos cornos uterinos, cerca de 15 centímetros após a cérvix (Vazquez *et al.*, 2001). Nesta técnica, a pipeta de IA é introduzida normalmente, como no método tradicional, porém com um catéter fino e flexível no seu interior. Após a correta fixação da pipeta na cérvix, o catéter é introduzido profundamente e é realizada a infusão do sêmen. É possível a realização de IAIUP com doses de 150×10^6 espermatozoides com volumes de 7,5 mL, o que também levaria à redução de custos com diluentes (Roca *et al.*, 2003).

Existem relatos de que haveria dificuldades durante a inserção do catéter flexível através da cérvix e cornos uterinos de fêmeas nulíparas, em virtude destas apresentarem o canal cervical mais estreito, havendo, portanto, necessidade de

realizar uma maior pressão para introduzir o catéter (Martinez *et al.*, 2004). Nestas fêmeas, o principal obstáculo seria a fixação da pipeta convencional na parte externa da cérvix e ao passar os 2 últimos anéis cervicais, os quais freqüentemente parecem estar firmemente fechados. Porém, com uma delicada pressão no catéter, a cérvix pode ser dilatada na maioria das leitoas. Mesmo assim, o processo pode ser executado sem grandes dificuldades, pois o catéter flexível possui força de propulsão necessária para atravessar a cérvix e suficiente flexibilidade para percorrer todo o corno uterino. Contudo, há a necessidade de um mínimo período de treinamento para a implementação desta técnica em granjas comerciais, principalmente no que diz respeito à sensibilidade do inseminador com relação à introdução do catéter (Martinez *et al.*, 2004).

A técnica de IAIUP pode representar um avanço importante para assegurar o progresso na implantação de outras biotécnicas reprodutivas ainda não totalmente desenvolvidas na espécie suína. Em estudos com IAIUP com sêmen congelado e descongelado, usando doses com concentrações de 1×10^9 espermatozóides e volume de 7,5 ml (Roca *et al.*, 2003), foram obtidas taxas de parição de 70% e um tamanho total de leitegada de 9.2 leitões. Estes índices são promissores, em comparação com aqueles obtidos com sêmen congelado com deposição intra-cervical. Doses menores foram testadas com a IAIUP, com deposição de sêmen nos cornos uterinos (Vazquez *et al.*, 2001), com sêmen submetido a citometria de fluxo (Vazquez *et al.*, 2003), ou mesmo com o uso deste catéter para transferência não cirúrgica de embriões (Martinez *et al.*, 2004).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- BORTOLOZZO, F. P. Implicações da duração do estro e momento da ovulação na eficiência reprodutiva de suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. VI., 1993. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, p. 64-74. 1993.
- BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. Inseminação artificial em suínos no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 21, p. 13-15. 1997.
- BORTOLOZZO, F. P.; DALLANORA, D.; BERNARDI, M. L.; BENNEMANN, P. C.; WENTZ, I. Técnicas associadas à inseminação artificial que visam à redução do número de espermatozóides necessários por fêmea ao ano. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 27, n. 2., p. 133-137 2003.
- CORRÊA, M. N.; DESCHAMPS, J. C; LUCIA, T. Jr. *et al.* Relação entre intervalo desmame-cio, a duração do cio e tamanho de leitegada em porca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 22, p. 194-198, 1998.
- CORRÊA, M. N.; MEINCKE, W.; LUCIA, T.; DESCHAMPS, J. C. **Inseminação Artificial em Suínos**. Ed Printpar Gráfica e Editora Ltda. Curitiba – PR. 2001.
- CORRÊA, M. N. Avaliação *in vitro* e *in vivo* de sêmen suíno preservado a 5°C com diluente PIGPEL-5. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia-UFPEL, janeiro de 2002.

- DALLANORA, D.; MEZALIRA, A; KATZER, L. H. *et al.* Volume e número de espermatozóides no refluxo de fêmeas suínas após inseminação intrauterina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. XI 2003. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, p. 213-214. 2003.
- DALLANORA, D.; MEZALIRA, A; KATZER, L. H. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas com deposição intrauterina de sêmen e reduzido número de espermatozóides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. XI 2003. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, p. 215-216. 2003.
- DESCHAMPS, J. C.; CORRÊA, M. N.; LUCIA, T. Jr. Impacto da inseminação artificial em suínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 22, p 75-79 1998.
- DESCHAMPS, J. C., LUCIA, T. Jr., TALAMINI, D. J. D. A cadeia produtiva da suinocultura. In: LUCIA, T. Jr., CORRÊA, M. N., DESCHAMPS, J. C. **Tópicos em suinocultura**. Ed. Universitária/UFPEL. Pelotas-RS. p. 11-35. 2000.
- FNP/ABCS/ABIPECS/IBGE. Rebanho de matrizes suínas no Brasil - Efetivo por estado. <http://www.porkworld.com.br/usuario/GerenciaNavegacao.php?texto id=315>. Acessado em 12-02-2003.
- JOHNSON, L. A.; WEITZE, K. F.; FISER, P.; MAXWELL, W. M. C. Storage of boar semen. **Animal Reproduction Science**. v.62, p.143-172. 2000.
- LUCIA, T. Jr. Eficiência reprodutiva em fêmeas suínas. In: LUCIA, T. Jr.; CORRÊA, M. N.; DESCHAMPS, J. C. Ed. **Tópicos em suinocultura**. Ed. Universitária UFPEL. Pelotas-RS. p. 37-66. 2000.
- LUCIA, T. Jr.; CORRÊA, M. N.; DESCHAMPS, J. C. *et al.* Caracterização do perfil de cio em fêmeas suínas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. IX 1999. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos. p. 365-366. 1999a.
- LUCIA, T. Jr.; CORRÊA, M. N.; DESCHAMPS, J. C. *et al.* Influence of equine chorionic gonadotropin on weaning-to-estrus interval and estrus duration in early-weaned, primiparous by, female swine. **Journal of Animal Science**. v. 77. p. 3163-3167. 1999b.

- MARTINEZ, E. A.; VASQUEZ, J. M.; ROCA, J. *et al.* Deep intrauterine insemination and embryo transfer. In: VI Internacional Conference on Pig Reproduction. **Proceedings**. Columbia, MS: CPR, p. 129. 2001.
- MARTINEZ, E, A; CAAMAÑO, J, N; GIL, M, A; *et al.* Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs. **Theriogenology**. v. 61, p. 137-146, 2004.
- MATTHIJS A.; HAKZE, R.; POSTMA, A. *et al.* Leukocyte recruitment and phagocytosis of boar spermatozoa. In JOHNSON, L. A.; GUTHRIE, H. D. **Boar Semen Preservation IV**. [s.l.]: [s.n], p.35-41. 2000.
- MEZALIRA, A.; DALLANORA, D; SCHMIDT, A C.T. *et al.* Inseminação intrauterina com redução no volume e número de espermatozoides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. XI 2003. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, p. 219-220. 2003.
- NISSEN A. K.; SOEDE N. M.; HYTTEL, P. *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** v. 47, p. 1571-1582. 1997.
- PALLAS, R. *et al.* Espanha & Kubus, A, D, S.A. – Espanha. Impacto de nuevas tecnologias de Inseminación artificial em la gestión de um centro de inseminación artificial. <http://www.magaplust.com.br>. Resgatado em 30/ 09/04
- REIS, F.T. Colheita, avaliação e manipulação do ejaculado de suínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 21, p. 22-29, 1997.
- SOEDE, M. N.; WETZELS, C. C. H.; ZONDAG, W. *et al.* Effects of a second insemination after ovulation on fertilization rate and accessory sperm count in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 105, p. 135-40, 1995.
- VÁZQUEZ, J. M.; MARTINEZ, E. A.; PARRILLA, I. *et al.* Deep intrauterine insemination in natural post-weaning estrus sows. In: 6th International Conference on Pig Reproduction. **Proceedings...** University of Missouri-Columbia, p. 134. 2001.
- VÁZQUEZ, J. M.; MARTINEZ, E. A.; PARRILLA, I. *et al.* Birth of piglets alter deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. **Theriogenology**. v.59. p. 1605-1614. 2003.
- VIANA, C. H. C.; GAMA, R. D.; VIANNA, W. L. *et al.* Avaliação do desempenho da técnica de ultra-sonografia para o diagnóstico precoce de gestação, em fêmeas suínas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS

- EM SUÍNOS. X 2001. **Anais.** Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos p. 187-188, 2001.
- VISSCHER, P.; PON-WONG, R.; WHITTEMORE, C.; HALEY, C. Impact of biotechnology on (cross) breeding programmes in pigs. **Livestock Production Science.** v. 65, p. 57-70, 2000.
- ROCA, J; CARVAJAL, G; LUCAS, X. Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. **Theriogenology.** v. 60, p. 77-87, 2003.
- STEVERINK, D. W.; SOEDE, N. M.; BOUWMAN, E. G.; KEMP, B. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization results in sows. **Animal Reproduction Science.** v. 31, p. 109-119. 1998.
- WABERSKI, D., MEDING, S., DIRKSEN, G. *et al.* Fertility of long-term stored boar semen: Influence of extender (Androhep ad Kiev), storage time and plasma droplets in the semen. **Animal Reproduction Science.** v. 41. p. 145-151, 1994.
- WATSON, P. F.; BEHAN, J. R.; DECUADRO-HANSEN, G.; CASSOU, B. Deep insemination of sows with reduced sperm numbers does not compromise fertility: a commercially-based field trial. In 6th International Conference on Pig Reproduction. **Proceedings...** University of Missouri-Columbia, p. 135. 2001.
- 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.
- XUE, J. L.; DIAL, G. D.; TRIGG, T. *et al.* Influence of mating frequency on sow reproductive performance. **Journal of Animal Science.** v. 76., p. 2962-2966. 1998.

4. EFICIÊNCIA REPRODUTIVA COM INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL INTRA-CERVICAL E PÓS- CERVICAL, EM FÊMEAS SUÍNAS, ASSOCIADA À CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA E PERFIL ESTRAL

Carolina G. Serret., Thomaz Lucia Jr., Marcus Vinicius F. Alvarenga, André Luiz P. Cória., Ivan Bianchi., Marcio N. Corrêa, João Carlos Deschamps.

PIGPEL
Centro de Biotecnologia
Universidade Federal de Pelotas
Campus Universitário
96010-900 – Pelotas-RS
Correspondência: carolgos@ufpel.tche.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar o desempenho reprodutivo subsequente de fêmeas suínas submetidas à IAIC com concentração espermática de $3,5 \times 10^9$ espermatozoides/dose e a IAPC com 3 diferentes concentrações (2, 1, e $0,5 \times 10^9$ espermatozoides/dose). O estudo foi conduzido em uma granja comercial de suínos, incluindo 338 fêmeas F1, sendo que 232 fêmeas foram inseminadas de acordo com o perfil estral da granja (a primeira dose executada 12 h após a detecção de cio e as doses subsequentes em intervalos de 12 h) e 106 foram inseminadas imediatamente após a ocorrência da ovulação, confirmada por ultrassonografia em tempo real. Taxas de concepção e parição (TPAR) para a IAIC (98,9% e 97,9%, respectivamente), foram maiores ($P < 0,001$) que às observadas para a IAPC (87,1% e 84,3%, respectivamente). Tanto para a taxa de concepção como para a TPAR, os índices observados para o T8 foram numericamente inferiores aos demais tratamentos, porém sem diferença significativa ($P > 0,05$). O total de leitões nascidos por parto não diferiu entre os tratamentos ($P = 0,09$). Embora a TPAR não tenha diferido ($P = 0,40$) de acordo com a ordem de parto (OP), foi observado efeito da OP sobre o tamanho de leitegada, pois a média observada para fêmeas primíparas ($9,1 \pm 0,4$) foi inferior ($P = 0,0004$) às obtidas

para fêmeas com 2 e 3 partos ($11,5 \pm 0,5$ e $11,5 \pm 0,2$, respectivamente). Foi observada interação significativa entre tratamento e OP afetando o tamanho de leitegada, pois o total de nascidos por partos nos tratamentos com IAPC, em geral, foi inferior ($P < 0,05$) em fêmeas primíparas do que nas demais combinações de OP e tratamentos. Portanto, a IAPC apresentou desempenho reprodutivo similar a IAIC com doses de até 1×10^9 espermatozóides.

Palavras-chave: suínos, inseminação artificial intra-cervical, inseminação artificial pós-cervical.

ABSTRACT

The objective of this study was to compare the subsequent reproductive performance of swine breeding females submitted to either intra-cervical artificial insemination (ICAI) with sperm concentrations of 3.5×10^9 spermatozoa per dose or post-cervical artificial insemination (PCAI) with 2, 1, or 0.5×10^9 spermatozoa per dose. The study was conducted in a commercial farm including 338 F1 females. Among them, 232 were first inseminated 12 h after estrus detection, receiving the subsequent doses after 12 h intervals, whereas 106 were inseminated right after ovulation diagnosis through real-time ultrasound. Conception and farrowing (FR) rates for ICAI (98.9% e 97.9%, respectively) did not differ ($P < 0,001$) from those observed for PCAI (87.1% e 84.3%, respectively). Total litter size did not differ across treatments ($P = 0.09$). Although TP did not differ ($P = 0,40$) for different parities, total litter size for primiparous females (9.1 ± 0.4) was lower ($P = 0,0004$) than for parity-2 and -3 females (11.5 ± 0.5 e 11.5 ± 0.2 , respectively). There was a significant effect of an interaction between treatment and parity on total litter size ($P < 0.05$), generally characterized by the occurrence of lower litter sizes for PCAI in primiparous females than for other treatment by parity combinations. In conclusion, reproductive performance for PCAI and ICAI were similar with sperm concentrations up to 1×10^9 spermatozoa per dose.

Key words: female swine, intra-cervical artificial insemination, post-cervical artificial insemination.

OBJETIVO DA TESE

O objetivo desta dissertação foi estudar a técnica de inseminação artificial pós-cervical em suínos, com reduzidas concentrações espermáticas (2; 1 e $0,5 \times 10^9$ espermatozóides por dose), comparando indicadores de eficiência reprodutiva (taxa de parição e tamanho de leitegada), com as obtidas com inseminação artificial intra-cervical com dose inseminante de $3,5 \times 10^9$ espermatozóides por dose, considerando também estratégias de acasalamento baseadas no perfil estral adotado pela granja e na determinação do momento da ovulação através de ultra-sonografia em tempo real.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo das doses inseminantes

O trabalho foi realizado em uma granja comercial com plantel de 1.700 matrizes, situada no município de Lucas do Rio Verde (MT) durante 6 semanas. As doses inseminantes utilizadas no experimento foram fornecidas por 8 machos suínos, com idade média de 2 anos, que estavam alocados em uma central de IA com plantel de 75 machos, localizada a 5 Km da granja. Todos os machos eram da raça Duroc, tendo sido distribuídos em 2 grupos de quatro machos, formando dois diferentes *pools* de sêmen. O *pool* 1 foi formado pelos machos DC 2551, DC 3573, DC 2609 e DC 3170, enquanto o *pool* 2 foi formado pelos machos DC 3154, DC 3506, DC 3409 e DC 2658.

A coleta do sêmen era realizada através do método da mão enluvada (Hancock & Hovell, 1959), por um funcionário treinado da central de IA. Após a coleta, os ejaculados eram submetidos aos métodos convencionais de avaliação de qualidade seminal, com avaliação de motilidade (percentual de células vivas com movimentos progressivos) e vigor (força do movimento dos espermatozóides) (Corrêa *et al.*, 2001). As amostras eram diluídas 1:1 BTS (Pursel & Johnson, 1975), sendo novamente avaliadas, antes de serem misturadas para a formação dos *pools*. Nesta etapa era mantido rigoroso controle de temperatura (34-35°C)

em todos os ejaculados para evitar choque térmico. Posteriormente, as amostras foram submetidas a exame de morfologia espermática, tendo sido também determinada a concentração de células espermáticas presente em cada um dos ejaculados, através de contagem em câmara de espectrofotômetro.

Cada pool de sêmen foi fracionado em 4 doses, cada uma com distintas concentrações de células: 3,5; 2,0; 1,0 e 0,5 10^9 espermatozoides. Todas as doses foram diluídas em BTS (Pursel & Johnson, 1975), tendo sido preparadas de acordo com a rotina de processamento de sêmen da central de IA que abastece a granja. Todas as doses inseminantes apresentavam, no mínimo, de 80% de motilidade e vigor 4 e, no máximo, 20% de anormalidades espermáticas (Corrêa *et al.*, 2001). As doses inseminantes eram envasadas em frascos de 100 mL, porém para a IAPC era medido em uma proveta 50 de mL e marcado o frasco, após o ênvase das doses era retirado o ar do frasco. Estas doses eram imediatamente transportadas para a granja, sendo armazenadas a 15 °C, para utilização em, no máximo, 48 h.

Alocação dos tratamentos

Foram utilizadas 338 fêmeas suínas F1, de ordens de parto (OP) 1-8. A alocação das fêmeas nos diferentes tratamentos foi realizada no momento do desmame, levando em consideração a OP, para assegurar que um número semelhante de fêmeas da mesma OP fosse distribuído entre os tratamentos.

Após, as fêmeas eram transferidas para o galpão de pré-cobertura e alojadas em gaiolas individuais. Em metade das fêmeas de cada grupo, foi aferido

o perfil estral (Lucia *et al.*, 1999). A observação do estro foi realizada desde o momento do desmame, em intervalos de 12 h, por técnicos treinados, em 2 turnos diários (7:30 e 16:00 h). O início do estro foi determinado pela observação do primeiro reflexo de tolerância ao homem na presença do macho (RTHM) (Weitze *et al.*, 1994). O final do estro foi caracterizado pelo primeiro RTHM negativo, após o início do estro. Quatro machos sexualmente maduros eram utilizados alternadamente na detecção do estro. O intervalo desmame-estro (IDE) foi caracterizado como o intervalo em horas entre o desmame e o início do estro, enquanto que a duração do estro (DE) foi caracterizada como o intervalo entre o início e o final do estro. Fêmeas que apresentaram estro no momento do desmame ou que não apresentaram estro em até 10 dias pós-desmame não foram incluídas no estudo.

Nas fêmeas que compunham a outra metade do grupo semanal de desmame, foi realizada a determinação do momento da ovulação (MOV) através da ultra-sonografia em tempo real, desde o momento do desmame, em intervalos de 8 h, por um técnico treinado, em 2 turnos diários (8:30 e 16:30 h). Foi usada a técnica trans-cutânea, com transdutor convexo de 5,0 MHz (Anser Vet 485, Pie Medical®). As fêmeas foram examinadas em estação, com o transdutor posicionado no flanco direito, aproximadamente no ponto médio entre a articulação femuro-tíbio-patelar e a última costela, 10 cm acima do úbere, pois no flanco esquerdo, a posição do cólon frequentemente bloqueia a visualização do ovário. Como ponto de referência para a localização do ovário considerou-se a bexiga, na posição caudal, e as alças intestinais, na posição cranial (Soede & Kemp, 1993). O MOV foi caracterizado quando, no exame dos ovários, não foram

encontrados folículos pré-ovulatórios, ou quando o número de folículos era menor do que o encontrado no exame anterior. O diagnóstico tinha que ser confirmado em um novo exame, no próximo turno, a fim de evitar diagnósticos falso-positivos (Soede & Kemp, 1993).

Tanto no grupo de fêmeas submetido ao perfil estral, como no grupo de fêmeas submetido à avaliação por ultra-som, foram aplicados tratamentos com IAIC e IAPC. Os tratamentos com IAPC incluíam doses com concentrações de 2, 1 e $0,5 \times 10^9$ espermatozóides e volume de 50 mL, segundo descrição de Watson & Behan (2002), enquanto os tratamentos com IAIC incluíam doses com $3,5 \times 10^9$ espermatozóides e volume de 100 mL. A estrutura dos tratamentos está demonstrada na Tabela 1.

No grupo de fêmeas submetido ao perfil estral, foram realizadas 3 IA durante o período de estro, em intervalos de 12 h (12, 24 e 36 h após o início do estro). No grupo submetido à avaliação por ultra-som, a primeira IA foi realizada imediatamente após a observação de folículos pré-ovulatórios (>7 mm) no exame ultra-sonográfico, com as demais IA sendo realizadas em intervalos de 12 h, se a fêmea permanecesse em estro. Nenhuma fêmea, em nenhum dos grupos, recebeu mais do que 3 IA. No momento da IA, foram registrados todos os casos de ocorrência de refluxo da dose inseminante ou sangramento durante o procedimento.

As IAIC foram conduzidas com pipetas convencionais do tipo Melrose. Porém, nas IAPC foram utilizados dois tipos diferentes de pipetas (Magaplast e Fada).

As fêmeas de T1 a T4, logo após o diagnóstico do estro, eram transferidas para o galpão de gestação, onde aguardavam por 12 h após o início do estro, para receberem as doses inseminantes de acordo com os tratamentos e as diferentes pipetas nas respectivas IA. Já as fêmeas de T5 a T8 que entravam em estro permaneciam no galpão de pré-cobertura, onde eram submetidas ao exame ultra-sonográfico.

Tabela 1: Delineamento experimental*

Tratamento	Método de IA	Concentração espermática	Protocolo de IA
T1	IAIC	$3,5 \times 10^9$	Perfil estral
T2	IAPC	$2,0 \times 10^9$	Perfil estral
T3	IAPC	$1,0 \times 10^9$	Perfil estral
T4	IAPC	$0,5 \times 10^9$	Perfil estral
T5	IAIC	$3,5 \times 10^9$	Ultra-som
T6	IAPC	$2,0 \times 10^9$	Ultra-som
T7	IAPC	$1,0 \times 10^9$	Ultra-som
T8	IAPC	$0,5 \times 10^9$	Ultra-som

*IAIC: Inseminação artificial intra-cervical; IAPC: Inseminação artificial pós-cervical

O diagnóstico de gestação foi realizado através do exame ultra-sonográfico, com posicionamento do transdutor no flanco direito da fêmea, entre os dias 21 a 28 pós-IA. O diagnóstico positivo foi caracterizado pela visualização de estruturas circulares não ecogênicas (vesículas embrionárias), com 10 a 20 mm de diâmetro, envolvidas por uma estrutura ecogênica que representa a parede do útero. Os embriões seriam visualizados como estruturas ecogênicas dentro das vesículas embrionárias (Viana *et al.*, 2001). A partir deste diagnóstico de gestação foi determinada a taxa de concepção (TCON), definida como o percentual de fêmeas inseminadas que não retornaram ao estro até este período, enquanto a taxa de parição (TPAR) foi definida como o percentual de fêmeas inseminadas que vieram

a parir (Wilson *et al.*, 1986). O número total de leitões nascidos foi extraído posteriormente dos registros de desempenho da granja.

Análise estatística

Foram calculadas as taxas de concepção (TCON) e parição (TPAR). Também foram estimadas as médias para idade ao desmame, número total de leitões nascidos por parto, número de doses inseminantes, OP, IDE e DE.

A TCON e a TPAR foram comparadas entre tratamentos pelo teste de qui-quadrado. As associações das TPAR com métodos de IA (IAIC e IAPC), protocolos de IA (perfil estral ou ultra-som), tipo de pipeta, ocorrência de refluxo e sangramento também foram inicialmente comparadas entre tratamentos pelo teste de qui-quadrado. A associação entre TPAR e tratamentos foi avaliada através de regressão logística, com determinação do risco associado à não ocorrência de parição em um determinado tratamento através da razão de chance (OR), com significância estatística determinada por intervalos de confiança ao nível de 95% de significância e testes de qui-quadrado. Foi utilizado como nível de referência o T5, devido este ser o tratamento de maior concentração e a utilização da ultrasonografia, método este mais preciso para protocolos de IA.

A avaliação das associações entre o total de leitões nascidos por parto e os tratamentos e as demais variáveis independentes mencionadas acima foi realizada por análise de variância (ANOVA), com comparações entre médias foram efetuadas pelo método LSD (*least significant difference*). Contrastes ortogonais foram utilizados para detectar diferenças quanto ao total de nascidos

por parto em função do efeito isolado do método de IA, protocolos de IA e de cada concentração espermática usada na IAPC contra as demais concentrações. A significância dos efeitos dos contrastes foi determinada pelo teste de Scheffe. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o *software* Statistix® (2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o trabalho, foram inseminadas 338 fêmeas, com OP média de $3,5 \pm 1,7$ e duração média da lactação igual a $20,3 \pm 2,0$ dias. O IDE médio foi igual a $103,5 \pm 30,4$ h, enquanto que a duração média do estro foi igual a $57,1 \pm 13,3$ h. Dentre estas fêmeas, 18% eram primíparas, 15,4% eram de segundo parto e 66,6% tinham 3 ou mais partos. Foram utilizadas 139 doses de sêmen do *pool* 1 e 132 doses do *pool* 2. A distribuição das doses quanto à concentração foi de 28,4% para 3,5 bilhões, 25,4% para 2,0 bilhões, 22,8% para 1 bilhão e 23,4% para 0,5 bilhão. Quanto ao método utilizado de IA, 28,4% das fêmeas receberam IAIC e 71,6% IAPC. Com relação ao número de doses, 1,8% receberam 1 dose, 27,8% receberam 2 doses e 70,4% receberam 3 doses de IA.

A distribuição das fêmeas inseminadas em cada tratamento é mostrada na Tabela 2. Dentre as fêmeas inseminadas, foi observada uma TCON igual a 91,5%, enquanto que a TPAR foi igual a 88,2%. Estes índices são considerados dentro dos padrões, já que se preconiza uma TPAR em torno de 85% (Lucia *et al.*, 1999). A TCON e a TPAR para as fêmeas que receberam IAIC (98,9% e 97,9%, respectivamente) foram maiores ($P < 0,001$) do que as observadas para a IAPC (87,1% e 84,3%, respectivamente). Tanto para a TCON, como para a TPAR, os

índices observados para o T8 foram numericamente inferiores aos demais tratamentos, porém sem diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2). Em função da similaridade entre a TCON e a TPAR, apenas a TPAR foi considerada nas análises posteriores.

Tabela 2: Distribuição das fêmeas, taxas de concepção e parição e total de leitões nascidos em função dos tratamentos.

Tratamento	Fêmeas inseminadas (%)	Taxa de concepção (%)	Taxa de parição (%)	Total de nascidos/parto
T1	68 (20,1)	100,0	98,5	11,2
T2	59 (17,5)	84,5	83,1	10,1
T3	54 (16,0)	90,2	87,0	9,7
T4	61 (15,1)	89,8	86,3	10,7
T5	28 (8,3)	96,4	96,4	12,2
T6	27 (8,0)	92,3	88,9	9,9
T7	23 (6,8)	90,9	87,0	12,3
T8	28 (8,3)	74,1	71,4	9,5

*Frequências e médias não diferiram entre tratamentos ($P > 0,05$)

A análise da TPAR em função dos tratamentos, através de regressão logística (Tabela 3) indica que a chance de uma fêmea no T8 parir, após ter sido submetida à IAPC com $0,5 \times 10^9$ espermatozóides, a partir da determinação da ovulação por ultra-sonografia, é inferior á chance de uma fêmea do T5 parir ($P = 0,03$). No entanto, diferenças entre os demais tratamentos e T5 não foram observadas ($P > 0,05$). Estes resultados concordam parcialmente com trabalhos que relatam taxas de prenhez semelhantes com concentrações de 3, 2 e 1×10^9 espermatozóides, porém sem avaliar concentrações de $0,5 \times 10^9$ espermatozóides (Watson & Behan, 2002; Bennemann *et al.*, 2004). No entanto, Mezalira *et al.* (2003) descrevem que as taxas de prenhez obtidas com 1; 0,5 e $0,25 \times 10^9$ espermatozóides não diferiram, o que contradiz os resultados deste trabalho. É

importante ressaltar que no T8, as IA foram determinadas a partir da determinação do MOV por ultra-sonografia e 29,6% das fêmeas receberam somente 1 ou 2 inseminações por cio, o que pode ter aumentado a probabilidade de falha de concepção, em especial por este ser o tratamento com a menor concentração espermática. Esta hipótese é fortalecida pelo fato de que a TCON e a TPAR obtidas no T4, com fêmeas inseminadas de acordo com o perfil estral com a mesma concentração espermática, foram mais elevadas. Neste grupo, 96,1% das fêmeas receberam 3 doses inseminantes durante o estro.

Tabela 3: Regressão logística para taxa de parição em função dos tratamentos (T5 considerado como nível de referência)

Tratamentos	OR	IC 95%	P
T1	2,48	0,15-39,89	0,5218
T2	0,18	0,02-1,49	0,1125
T3	0,25	0,03-2,13	0,2040
T4	0,23	0,03-2,00	0,1836
T5	-	-	-
T6	0,30	0,03-3,04	0,3058
T7	0,25	0,02-2,55	0,2404
T8	0,09	0,01-0,80	0,0306

*Constante: 3,2958; GL do modelo: 330

A média para o número total de leitões nascidos por parto foi a $11,1 \pm 3,5$. As médias de tamanho total de leitegada (Tabela 2) não diferiram entre os tratamentos ($P = 0,09$). Estes resultados estão de acordo com relatos que compararam as duas técnicas usando concentrações de 3, 2 e 1×10^9 espermatozoides (Watson & Behan, 2002), ou que compararam concentrações de 3, 1,5 e 1×10^9 espermatozoides (Williams, 2003). No entanto, nenhum destes trabalhos comparou concentrações de $0,5 \times 10^9$ espermatozoides. Os resultados

de Bennemann *et al.* (2003), usando o número de embriões obtidos do útero de fêmeas abatidas como indicador de prolificidade, relatam ausência de diferença com concentrações de 2 e 1×10^9 espermatozóides. Em outro trabalho, também não se observou diferença no número de embriões viáveis com concentrações de 1 e $0,5 \times 10^9$ espermatozóides, porém, houve decréscimo na prolificidade com concentrações de $0,25 \times 10^9$ espermatozóides (Mezalira *et al.*, 2003).

Mesmo não havendo diferença entre os tratamentos usados com a IAIC e IAPC, pode-se observar diferenças numéricas relevantes entre os tratamentos. O número de leitões nascidos no T7 (12,3) foi numericamente superior a todos os demais tratamentos, com uma diferença de 2,8 leitões a mais em relação ao T8, mas praticamente igual ao T5, o que pode justificar a utilização de doses inseminantes de 1×10^9 com IAPC após diagnóstico de ovulação por ultra-sonografia.

Para as fêmeas com 1, 2 ou 3 ou mais partos, a TPAR foi igual a 90,2%, 82,7% e 88,9% respectivamente, não havendo diferença significativa entre as OP ($P = 0,40$). No entanto, o total de leitões nascidos foi influenciado pela ordem de parto das matrizes, pois a média observada para fêmeas primíparas ($9,1 \pm 0,4$), foi inferior ($P = 0,0004$) às médias obtidas para fêmeas com 2 e 3 partos ($11,5 \pm 0,5$ e $11,5 \pm 0,2$, respectivamente). Também foi identificada uma interação significativa entre os efeitos dos tratamentos e da ordem de parto (Tabela 4), indicando que efeitos entre tratamentos foram evidentes nas fêmeas primíparas, que apresentaram desempenho inferior com IAPC, nos tratamentos onde foi realizado perfil estral e no T8, indicando que o desempenho de fêmeas primíparas na IAPC com concentrações de 2 e 1×10^9 espermatozóides foi beneficiado pelo uso de

ultra-sonografia para o diagnóstico de ovulação, possivelmente em função destas fêmeas apresentarem um padrão estral irregular. O menor tamanho de leitegada atingido pelas fêmeas primíparas também pode ser consequência destas apresentarem um canal cervical mais estreito quando comparado com as pluríparas, o que dificultaria a execução da técnica, principalmente quando estas fêmeas receberam doses com concentrações espermáticas muito reduzidas, como foi o caso do T8. Por outro lado, com exceção do T6, fêmeas com OP igual a obtiveram menor tamanho de leitegada, o que pode ser considerado inesperado.

Tabela 4: Tamanho total de leitegada em função da interação entre tratamentos e ordem de parto.

Tratamento	Ordem de parto		
	1	2	3 ou mais
T1	10,8 ± 0,8 (17) ^a	12,2 ± 1,1 (8) ^a	10,7 ± 0,5 (39) ^a
T2	7,5 ± 1,1 (8) ^b	10,3 ± 1,2 (7) ^{ab}	12,5 ± 0,5 (33) ^a
T3	6,0 ± 1,9 (3) ^b	12,4 ± 1,0 (10) ^a	10,8 ± 0,5 (33) ^a
T4	7,5 ± 1,3 (6) ^b	13,0 ± 1,9 (3) ^a	11,7 ± 0,5 (33) ^a
T5	12,2 ± 1,3 (6) ^a	12,7 ± 1,9 (3) ^a	11,9 ± 0,8 (17) ^a
T6	10,3 ± 1,9 (3) ^{ab}	7,3 ± 1,9 (3) ^b	12,2 ± 0,8 (14) ^a
T7	11,7 ± 1,9 (3) ^a	13,5 ± 2,3 (2) ^a	12,0 ± 0,9 (13) ^a
T8	7,2 ± 1,4 (5) ^b	11,2 ± 1,4 (5) ^a	10,3 ± 1,2 (7) ^{ab}

* Média ± EPM (n)

a, b Letras distintas diferem por pelo menos $P > 0,05$.

A avaliação através de contrastes ortogonais não identificou efeito significativo do método de IA sobre o tamanho total da leitegada ($P = 0,32$). Para as fêmeas que receberam IAIC o tamanho total da leitegada foi igual a 11,2, enquanto que com IAPC o total de leitões foi igual a 11,1. Portanto, quando comparadas

independentemente dos demais fatores, a IAPC e a IAIC produziram resultados semelhantes quanto ao tamanho de leitegada, mas os demais resultados indicam que o desempenho com IAPC é inferior com doses de 0,5 bilhão de espermatozóides.

Nas fêmeas inseminadas a partir do perfil estral, a TPAR foi igual a 89,2%, enquanto que nas fêmeas inseminadas a partir da detecção do MOV por ultrasonografia, a TPAR foi de 85,8%. Também não foram observadas diferenças no tamanho total da leitegada ($P = 0,97$), entre as fêmeas que foram inseminadas a partir do perfil estral ou da determinação do MOV por ultra-som (11,0 e 11,4, respectivamente).

Nas fêmeas submetidas a IAPC, as TPAR obtidas com as pipetas P1 e P2 (86,0 e 83,7) não diferiram ($P > 0,05$). Nas fêmeas submetidas à IAPC, não houve diferença ($P > 0,05$) no total de leitões nascidos por parto em função da IA com P1 e P2 (11,2, em ambos os casos). Portanto, o tipo de pipeta utilizado na IAPC não influenciou o resultado deste procedimento.

Foi observada a ocorrência de refluxo em 69 doses (20,7%). A TPAR para as fêmeas que apresentaram refluxo na IA (85,5%) e para aquelas que não apresentaram refluxo (88,7%) não diferiram ($P = 0,19$). O total de nascidos observados nas fêmeas que apresentaram IA com refluxo ($10,9 \pm 0,5$) não diferiu ($P > 0,05$) daquele observado em fêmeas com IA sem refluxo ($11,2 \pm 0,2$). Segundo Dallanora *et al.* (2003) também não houve diferença na TPAR com relação à proporção de espermatozóides refluídos nas doses de 1×10^9 e de 250

$\times 10^6$ espermatozoides, porém a quantidade de sêmen que permaneceu no trato reprodutivo da fêmea foi 4 vezes maior na primeira dose.

Foi observada presença de sangramento em 22 fêmeas (6.6%). Nas fêmeas que apresentaram sangramento, somente duas eram primíparas. As fêmeas que apresentaram sangramento durante a IA apresentaram TPAR de 81,8% e $11,2 \pm 0,9$ leitões nascidos por parto. As fêmeas que não apresentaram sangramento apresentaram TPAR de 88,5% e $11,1 \pm 0,2$ leitões nascidos por parto. Watson & Behan (2002), ao avaliarem a resistência da introdução do catéter na cérvix, bem como a presença de sangramentos no trato reprodutivo das fêmeas, observaram que a presença de lesões no trato reprodutivo aumentaria a chance de reabsorção embrionária, diminuindo, portanto as TPAR e o tamanho da leitegada.

Portanto, o aperfeiçoamento da técnica IAPC e sua validação a campo, são de extrema importância, já que a maioria dos trabalhos publicados até o momento sobre este assunto foram realizados em granjas experimentais e com ovulação induzida. Isto permitiria a expansão dos benefícios econômicos que a redução do número de espermatozoides e do volume do diluente utilizado podem trazer, permitindo também a otimização do aproveitamento de animais geneticamente superiores dentro da cadeia produtiva da suinocultura.

CONCLUSÕES GERAIS

A IAPC apresenta resultados semelhantes aos obtidos com IAIC com concentrações de até 1×10^9 espermatozóides com a utilização da ultrasonografia. Portanto, podem ser obtidos índices satisfatórios de desempenho reprodutivo com concentração correspondente a 1/3 das doses convencionais, sem ocorrência de perdas por refluxo ou lesões no sistema genital. Fêmeas primíparas apresentaram desempenho reprodutivo inferior com IAPC, especialmente quando inseminadas após detecção convencional de estro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENNEMANN, P. E.; MILBRADT, E.; DIEHL, G. N. *et al.* Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. **Animal Reproduction**. v.1, p. 106-110. 2004.
- BORTOLOZZO, F.P.; DALLANORA, D.; BERNARDI, M.L. *et al.* Técnicas associadas à inseminação artificial que visam a redução do número de espermatozóides necessários por fêmea ao ano. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 27, p. 133-137 2003.
- CORRÊA, M.N.; MEINCKE, W.; LUCIA, T.; DESCHAMPS, J.C. **Inseminação Artificial em Suínos** Ed PrintPar Gráfica e Editora Ltda. Curitiba – PR. 2001.
- COLENBRANDER, B.; KEMP, B. Factors influencing semen quality in pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 40 (Supp.), p. 105-115, 1990.
- COLENBRANDER, B.; FEITSMA, H.; GROOTEN, H. J. Optimizing semen production for artificial insemination in swine. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 48 (Supl.), p. 207-215, 1993.
- DALLANORA, D.; MEZALIRA, A; KATZER, L. H. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas com deposição intrauterina de sêmen e reduzido número de espermatozóides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. XI 2003. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos, p. 215-216. 2003.
- DESCHAMPS, J. C., LUCIA, T. Jr., TALAMINI, D. J. D. A cadeia produtiva da suinocultura. In: LUCIA, T. Jr., CORRÊA, M. N., DESCHAMPS, J. C. **Tópicos em suinocultura**. Ed. Universitária/UFPEL. Pelotas-RS. p. 11-35. 2000.
- DESCHAMPS, J. C.; CORRÊA, M. N.; LUCIA, T. Jr. Impacto da Inseminação Artificial em Suínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 22, p 75-79. 1998.

- HANCOCK, J. L.; HOVELL, G. J. R. The collection of boar semen. **Veterinary Research**. v. 71, p. 664-665. 1959.
- LUCIA, T. Jr.; CORRÊA, M. N.; DESCHAMPS, J. C. *et al.* Influence of equine chorionic gonadotropin on weaning-to-estrus interval and estrus duration in early-weaned, primiparous, female swine. **Journal of Animal Science**. v. 77, p. 3163-3167. 1999b.
- LUCIA, T. Jr. Eficiência reprodutiva em fêmeas suínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 23, p 21-33, 1999.
- MEZALIRA, A.; DALLANORA, D.; SCHMIDT, A C.T. *et al.* Inseminação intrauterina com redução no volume e número de espermatozóides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. XI 2003. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos p. 219-220. 2003.
- NISSEN A. K.; SOEDE N. M.; HYTTEL, P. *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** v. 47, p. 1571-1582. 1997.
- PURSEL, V. G., JOHNSON, L. A. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. **Journal of Animal Science**. v. 40, p. 99-102. 1975.
- SOEDE, M. N.; KEMP, B. In synchronized pigs, the duration of ovulation is not affected by insemination and is not a determinant for early embryonic diversity. **Theriogenology**, v. 39, p. 1043-53, 1993.
- SOEDE, N. M.; WETZELS, C. C. H.; KEMP, B. Optimal interval between insemination and ovulation in sows, as judged by fertilization rate and accessory sperm count of day 5 embryos. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 31, p. 295-296. 1996.
- STATISTIX®. Statistix® 8 analytical software. User's manual. Tallahassee, FL. 396 p. 2003.
- VIANA, C. H. C.; GAMA, R. D.; VIANNA, W. L. *et al.* Avaliação do desempenho da técnica de ultra-sonografia para o diagnóstico precoce de gestação, em fêmeas suínas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. X 2001. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos. p. 187-188, 2001.
- 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.

- WATSON, P. F.; BEHAN, J. R.; DECUADRO-HANSEN, G.; CASSOU, B. Deep insemination of sows with reduced sperm numbers does not compromise fertility: a commercially-based field trial. In 6th International Conference on Pig Reproduction. **Proceedings...** University of Missouri-Columbia, p. 135. 2001.
- WEITZE, K. F.; WAGNER-RIETSCHER, H.; WABERSKI, D. *et al.* The onset of heat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in AI timing in sows. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 29, p. 433-443. 1994.
- WENTZ, I.; MARTINI, R.L.; BORTOLOZZO, F.P. *et al.* Avaliação da duração do estro e momento da ovulação em leitoas com o auxílio da ultrassonografia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. VIII 1997. **Anais**. Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em Suínos. p. 331. 1997.
- WILSON, M. R.; FRIENDSHIP, R. M.; MCMILLAN, I. *et al.* A survey of productivity and its component interrelationship in Canadian swine herds. **Journal of Animal Science**. V.62.p. 576-582.1986.
- WILLIAMS, S. Nova Técnica de Inseminação Transcervical em Suínos. Suínos & Cia, ano I, v. 4. p. 20-23. 2003.