

PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE MATRIZES SUÍNAS INSEMINADAS COM SÊMEN DILUÍDO EM ÁGUA DE COCO APÓS MONITORAMENTO ULTRA-SONOGRÁFICO TRANSCUTÂNEO¹

EDNA KOTZIAS-BANDEIRA², JOÃO PAULO DA SILVA³, MÔNICA ANDRÉA CAVALCANTE DE LIMA³,
ALBERTO NEVES COSTA⁴ E PIERRE CASTRO SOARES⁵

1. Parte do Projeto de Desenvolvimento Regional – CNPq/DAAD.
2. Médica Veterinária, PhD, Bolsista Recém-Doutora.
3. Discentes do Curso de Medicina Veterinária da UFRPE.
4. Professor Adjunto PhD do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.
5. Professor Assistente MSc do DMV – UFRPE.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito de diluidores de sêmen (MERK III, BTS e água de coco acrescida de citrato de sódio a 5%) sobre parâmetros reprodutivos de matrizes suínas, utilizou-se sêmen diluído nas concentrações de 4×10^9 e 8×10^9 espermatozoides/100ml na inseminação artificial de 173 fêmeas púberes e 184 adultas, com prévio monitoramento ultra-sonográfico do estro e ovulação. O diagnóstico de gestação também foi realizado por ultra-sonografia

transcutânea. Os dados revelaram altas percentagens (89,5% a 95,6%) de prenhes das matrizes suínas púberes e adultas, sem variação significativa entre os tipos de diluidores utilizados. Sugere-se, portanto, que a água de coco *in natura* pode ser utilizada na diluição de sêmen suíno, significando uma alternativa de baixo custo, e que monitoramento ultra-sonográfico transcutâneo constitui um método auxiliar no diagnóstico de estro, ovulação e prenhez.

PALAVRAS-CHAVE: Suíno, sêmen, água de coco, MERK III, BTS, ultra-sonografia.

SUMMARY

REPRODUCTIVE PARAMETERES OF SOWS INSEMINATED WITH SEMEN DILUTED IN COCONUT WATER AFTER TRANSCUTANEOUS SONOGRAPHY MONITORIZATION

Aiming to evaluate the effect of extenders (MERK III, BTS and coconut water, plus 5% sodium citrate) on reproductive parameters of sows, the semen were diluted in 4×10^9 and 8×10^9 spermatozoa/100ml on insemination of 173 young and 184 adult sows, with prior transcutaneous sonography monitorization of estrus and ovulation. The transcutaneous sonography detection of pregnancy in

sows was also developed. The data showed high frequencies (89.5 to 95.6) of pregnancy in young and adult sows, without difference among the types of extenders. Thus, it was suggested the use of coconut extender as a cheaper method to dilute semen to artificial insemination, and transcutaneous sonography as a reliable diagnostic method of estrus, ovulation and pregnancy of sows.

KEY WORDS: Sows, semen, coconut water, MERK III, BTS, ultrasonography.

INTRODUÇÃO

O potencial biológico da espécie suína tem sido muito bem aproveitado com a utilização das

biotécnicas da reprodução, e a inseminação artificial (IA) tem permitido alcançar altos índices reprodutivos e produtivos, com melhoria na qualidade genética, redução do custo de produção, além

de contribuir positivamente com o manejo sanitário do rebanho.

A marcante expansão da IA vem sendo direcionada por diversos fatores. O principal seria a possibilidade de disseminação acelerada de material genético, maximizando o melhoramento de determinada característica, de relevância econômica, com conseqüente padronização rápida do rebanho (DESCHAMPS et al., 1998; FLOWERS, 1992).

Na IA vários são os diluidores comerciais existentes, porém o Merk e o Beltsville (BTS) são os mais comumente utilizados, com sêmen resfriado de varrões (REIS, 1997).

Pesquisas estão sendo desenvolvidas em busca de diluidores alternativos, destacando-se a água de coco, que, na qualidade de reserva natural de aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e fatores de crescimento (NUNES & COMBARNOUS, 1995), mostrou-se viável como protetor das células espermáticas de suínos (TONIOLLI & MESQUITA, 1990).

A água de coco como diluidor de sêmen tem sido utilizada com frequência em granjas suínolas da Região Nordeste do Brasil (TONIOLLI et al., 1998) e mostram efeitos benéficos, evidenciados *in vitro* sobre as características de motilidade espermática, e *in vivo* sobre os parâmetros de fertilidade (TONIOLLI et al., 1997).

Para obtenção de índices de fertilidade adequados, tendo em vista o momento ideal de inseminação (TONIOLLI & MESQUITA, 1990), deve-se ter bom conhecimento sobre diluidores, concentração espermática do sêmen diluído, além das técnicas de IA e diagnósticos de cio e gestação (ALMOND & DIAL, 1987; REIS, 1997).

A identificação do momento exato da inseminação artificial, por meio da detecção ultra-sonográfica do estro e da ovulação das matrizes suínas, é muito importante (WEITZE et al., 1989). Ela permite minimizar as perdas de coberturas realizadas sem controle exato do momento das ovulações e conseqüentemente possibilita um aumento dos índices de fertilidade, além do diagnóstico precoce da prenhez.

Assim, o uso da ultra-sonografia tem sido crescente nas granjas suínolas, com alta acurácia e pre-

cocidade no diagnóstico de gestação (ALMOND & DIAL, 1987; CARTEE et al., 1985).

Com base no exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes diluidores e concentração espermática sobre a fertilidade de matrizes suínas inseminadas artificialmente, monitoradas por ultra-sonografia transcutânea.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados sêmens de cachaaos (n=4) das raças Pietran (n=2), Large White (n=1) e Duroc (n=1), com idade variando entre dois e três anos e com comprovada capacidade de fertilidade para a IA. A coleta de sêmen foi realizada duas a três vezes por semana, pelo método da mão enluvada (luvas de vinil), com auxílio de coletor munido de bolsa plástica com filtro, para retenção da secreção gelatinosa do sêmen (Minitüb).

Para controle efetivo do sêmen a ser utilizado, imediatamente após a coleta, ele foi analisado quanto aos aspectos físicos (volume, coloração, presença de aglutinação, odor, densidade) e microscópicos (concentração, motilidade, mortalidade, além de patologias espermáticas), conforme descrito por HAFEZ (1995). Após coleta e controle de qualidade, o sêmen foi diluído em Merk III, BTS e água de coco *in natura*, esta última acrescida de citrato de sódio a 5%.

A motilidade espermática foi estimada, considerando-se espermatozoides móveis com fração maior que 70%, quando o sêmen foi preparado em doses de 4×10^9 e 8×10^9 espermatozoides/100 ml. O sêmen foi mantido à temperatura ambiente durante 90 a 120 minutos, para posterior acondicionamento em boxe refrigerado à temperatura estável de +17°C, e mantido durante período máximo de 48 horas, após a diluição.

Foram inseminadas fêmeas púberes (n=173) e adultas (n=184), previamente monitoradas por ultra-sonografia, para o controle do estro e ovulação, pelo método transcutâneo, utilizando-se ultrasom Scanner setorial (transdutor 5 MHz – Fukuda – Phisya), a fim de determinar o momento exato da IA.

A inseminação foi realizada após incubação das doses de sêmen a 38°C durante 15 minutos, a

primeira realizada em média 24 horas após o início do estro e a segunda 12 horas após a primeira.

O diagnóstico da prenhez foi realizado por ultra-sonografia transcutânea, decorridos 30 dias da IA – período pré-implantação embrionária (P_1) – e 40 dias após a IA (P_2).

Aplicou-se análise de dispersão de frequências dos dados para avaliar o efeito dos tratamentos sobre as taxas de prenhez de fêmeas suínas púberes e adultas, inseminadas com diferentes diluidores e doses inseminantes, bem como sobre as taxas de leitões nascidos vivos e mortos. E o teste de diferença entre proporções foi utilizado para verificar efeito das concentrações espermáticas dos diferentes diluidores sobre as taxas de prenhez e taxa de ausência de retorno ao cio, dentro de cada tratamento, considerando-se $p < 0,05$ (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS

Não foram observadas diferenças nas taxas de prenhez das fêmeas suínas púberes e adultas

inseminadas com as diferentes concentrações do sêmen nos diferentes diluidores (Tabela 1).

Avaliando-se as frequências de fêmeas púberes e adultas inseminadas com as diferentes doses, dentro de cada tratamento (Tabela 2), verificou-se, também, que as taxas de prenhez não variaram significativamente com a concentração espermática, embora as taxas de prenhez tenham sido maiores para a dose inseminante de 8×10^9 espermatozóides/mL.

As análises de dispersão das frequências das fêmeas inseminadas com 4×10^9 e 8×10^9 espermatozóides/mL, e de pares de proporção entre doses inseminantes, não revelaram variação significativa quanto à ausência de retorno ao cio em relação aos diluidores utilizados (Tabela 3).

O contraste entre as frequências de fetos nascidos vivos e mortos das matrizes inseminadas com água de coco e Merk III foi significativo ($X^2 = 6,07$), revelando maior número de natimortos no grupo de fêmeas inseminadas com o primeiro diluidor; enquanto as frequências para o Merk III e o BTS foram análogas (Tabela 4).

TABELA 1. Frequências absoluta e relativa das taxas de prenhez de matrizes suínas púberes e adultas inseminadas com sêmen diluído nas concentrações 4×10^9 e 8×10^9 espermatozóides/100 mL, em diferentes diluidores e monitoradas por ultra-sonografia nos períodos pré-implantação (P_1) e 40 dias após a IA (P_2).

Diluentes	Púberes inseminadas	Adultas inseminadas	Púberes prenhes				Adultas prenhes			
			P_1	%	P_2	%	P_1	%	P_2	%
Merk III ¹	30	44	27	90,0	27	90,0	40	90,9	40	90,9
BTS	38	40	34	89,5	33	87,0	36	90,0	36	90,0
Água de coco	35	41	33	94,3	32	91,4	37	90,2	37	90,2
Merk III ²	23	19	22	95,6	21	91,3	18	94,7	18	94,7
BTS	24	20	22	91,7	22	91,7	18	90,0	18	90,0
Água de coco	23	20	22	95,6	21	91,3	19	95,0	19	95,0
Total	173	184	160		156		177		168	

$$X^2_{cal.} < X^2_{Tab.}$$

¹ Sêmen diluído contendo 4×10^9 espermatozóides/100ml

² Sêmen diluído contendo 8×10^9 espermatozóides/100ml

TABELA 2. Teste de diferença entre duas proporções, para verificar o efeito das concentrações 4×10^9 e 8×10^9 espermatozoides/mL de sêmen diluído em água de coco, Merk III e BTS, sobre taxas de prenhez de matrizes suínas púberes e adultas, 40 dias após a IA (P_2), monitoradas por ultra-sonografia.

Fêmeas suínas	Água de coco				Merk III				BTS			
	C ₁	%	C ₂	%	C ₁	%	C ₂	%	C ₁	%	C ₂	%
Púberes	32/35	91,4 ^a	21/23	91,3 ^a	27/30	90,0 ^a	21/23	95,6 ^a	33/38	87,0 ^a	22/24	91,7 ^a
Adultas	37/41	90,2 ^a	19/20	95,0 ^a	40/44	90,9 ^a	18/20	94,7 ^a	36/40	90,0 ^a	18/20	90,0 ^a

Letras iguais na mesma linha não diferem ao nível de $P < 0,05$, dentro de cada tratamento

^{C1} Sêmen diluído contendo 4×10^9 espermatozoides/100ml

^{C2} Sêmen diluído contendo 8×10^9 espermatozoides/100ml

TABELA 3. Frequências absoluta e relativa das taxas de ausência de retorno ao cio das matrizes suínas púberes e adultas inseminadas com sêmen nas concentrações 4×10^9 e 8×10^9 espermatozoides/100mL, diluído em água de coco, Merk III e BTS.

Animais	Água de coco			Merk III			BTS			Estatística*
	FA	%	Total	FA	%	Total	FA	%	Total	
Púberes ¹	32	91,43 ^{**}	35	27	90,00	30	33	86,84	35	$X^2_{AxB} = 0,52$
Adultas	37	90,24	41	40	90,90	44	36	90,00	40	$X^2_{AxC} = 0,03$
Total	69	90,79 ^a	76	67	90,50 ^a	74	69	92,00 ^a	75	$X^2_{BxC} = 0,80$
Púberes ²	21	91,30	23	21	91,30	23	22	91,67	24	$X^2_{AxB} = 0,015$
Adultas	19	95,00	20	18	94,74	19	18	90,00	20	$X^2_{AxC} = 0,052$
Total	40	93,02 ^a	43	39	92,86 ^a	42	40	90,91 ^a	44	$X^2_{BxC} = 0,011$

* $X^2_{1gl} = 3,84$; ** $Z_{crítico 5\%} = 1,645$; A- Água de coco; B- MERK III; C- BTS; FA – Frequências absolutas

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem ao nível de $P < 0,05$

¹ Sêmen diluído contendo 4×10^9 espermatozoides/100mL

² Sêmen diluído contendo 8×10^9 espermatozoides/100mL

TABELA 4. Frequências absoluta e relativa das taxas de leitões nascidos vivos e mortos de matrizes suínas inseminadas com sêmen diluído em água de coco, Merk III e BTS.

Parâmetros	Água de coco		Merk III		BTS		Estatística
	FA	%	FA	%	FA	%	
Nascidos vivos	462	93,33	384	96,97	428	94,27	$X^2_{AxB} = 6,07$
Natimortos	33	6,67	12	3,03	26	5,73	$X^2_{AxC} = 0,36$
Total	495	100,0	396	100,0	454	100,0	$X^2_{BxC} = 3,61$

$X^2_{tabelado} = 3,84$; A- Água de coco; B- Merk III; C- BTS; FA – Frequências absolutas

DISCUSSÃO

Com base na metodologia de diagnóstico utilizado e mediante os dados expressos nas Tabelas 1 e 2, verifica-se que as frequências de positividade da prenhez de matrizes púberes e adultas inseminadas com diferentes concentrações de sêmen e diluidores nos períodos pré e pós-implantação embrionária foram consideradas satisfatórias. Resultados similares foram obtidos por TONIOLLI & MESQUITA (1990) quando avaliaram a fertilidade de porcas inseminadas com os diluidores água de coco e BTS.

Diferentes fatores de variabilidade (cultivo embrionário, motilidade espermática, fertilidade e prolificidade de fêmeas inseminadas) foram anteriormente avaliados em diferentes trabalhos e, mediante os resultados obtidos, a água de coco foi recomendada como diluidor de sêmen de suínos (TONIOLLI & MESQUITA, 1990; BLUME et al., 1997; REIS, 1997; TONIOLLI et al., 1998; AZEVÊDO & TONIOLLI, 2000; MACHÁTY et al., 1992; TONIOLLI et al., 1997).

A capacidade nutricional e o tampão dos diluidores permitem a utilização do sêmen diluído por tempo variado (FLOWERS, 1992), devido basicamente a duas de suas funções: prolongar a vida do espermatozóide; e aumentar o volume do ejaculado (SIMMET, 1996). Resultados satisfatórios como os obtidos neste estudo permitem mostrar a viabilidade da água de coco como diluidor de sêmen suíno utilizado em IA.

KOTZIAS-BANDEIRA et al. (1999) constataram maior proteção do diluidor água de coco sobre a membrana plasmática dos espermatozoides durante o processo de congelamento, sendo por isso recomendado tanto para pré-diluição como para congelamento de sêmen suíno.

A taxa de diluição do sêmen é um fator que interfere no período de preservação e viabilidade dos espermatozoides e, conseqüentemente, nos resultados da IA (REIS, 1997). Como a IA com doses de 4×10^9 e 8×10^9 espermatozoides/100ml, respectivamente, não variou em relação aos diluentes nas diferentes variáveis estudadas (Tabelas 1, 2 e 3), ambas as doses são recomendadas.

Pode-se verificar que o percentual de fêmeas que não apresentaram retorno ao cio variou de

86,84% a 95,00%. Independentemente da dose de inseminante e do tipo de diluidor, pouquíssimos animais retornaram ao cio. Segundo HAFEZ (1995), aproximadamente 25% a 40% dos embriões são naturalmente perdidos nas espécies domésticas, entre a época da penetração do óvulo pelo espermatozóide e o final da implantação. A maior frequência de retorno ao cio foi de 14,16% para fêmeas inseminadas com sêmen diluído em BTS com 4×10^9 espermatozoides/100ml.

Quanto ao tamanho da leitegada, verificou-se uma média de 10,81 leitões para o grupo de matrizes inseminadas com diluidores Merk III, 9,66 para o BTS e 10,53 para água de coco. Resultados semelhantes foram obtidos por TONIOLLI & MESQUITA (1990), que registraram as médias de 9,93 leitões para água de coco e 9,56 para o BTS.

A porcentagem de natimortos observados na Tabela 4 foi superior à encontrada por TONIOLLI & MESQUITA (1990), que encontraram 5,69% para a água de coco e 6,19% para o BTS. A frequência de natimortos para o grupo água de coco (6,67%) diferiu do diluidor Merk III (3,03%), porém não diferiu do BTS (5,73%).

Independentemente da variação significativa entre as taxas de nascidos vivos e mortos, entre os diluidores, as frequências de nascidos vivos foram superiores a 93,33%, taxa essa que pode ser considerada satisfatória, embora, em criações suínolas, o manejo possa influenciar os aspectos reprodutivos, comprometendo a relação custo-benefício. As taxas de fertilidade e natalidade não foram influenciadas por tais fatores.

Diferentes técnicas para o diagnóstico de gestação têm sido utilizadas em suínos. Segundo ALMOND & DIAL (1987), a melhor seria aquela com alto percentual de acurácia (>95%) e baixa prevalência de falso-positivos e falso-negativos (<5%). Os dados obtidos pela técnica transcutânea (Tabela 2) foram importantes para justificar alto grau de confiabilidade; além disso, esta técnica é mais efetiva e menos traumática do que a ultra-sonografia transretal (WABERSKI et al., 1998; CARTEE et al., 1985).

Embora a taxa de fertilidade esteja abaixo dos encontrados por WABERSKI et al. (1998) e CARTEE et al. (1985), quando obtiveram 97,7%

de positividade aos 21 dias e 100% aos 22 dias, os índices encontrados neste experimento são considerados superiores à média, segundo ALMOND & DIAL (1987), os quais citaram que a confiabilidade do diagnóstico por ultra-sonografia aumenta com o tempo, a partir dos 22 dias da fecundação.

CONCLUSÕES

A água de coco *in natura* pode ser utilizada como diluidor de sêmen suíno, com altos índices de prenhez e natalidade e baixo índice de retorno ao cio, significando baixo custo para a biotécnica da IA no Brasil.

O monitoramento ultra-sonográfico do estro e da ovulação das matrizes suínas inseminadas com os diferentes diluidores e concentrações espermáticas mostrou-se eficiente, possibilitando diagnóstico precoce da prenhez.

REFERÊNCIAS

- ALMOND, G. W.; DIAL, G. D. Pregnancy diagnosis in swine: principles, applications and accuracy of available techniques. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 191, n.7, p. 858-870, 1987.
- AZEVÊDO, D. M. M. R.; TONIOLLI, R. Avaliação *in vitro* do sêmen de caprinos do tipo racial Marota diluído em água de coco estabilizada com antibióticos e leite desnatado adicionado de ácido 3-indol-acético (IAA). **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 24, n. 4, p. 187-193, 2000.
- BLUME, H.; VALE FILHO, V. R.; MARQUES Jr., A. P.; SATURNINO, H. M. Uso da água de coco no cultivo de embriões bovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 78-81, 1997.
- CARTEE, R. E.; POWE Jr, T. A.; AYER, R. L. Ultrasonographic detection of pregnancy in sows. **Modern Veterinary Practice**, v. 66, n.1, p. 23-26, 1985.
- DESCHAMPS, J. C.; CORRÊA, M. N.; LUCIA Jr., T. Impacto da inseminação artificial em suínos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 22, n. 2, p. 75-79, 1998.
- FLOWERS, W. L. Artificial Insemination in swine. **Agri-Practice**, v. 13, n. 2, p. 36-40, 1992.
- HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 6. ed. Porto Alegre :Manole, 1995. 582p.
- KOTZIAS-BANDEIRA, E.; WEITZ, K. F.; WABERSKI, D.; BARRETO, M. B. P. Pré-diluição e congelamento de sêmen suíno em água de coco *in natura* após três diferentes pré-tratamentos de incubação. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 3, p. 149-153, 1999.
- MACHÁTY, Z.; TAKÁCS, T.; GÁTHY. Fertilizing capacity of boar semen diluted with Beltsville TS (BTS) and modified Kiev (MK) extenders in relation to storage time and number of spermatozoa per insemination dose. **Animal Reproduction Science**, v. 29, n. 3-4, p. 289-295, 1992.
- NUNES, J. F.; COMBARNOUS, Y. Utilização da água de coco e suas frações como diluidor de sêmen dos mamíferos domésticos. In: SIMPÓSIO NACIONAL DA REPRODUÇÃO DE MAMÍFEROS DOMÉSTICOS, 1., 1995, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza : SNBRMD, 1995. p. 57-63.
- REIS, F. T. Colheita, avaliação e manipulação do ejaculado de suínos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, n. 3, p. 22-29, 1997.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SIMMET, C. Boar semen extenders: what they are and how to use them. **Industria Porcina**, v. 16, n. 5, p. 15-16, 1996.
- TONIOLLI, R.; MESQUITA, D.S.M. Fertilidade de porcas inseminadas com sêmen diluído em água de coco estabilizada e com B.T.S. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 14, n. 4, p. 249-254, 1990.
- TONIOLLI, R.; COUROT, M.; COMBARNOUS, Y.; BUSSIÈRE, J. Fração ativa da água de coco: conservação e fertilidade do sêmen de suíno. **Re-**

Reprodução Animal, v. 21, n. 3, p. 29-40, 1997.

TONIOLLI, R.; MESQUITA, D. S. M.; CAVALCANTE, S. G. Avaliação *in vitro* do sêmem de suíno diluído em BTS e na água de coco *in natura* e estabilizada. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, 22, n. 4, p. 198-201, 1998.

WABERSKI, D.; KUNZ-SCHMIDT, A.; WAGNER-RIETSHEL, H.; KERZEL, I.; WEITZE,

K.F. Ultraschalldiagnostik in der gynäkologie des schweines: möglichkeiten und grenzen. **Prakt. Tierarzt.**, v. 79, n. 3, p. 257-262, 1998.

WEITZE, K. F.; HABECK, O.; WILLMEN, T.; RATH, D. Detection of ovulation in the sow using transcutaneous sonography. **Zuchthug**, v. 24, p. 40-42, 1989.