

EFEITO DO SÊMEN ACONDICIONADO À 5°C COM O DILUENTE PIGPEL-5 SOBRE A TAXA DE FERTILIZAÇÃO *IN VIVO*

Corrêa, M.N.¹; Bianchi, I.¹; *Lucia Jr., T.¹; Schmidt, E.¹; Rech, D.C.¹; Bordignon, J.¹; Rambo, G.¹; Juliano, F.¹; Tonieto, S.R.¹; Deschamps, J.C.¹

¹ PIGPEL: Ensino, Pesquisa e Serviços em Produção de Suínos, Centro de Biotecnologia, Campus Universitário s/nº, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, Caixa Postal 354, CEP 96010-900 bianchi@ufpel.edu.br (53) 84051356

INTRODUÇÃO

Na inseminação artificial em suínos utiliza-se sêmen acondicionado no estado líquido (6), a uma temperatura de 15-18°C, sendo que o diluente mais utilizado é o Beltsville Thawing Solution (BTS) (7). Para manutenção desta temperatura utilizam-se caixas acondicionadoras, que possuem um custo elevado e dificuldades na estabilização da temperatura desejada. Devido a isto, a utilização de refrigeradores domésticos com temperatura média de 5°C, poderia se tornar uma importante alternativa os sistemas de produção, incluindo unidades com menor disponibilidade financeira (10,3). O uso de sêmen suíno resfriado à 5°C é, em geral, limitado por estar associado a menor fertilidade e prolificidade, principalmente, devido à reduzida motilidade e perda da integridade de membrana após o acondicionamento (4). Vários métodos de avaliação de sêmen são utilizados em centrais de inseminação, mas a avaliação da fertilidade através da inseminação de fêmeas, constitui-se num importante método, tanto para avaliação da qualidade de sêmen a fresco, como também diluído e acondicionado (8). O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito de um diluente para acondicionamento de sêmen suíno à 5°C (PIGPEL-5), sobre a taxa de fertilização *in vivo*, comparado com o sêmen diluído com BTS e acondicionado à 17°C.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste estudo foram utilizados ejaculados de 6 machos suínos, sendo 1 da raça Duroc, 1 da raça Large White, 1 da raça Pietrain e 3 provenientes do cruzamento entre as raças Landrace e Large White, localizados na Fazenda da Palma, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL-RS). Foi utilizado para coleta o método da mão enluvada. Após a coleta foi feita uma mistura do ejaculado (*pool*), formando doses com células espermáticas de 2 machos. Assim foram elaborados 3 *pools* que foram avaliados quanto a motilidade, vigor e concentração (1,2). Os ejaculados foram diluídos, com dois diferentes diluentes, BTS (7) e PIGPEL-5, com uma concentração final por dose de 100 mL de 3×10^9 espermatozoides vivos. Após a diluição os ejaculados foram mantidos durante 3 h a 22-24°C, e posteriormente as doses diluídas em BTS foram armazenadas a 17°C e as diluídas em PIGPEL-5 armazenadas a 5°C. Após 24 h foi feita avaliação das doses quanto a motilidade, vigor e morfologia (9), teste do estresse térmico (5) e teste do choque hipoosmótico (12). Para a avaliação da capacidade fertilizante *in vivo* do sêmen diluído com BTS e PIGPEL-5, 60 leitoas pré-púberes com peso médio de 93,5 Kg e idade de aproximadamente 160 dias foram tratadas com 1000 UI de PMSG e 500 UI de hCG. Após 26 a 30 h da aplicação do hCG, todas as leitoas foram inseminadas, estivessem ou não apresentando sinais de cio. Um grupo de 30 fêmeas foram inseminadas com o sêmen diluído em BTS e outras 30 fêmeas foram inseminadas com o PIGPEL-5. Aproximadamente 48 h após a inseminação, as leitoas foram transportadas ao abatedouro, sendo abatidas em torno de 66-68 h após a inseminação artificial. No abatedouro foi coletado o aparelho reprodutor das leitoas e levado ao laboratório onde foi feita a contagem de corpos lúteos (CL), cistos ovarianos e a lavagem dos ovidutos e dos cornos uterinos para a recuperação das estruturas a fim de determinar-se o número de ovócitos fertilizados e a taxa de fertilização. Todas as análises estatísticas foram conduzidas através do procedimento GLM (*General Linear Models*) disponível no SAS® (11).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com exceção do efeito da interação entre o *pool* e a taxa de recuperação ($P = 0,023$), nenhuma das interações testadas mostrou significância ($P > 0,05$). Das 60 doses inseminantes utilizadas em ambos os tratamentos, 52 (86,7%) apresentavam motilidade espermática igual ou superior a 60%. Quando a motilidade foi categorizada em 50, 60-65 e 70% ou mais, observou-se 13,3, 40,0 e 46,7% para cada categoria, respectivamente (Tabela 1). Todas as 8 amostras que apresentavam motilidade igual a 50% haviam sido acondicionadas com o PIGPEL-5. Também foi observado vigor espermático classificado como 3 em 8 amostras (13,3%), sendo 1 amostra do tratamento BTS e as outras do PIGPEL-5. Das leitoas sincronizadas, apenas 18,3% apresentaram sinais de cio e 1,7% não responderam aos hormônios utilizados. O número médio de corpos lúteos foi de $9,6 \pm 5,4$, para ambos os tratamentos. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$), entre o número de corpos lúteos nas fêmeas inseminadas com sêmen acondicionado com BTS ($10,0 \pm 0,8$) ou com PIGPEL-5 ($8,8 \pm 1,2$). Foram registrados $7,5 \pm 2,1$ CL para fêmeas em cio e $9,7 \pm 0,9$ CL para fêmeas que não demonstraram sinais de cio, não diferindo entre si ($P > 0,05$). Também não houve diferença ($P > 0,05$), entre o número de CL para cada categoria de motilidade após 24 h de acondicionamento e para qualquer dos 3 *pools*. A taxa de recuperação de estruturas foi de $62,2\% \pm 29,8$, sendo de $61,4\% \pm 4,7$ nas fêmeas inseminadas com BTS e $63,7\% \pm 6,9$ para PIGPEL-5 ($P > 0,05$). Não houve diferença entre o número de estruturas para cada tratamento, sendo de $6,6 \pm 0,6$ e $4,6 \pm 0,9$ para BTS e PIGPEL-5, respectivamente ($P > 0,05$) (Tabela 2). Em apenas 4 fêmeas (6,6%) não foram encontrados ovócitos fertilizados. Portanto, na maioria das fêmeas (93,4%), ocorreu fertilização dos ovócitos, independentemente do tratamento. Não foi observada diferença ($P > 0,05$), entre o número de ovócitos fertilizados para BTS ($6,0 \pm 0,6$) e PIGPEL-5 ($4,3 \pm 0,8$) (Tabela 2). A taxa de fertilização para ambos os tratamentos foi de $85,0\% \pm 28,0$, enquanto para o tratamento BTS foi de $83,7\% \pm 4,4$ e para PIGPEL-5 de $87,3\% \pm 6,3$ (Tabela 3), não sendo observadas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$). A taxa de fertilização obtida com PIGPEL-5 são superiores aos encontrados quando sêmen

suíno é acondicionado à temperatura de 5°C. Portanto, é provável que o PIGPEL-5 não tenha provocado danos sobre a integridade da membrana, principalmente em estruturas como o acrossoma, fundamental para uma adequada taxa de penetração e, portanto, para a obtenção de adequados níveis de fertilidade.

CONCLUSÕES

O diluente PIGPEL-5 é capaz de produzir adequadas taxas de fertilização após a inseminação de leitões submetidas à sincronização de cio e ovulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMOND, G.W. ; BRITT, J. ; FLOWERS, B.; GLOSSOP, C.; LEVIS, D.; MORROW, M.; SEE, T. The swine AI book. 2nd ed. North Carolina : Ed. Ruth Cronje; North Carolina State University, 1998.
2. CORRÊA, M.N.; MEINCKE, W.; LUCIA, T.; DESCHAMPS, J.C. Inseminação Artificial em Suínos. 1a Edição. Ed: Marcio Nunes Corrêa, Pelotas – RS, p. 181. 2001.
3. DESCHAMPS, J.C.; CORRÊA, M.N.; LUCIA, T. Jr. Impacto da inseminação artificial em suínos. *Revista Brasileira Reprodução Animal*. v. 22, n. 2, p. 75-79. 1998.
4. FIRST, N.L.; STRATMAN, F.W.; CASIDA, L.E. Effect of sperm age on embryo survival in swine. *Journal of Animal Science*. v. 22, p. 135. 1963.
5. FISER, P.S.; HANSEN, C.; UNDERHILL, L.; MARCUS, G.J. New thermal stress test to assess the viability of cryopreserved boar semen. *Cryobiology*. v. 28, p. 454-459. 1991.
6. JOHNSON, L.A. Fertility results using frozen boar spermatozoa 1970 to 1985. In: Johnson, L.A., Larsson, K. Eds. , Deep Freezing Boar Semen. *Proc. 1st Int. Conf. Deep Freezing of Boar Semen*. Swedish Univ. Agric. Sciences, Uppsala, p. 199–222. 1985.
7. 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.
8. MALMGREN, L. Assessing the quality of raw semen: a review. *Theriogenology*. v. 48, p. 523-530. 1997.
9. PURSEL, V.G.; JOHNSON, L.A.; RAMPACEK, G.B. Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *Journal of Animal Science*. v. 34, p. 278-283. 1972.
10. PURSEL, V.G.; SCHULMAN, L.L.; JOHNSON, L.A. Effect of holding time on storage of boar spermatozoa at 5°C. *Journal of Animal Science*. v. 37, p. 785-789. 1973.
11. SAS®. *SAS/STAT User's Guide* (Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC. 1991.
12. VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A.; MARTINEZ, P.; GARCIA-ARTIGA, C.; ROCA, J. Hypoosmotic swelling of boar spermatozoa compared to other methods for analysing the sperm membrane. *Theriogenology*. v. 47, p. 913-922. 1997.

Tabela 1: Motilidade espermática categorizada, para ambos os tratamentos após 24 h de acondicionamento

| Motilidade (%) | n | Percentual |
|----------------|----|------------|
| 50 | 8 | 13,3 |
| 60-65 | 24 | 40,0 |
| 70 ou + | 28 | 46,7 |
| Total | 60 | 100 |

Tabela 2: Número total de estruturas recuperadas e ovócitos fertilizados por tratamento após 24 h de acondicionamento

| Tratamento | Total de estruturas | Ovócitos fertilizados |
|------------|---------------------|-----------------------|
| BTS | 6,6 ± 0,6 | 6,0 ± 0,6 |
| PIGPEL-5 | 4,6 ± 0,9 | 4,3 ± 0,8 |
| Média ± DP | 6,0 ± 4,0 | 5,4 ± 4,0 |

Tabela 3: Taxas de fertilização para sêmen diluído com PIGPEL-5 e BTS após 24 h de acondicionamento

| Tratamento | Taxa de fertilização (%) |
|------------|--------------------------|
| PIGPEL-5 | 87,3 ± 6,3 |
| BTS | 83,7 ± 4,4 |
| Média ± DP | 85,0 ± 28,0 |