



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DO MÉTODO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NO DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE PORCAS

NUNO FILIPE GOMES DA SILVA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Robalo Silva

Doutor Rui Manuel de
Vasconcelos e Horta Caldeira

Doutora Marina Madeira Marques
Fraústo da Silva

Dr. José Júlio Alfaro Cardoso
Carreira da Cunha

ORIENTADOR

Dr. José Júlio Alfaro Cardoso
Carreira da Cunha

CO-ORIENTADOR

Doutora Marina Madeira
Marques Fraústo da Silva

2008

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DO MÉTODO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NO DESEMPENHO
REPRODUTIVO DE PORCAS

NUNO FILIPE GOMES DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Robalo Silva

Doutor Rui Manuel de
Vasconcelos e Horta Caldeira

Doutora Marina Madeira Marques
Fraústo da Silva

Dr. José Júlio Alfaro Cardoso
Carreira da Cunha

ORIENTADOR

Dr. José Júlio Alfaro Cardoso
Carreira da Cunha

CO-ORIENTADOR

Doutora Marina Madeira
Marques Fraústo da Silva

2008

LISBOA

Efeito do método de inseminação artificial no desempenho reprodutivo de porcas.

Resumo

Pretendeu-se com este estudo avaliar as vantagens e desvantagens de diferentes metodologias de inseminação artificial disponíveis no mercado em condições de utilização prática de uma exploração de grandes dimensões. Mais concretamente, foram avaliadas as diferenças no que diz respeito aos valores de fertilidade e prolificidade para os diferentes métodos.

Os valores de fertilidade encontrados foram de 82,8% para a inseminação dita “clássica”, 89,2% para a inseminação com albardas e de 73,5% para a inseminação com os novos cateteres GEDIS.

No que diz respeito à prolificidade os resultados obtidos foram de 11.6 ± 0.711 para a inseminação dita “clássica”, 9.8 ± 0.765 para a inseminação com albardas e de 10.7 ± 0.765 para a inseminação com os novos cateteres GEDIS, no entanto estas diferenças de valores não se revelaram estatisticamente significativas.

Quanto às diferenças no que diz respeito ao tempo de inseminação os valores obtidos foram 5 min e 23 s para a inseminação dita “clássica”, 5 min e 46 s para a inseminação com albardas e de 2 min e 32 s para a inseminação com os novos cateteres GEDIS.

Os elementos recolhidos e presentes neste estudo contribuem para a caracterização das diferentes metodologias, podendo funcionar como uma ferramenta muito útil no momento da escolha do método de inseminação mais adequado de acordo com o perfil de cada exploração seja do ponto de vista económico, de dimensão da exploração e nível de formação do pessoal.

PALAVRAS CHAVE: Suínos, inseminação artificial, fertilidade, prolificidade, cateteres GEDIS

The effect of the method of artificial insemination in the reproductive performance in sows.

Abstract

The main aim of this study was to characterize and evaluate the advantages and disadvantages of different methods of artificial insemination, available in the market and adequate to the practical use in a large dimensions farm.

The differences concerning fertility and prolificacy values of each method were, in fact, the main parameters to evaluate.

The results concerning fertility values were the following: 82,8% for classic A.I. ; 89,2% for dose hangers A.I. method; 73,5% for the new GEDIS catheters method.

The results respecting prolificacy were 11.6 ± 0.711 for classic A.I., 9.8 ± 0.765 for A.I. with dose hangers and 10.7 ± 0.765 for the new GEDIS catheters. However, these differences of values did not reveal statistically relevant.

In what concerns the differences related to the time of insemination, the results were 5 min and 23 s for classic A.I., 5 min and 46 s for A.I. with dose hangers and 2 min for the new GEDIS catheters.

The resulting data of this study contribute to the characterization of the different methods and they can work as very useful tools, when choosing the most adequate method of artificial insemination, according to each farm profile, both in terms of economic capacity, dimension and staff's formation level.

KEY-WORDS: Pigs, artificial insemination, fertility, prolificacy, GEDIS catheters

Índice geral

RESUMO	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GERAL	III
ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS	V
ÍNDICE DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES	VI
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	VII
1ª PARTE - DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES REALIZADAS:	1
2ª PARTE – EFEITO DO MÉTODO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NO DESEMPENHO REPRODUTIVO DE PORCAS.	3
1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJECTIVOS	8
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
3.1. CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DAS FÊMEAS SUÍNAS	9
3.1.1. <i>Puberdade</i>	9
3.1.2. <i>Ciclo éstrico</i>	10
3.1.3. <i>O estro</i>	12
3.1.4. <i>Sazonalidade:</i>	13
3.2. <i>Sincronização de estro em Fêmeas suínas:</i>	13
3.3. <i>Avaliação da condição corporal</i>	16
3.3.1. <i>Estado metabólico e nutricional das porcas e a sua influência na performance reprodutiva</i>	17
3.3.2. <i>Idade, o seu efeito na performance reprodutiva das fêmeas</i>	19
3.3.3. <i>Influência do tipo de alojamento durante a gestação</i>	20
3.4. CICLO REPRODUTIVO NOS MACHOS	21
3.4.1. <i>Puberdade</i>	21
3.4.2. <i>Produção de espermatozóides</i>	22
3.5. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	22
3.5.1. <i>Colheita de sémen</i>	23
3.5.2. <i>Fracções do ejaculado</i>	24
3.5.3. <i>Técnicas de avaliação do sémen</i>	24

3.5.4. <i>Preparação das doses</i>	29
3.5.5. <i>Técnicas de inseminação artificial</i>	30
3.5.6. <i>Inseminação artificial “clássica”</i>	31
3.5.7. <i>Inseminação artificial com os novos cateteres GEDIS®</i>	32
3.5.8. <i>Momento da inseminação</i>	35
3.5.9. <i>Inseminação com sémen congelado comparativamente ao sémen fresco</i>	37
3.6. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DA GESTAÇÃO	38
3.6.1. <i>Métodos de maneio</i>	38
3.6.2. <i>Métodos clínicos</i>	38
3.6.3. <i>Métodos ultrasonográficos</i>	39
3.6.4. <i>Métodos laboratoriais:</i>	41
4. MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1. <i>Animais</i>	43
4.2. <i>Instalações</i>	43
4.3. <i>Maneio alimentar e reprodutivo das porcas em ensaio</i>	44
4.4. <i>Maneio alimentar e reprodutivo dos varrascos usados</i>	45
4.5. <i>Tempo de inseminação</i>	45
4.6. <i>Refluxo</i>	45
4.7. <i>Condição corporal</i>	45
4.8. <i>Diagnóstico de gestação</i>	45
4.9. <i>Análise estatística</i>	46
5. RESULTADOS	47
6. DISCUSSÃO	48
7. CONCLUSÕES	50
8. BIBLIOGRAFIA	51

Índice de tabelas e gráficos

Tabela nº 1 – Protocolo de inseminação (Estienne e Harper, 2005).	36
Tabela nº 2- Distribuição das porcas do ensaio com base no nº de partos e na sua raça.	43
Tabela nº 3 - Efeito do método de inseminação na fertilidade das porcas.	47
Tabela nº 4 - Efeito do método de inseminação na prolificidade das porcas.	47

Índice de figuras e ilustrações

Figura nº 1 -Esquema para o maneiio das porcas para inseminação a tempo-fixo. (Hühr et al., 1996).....	15
Figura nº 2 - Classificação do tipo de movimento individual dos espermatozóides. (Manual de inseminación artificial porcina (s/data) - edita kubus S.A).....	25
Figura nº 3 – Detalhe da câmara de Bürker para a contagem de espermatozóides. (Manual de inseminación artificial porcina (s/data) - edita kubus S.A).....	27
Figura nº 4 – Anomalias morfológicas (Manual de inseminación artificial porcina (s/data) - edita kubus S.A).	28
Figura nº 5 – Cateter GEDIS®	33
Figura nº 6 – Processo de inseminação com cateteres GEDIS®	34

Índice de abreviaturas

A.I. : Artificial insemination

cc : Centímetro cúbico

°C : Graus célsius

g : Grama

I.A.. : Inseminação artificial

min : minuto

ml : mililitro

mm : milímetro

m.o : microscópio óptico

nº : número

ng : nanograma

p.p.d : propriamente dito

s : segundo

µg : picograma

1ª Parte - Descrição das actividades realizadas:

O estágio em questão foi realizado entre os meses de Outubro e Fevereiro, sob orientação do Dr. José Júlio Alfaro Cardoso e co-orientação da Prof. Marina Fraústo Silva. Durante este período, as minhas actividades foram divididas entre as explorações de suínos da empresa Vale Henriques S.A e a exploração de bovinos de leite da empresa Fonte de Leite S.A, ambas situadas na localidade de Azambuja. A maior parte do tempo foi passado na exploração suinícola e cerca de um mês passado na exploração de bovinos.

Na unidade de suínos, as minhas actividades dividiram-se entre as actividades normais desempenhadas por um veterinário de campo naquele ramo, dando toda a assistência necessária a exploração, ou seja, o manejo normal da exploração, no qual pude observar o esquema em que os animais eram integrados nas diferentes fases do ciclo produtivo, maternidade, pós-desmame, pré-engorda, engorda, integração no efectivo reprodutivo ou venda para consumo de carne, diagnóstico de cio, gestação e reinício do ciclo..

Participei em todas as campanhas de profilaxia e vacinação que decorreram nestes meses.

Pude participar nos diferentes passos do protocolo reprodutivo, dividido entre colheitas de sémen, avaliação do sémen e preparação das doses, ambos os passos efectuados no laboratório da exploração; diagnósticos de cio e inseminação das porcas em cio.

No que diz respeito ao sector das maternidades, procedi à assistência aos partos, resolução de complicações no momento do parto, vacinação e administração de todas as medidas profiláticas necessárias aos leitões, e todas as marcações necessárias. Também efectuei a castração dos leitões destinados a engorda em regime extensivo em exploração associada.

A par destas actividades, durante o estágio nesta exploração, procedi, sob orientação do Dr. Alfaro, à elaboração de um ensaio experimental em que se pretendeu comparar diferentes metodologias de inseminação artificial, de modo a verificar até que ponto estas podiam influenciar os resultados produtivos da exploração. Este ensaio decorreu entre 16/10/07 e 14/03/08 e constitui o principal tema deste trabalho.

Na exploração leiteira integrei a equipa de veterinários que aí trabalhavam na assistência diária à exploração que incluiu sincronização de estros, inseminações artificiais com sémen congelado, assistência aos partos, assistência médica a vacas com sinais de patologia, ou com baixas produções de leite. No âmbito da assistência a estes casos tive a oportunidade de proceder não só a assistência médica mas também cirúrgica, nomeadamente nos casos de deslocamento do abomaso à esquerda.

Participei nas campanhas de vacinação e profilaxia realizadas durante o tempo em que permaneci nesta exploração.

Particpei activamente no estabelecimento de diagnóstico e avaliação de processos mamíticos e respectivas decisões de alta ou manutenção desses animais nos parques de mamíticas com conseqüente exclusão do leite do circuito de consumo.

Relativamente aos vitelos procedi às suas vacinações, processos de descorna e assistência médica em casos de doença.

2ª Parte – Efeito do método de inseminação artificial no desempenho reprodutivo de porcas.

1. Introdução

Ao longo do processo de domesticação dos animais de produção a acção e a vontade do homem foram-se fazendo notar em vários campos: os padrões de alimentação, a morfologia, os níveis de produção e até o comportamento dos mesmos foram sendo alterados à imagem do que o homem pretendia. No início do século XX os animais domésticos eram então o produto de milhares de anos de intervenção humana. Talvez se possa dizer que a esta altura a única coisa que estes animais faziam como em natureza era acasalar, com todas as desvantagens que isto trazia aos produtores. Para os animais este podia dizer-se o último bastião de resistência da natureza contra a agricultura ou intervenção humana. A inseminação artificial (I.A.) veio deitar por terra este último foco de resistência, com toda a influência económica e técnica a ela associadas e que levaram à evolução nesta área (Brassley, 2007).

Apesar de a I.A. só se ter estabelecido como método eficaz na reprodução no início do século XX a história da sua evolução começa muito antes. Até ao século XVII os relatos revelam-se confusos e só revelam a curiosidade do homem por esta matéria.

A inseminação artificial nas espécies domésticas tem origem no ano de 1779, graças as investigações de Lazzaro Spallanzani. O referido investigador, impulsionado pelo êxito da inseminação artificial em flores e peixes decidiu tentar a fecundação de uma cadela com material seminal de um macho normal, obtendo, como resultado, uma ninhada de cachorros normais com as características dos progenitores.

A partir de 1790 a inseminação artificial chamou poderosamente a atenção de todo o mundo, ao ponto de se considerar que esta técnica seria a solução de muitos problemas de reprodução, não só nas espécies domésticas como também no homem. A tal ponto que a igreja decidiu intervir de modo a refrear a inseminação artificial na espécie humana.

Foi no início do século XX que a inseminação artificial entrou numa fase aplicativa, depois de ter estagnado um pouco o seu desenvolvimento nos anos de 1880 a 1890. As causas deste fenómeno foram basicamente duas, a reprovação moral que se chegou a estabelecer contra este método e as expectativas demasiado elevadas que se tinham criado e que acabaram por sair frustradas.

Nas grandes espécies animais a difusão do método teve lugar com lentidão. Neste campo devem-se destacar Kaldrovics (na Hungria), os russos Lieberemann e Enicherloff, assim como o inglês Heape, que descobriu a ciclicidade sexual das espécies domésticas, a base científica para a aplicação da inseminação artificial. Nos Estados Unidos, Pearson e Harrison praticaram a inseminação artificial nas espécies equina e bovina e do mesmo modo Thompson, na Austrália, iniciou a utilização da I.A. (Pérez e Pérez, 1985).

No entanto, o desencadear da inseminação artificial nas espécies de produção, só é impulsionado após a descoberta do Professor Amantea, a vagina artificial, no ano de 1914. A vagina artificial veio trazer a solução ao problema de recolção espermática num grande número de espécies domésticas, em particular nos equinos e ruminantes (Pérez e Pérez, 1985).

O interesse maior pela inseminação artificial em espécies de produção vinha daqueles países em que a melhoria zootécnica necessitava de técnicas de fácil difusão e capazes de obter resultados a curto prazo. Neste sentido, foi na Rússia que este novo método de reprodução animal encontrou as melhores condições para o seu desenvolvimento, tanto que, durante muitos anos foram o Professor Ivanov e a sua escola quem pautou as directrizes da inseminação artificial no mundo (Perry, 1968; Pérez e Pérez, 1985). O professor Ivanov compreendeu que além do problema da recolção do sémen a I.A. tinha outras barreiras que tinham que ser ultrapassadas para a sua difusão, nomeadamente a diluição do material fecundante e a sua conservação a longo prazo (Pérez e Pérez, F. 1985). Do ponto de vista biológico corresponde a Kollker e Waldeyer o mérito pela primeira diluição espermática à base de um meio de conservação orgânica, em 1856. Tratava-se de urina recém-colectada como meio de diluição. Este método nunca chegou a obter resultados práticos apenas académicos.

Em 1905 Hofmann experimentou o leite fresco como meio biológico para a conservação de esperma, chegando a conclusões interessantes no que diz respeito a viscosidade do leite, propriedades tampão e energéticas (Perry, 1968).

Em 1913 o Professor da faculdade de S.Petersburgo, Elias Ivanov, demonstrou o interesse de certas soluções electrolíticas para a diluição do sémen. Consequência destas investigações foi a publicação de diferentes diluentes isotónicos de concentração variável consoante a espécie animal (Pérez e Pérez, 1985).

Foi preciso chegar a 1914 para se conhecerem os resultados de Poyarkov relativamente à utilização de açucres nos meios diluentes. Este verificou que a adição de açucres melhorava as condições iniciais da actividade espermática mas sem grandes resultados em relação ao tempo de sobrevivência (Pérez e Pérez, 1985).

Wolf, em 1920, demonstrou que a adição de tampões aos meios diluidores aumentava o tempo de sobrevivência dos espermatozóides, devido ao facto de conseguirem neutralizar catabolitos tóxicos existentes no ejaculado (Perry, 1968).

No ano de 1939, Phillips, comprovou o efeito favorável na diluição do sémen, de soluções integradas com fosfato sódico, fosfato potássico e gema de ovo. Com estes meios obteve tempos de sobrevivência de 180 horas (com a temperatura de 4-10 °C). O método de Phillips difundiu-se com rapidez e, em consequência, a I.A. nos Estados Unidos atingiu um grau de desenvolvimento muito elevado (Pérez e Pérez, 1985).

O descobrimento dos antibióticos também teve participação no desenvolvimento da aplicação da I.A. A adição de penicilina e estreptomicina, assim como de sulfanilamida, melhoraram os resultados da conservação do sémen, ao inibir o desenvolvimento bacteriano e reduzindo também a capacidade contaminante do sémen.

A congelação do sémen teve o seu passo inicial no ano de 1913, através das observações de Ivanov. Este investigador observou que os testículos de um carneiro encontrado morto na neve à já várias semanas e estado de congelação continha espermatozóides vivos e com capacidade fecundante (Pérez e Pérez, 1985).

Para resolver o problema da congelação do sémen teve que ser resolvido, primeiro, o problema da protecção dos espermatozóides face às baixas temperaturas. Neste aspecto, merecem destaque os trabalhos de A.Polge e Rowson, em 1952, relativamente à utilização de glicerina para este efeito. Estes investigadores apresentaram, em 1955 a metodologia completa correspondente à congelação do esperma de touro.

O esperma congelado pode manter a capacidade fecundante durante meses, podendo afirmar-se que, actualmente, o problema da conservação do sémen se encontra praticamente resolvido (Pérez e Pérez, 1985).

Esta busca por um meio mais prático, economicamente viável e controlável de “reprodução”, no sector suinícola, advém do aumento das necessidades dos mercados por carne de porco e da consequência disto para os rendimentos dos produtores. Por todo o mundo as populações continuam a depender da carne de porco como importante fonte de alimento. Aproximadamente 40% da carne consumida anualmente por todo o mundo (94 milhões de toneladas) é carne de porco. O número de porcos (940 milhões) e os seus níveis de consumo têm aumentado consistentemente com o aumento da população global (FAO 2002). Nos últimos 50 anos a investigação em termos genéticos e em programas de nutrição teve um grande impacto no melhoramento das carcaças e da eficiência da produção de suínos (Gerrits, Lunney, Johnson, Pursel, Kraeling, Roher, Dobrinsky, 2005).

Além disso o perfil das explorações de suínos, bem como os níveis de produção sofreram profundas alterações. A título de exemplo vejamos o caso do Reino Unido. Em 1964 existiam mais de 75.000 produtores de porcos em Inglaterra e no País de Gales sendo que cerca de 72% tinham menos de 10 porcas, dando uma média nacional de dimensão de exploração de cerca de 9,5 porcas. Os 20 anos que se seguiram foram anos de grande especialização em que a maior parte dos pequenos produtores desapareceram enquanto os grandes produtores aumentaram quer em número, quer em dimensão. Em 1986 já só existiam cerca de 12.500 produtores e a média por exploração era já de cinquenta e sete porcas, apenas um em cada 10 dos pequenos produtores se mantiveram (Brassley, 2007).

Antes da implementação das técnicas de inseminação artificial todas as porcas tinham que ser cobertas por monta natural com todas as desvantagens a isto associadas; os varrascos são animais mais difíceis de controlar, podendo ferir e até matar quem os está a manusear,

os custos de manter um varrasco, que não faz nada de produtivo a não ser passar os seus genes, são elevados. Além destas questões de ordem mais prática a inseminação artificial traz outras vantagens de ordem mais técnica que serão mencionadas mais a frente no capítulo referente à inseminação artificial. Obter sêmen o mais precocemente possível de animais potencialmente valiosos é importante para acelerar a identificação de reprodutores superiores. Machos jovens cuidadosamente seleccionados devem ser avaliados tão cedo quanto possível após a puberdade.

A I.A. facilita os cruzamentos, requerendo que apenas uma das raças seja mantida na exploração, com todas as vantagens a isso inerentes.

No entanto e apesar de todas estas vantagens a I.A. não foi imediatamente e universalmente aceite no meio dos produtores, antes pelo contrário foram precisas décadas para que se afirmasse como um meio importantíssimo e mesmo essencial para produção de suínos de elevado rendimento. Mais uma vez o Reino Unido é um bom exemplo. A I.A. no Reino Unido parece ter dado os primeiros passos por volta de 1954 mas no entanto, ainda em 1990 os dados indicavam que cerca de 700.000 porcas tinham que ser cobertas duas vezes todos os anos, no entanto apenas cerca de 423.000 inseminações eram efectuadas representando apenas 11% do total de cobrições. Quanto aos outros países, em 1990 na Alemanha de Leste já cerca de 80% dos suínos eram produzidos por I.A., comparativamente à Alemanha Ocidental em que apenas 23% da produção era por I.A., enquanto isto, a Holanda que tinha desempenhado um papel preponderante nos primeiros passos da I.A. em suínos tinha cerca de 51% e a Dinamarca seguia com 25%. A França apresenta valores idênticos aos do Reino Unido e os Estados Unidos apenas produziam entre 5 e 7% dos seus suínos através da I.A. (Brassley, 2007).

Actualmente os níveis de utilização da inseminação artificial são elevadíssimos na maior parte dos países grandes produtores e mais desenvolvidos. Nos Estados Unidos a utilização passou de uns meros 7% em 1990 para cerca de 60-70% em 2001 (Singleton, 2001; Day 2000).

No caso específico de Portugal a inseminação artificial deu os primeiros passos por volta de 1985 e de forma muito lenta. A esta altura já o Dr. Perestrelo Vieira importava sêmen fresco do estrangeiro, que era utilizado nalgumas explorações, mas sem grande expressão. Foi neste ano que a L.Conde, empresa com grande relevo no que toca ao desenvolvimento da inseminação artificial em Portugal, iniciou a sua actividade, em associação estreita com a Sociedade Agro-pecuária de Vale Henriques S.A. De 1985 a 1990 esta empresa realizou vários cursos de formação em reprodução e inseminação artificial em Portugal e Espanha, no entanto com resultados muito pouco expressivos. Porém, ao fim de 5 anos a L.Conde instalou três laboratórios nas explorações Agro-pecuária Gaorfe, Socaprol e Sociedade Agro-pecuária Valagares, após estes outros se seguiram. No ano de 1992 foi instalado em Portugal o 1º Centro de inseminação artificial; a CIARO- Centro de Inseminação Artificial e

Reprodução do Oeste. Durante os anos de 1993 e 1994 assistiu-se a uma verdadeira expansão da inseminação artificial em Portugal. Durante estes dois anos a L.Conde montou cerca de 98 laboratórios em diferentes explorações suínícolas e colocou no mercado, no ano de 1994, 12096 bolsas de diluidor MRA equivalentes a 122.000 inseminações. Foi também em 1994 que foi instalado o 1º laboratório nos Açores na ilha de S.Miguel. A partir de 1996-1997 iniciou-se a entrada de empresas estrangeiras no sector em Portugal e a partir desta data os dados respectivos à inseminação artificial ficaram um pouco dispersos (Cardoso, 2007), mas será correcto afirmar que na grande maioria, quase totalidade das explorações suínícolas do território nacional a técnica de inseminação artificial está já implementada e é já indispensável à produção suínícola em Portugal.

2. Objectivos

O objectivo deste projecto foi o de caracterizar três metodologias diferentes de inseminação artificial relativamente aos parâmetros de Fertilidade, Prolificidade e Tempo de inseminação, em condições o mais próximo possível das condições habituais de manejo da exploração em causa, de modo a não perturbar o seu funcionamento normal e a ter resultados aplicáveis no dia-a-dia de uma exploração suinícola destas dimensões.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Características reprodutivas das fêmeas suínas

3.1.1. Puberdade

O início da puberdade é maioritariamente uma função da idade dos animais e da sua maturidade, visto que as fêmeas nascem já com um potencial genético para actividade reprodutiva cíclica. Fornecidas as influências ambientais favoráveis e uma vez iniciado o “relógio biológico”, este irá continuar a funcionar enquanto as condições ambientais se mantiverem favoráveis. Obviamente que isto sucede com um declínio lento das capacidades reprodutivas das mesmas, no entanto, nas fêmeas dos animais domésticos não ocorre nenhum fenómeno que possamos dizer equivalente à menopausa das mulheres (Noakes, Parkinson, England, 2001).

Durante o período pré-púbere, os ovários contêm numerosos folículos pequenos (de 2- 4 mm de diâmetro) e vários (de 8-15) folículos médios (6-8 mm) (Hafez e Hafez, 2004). Nestas porcas pré-puberes a secreção de gonadotrofinas é baixa mas aumenta drasticamente antes da puberdade, cerca dos 6 a 8 meses de idade. As mudanças que ocorrem na puberdade dependem directamente da actividade dos ovários que têm, principalmente duas funções: a produção de gâmetas femininos e a síntese de hormonas (Noakes et al., 2001), no entanto a principal hormona envolvida no início da actividade ovárica e consequentemente pela puberdade é a hormona luteinizante (LH), produzida na glândula pituitária (Monteiro, 1999).

No início da puberdade, as concentrações circulantes de gonadotrofinas aumentam em consequência do aumento da amplitude e frequência dos impulsos periódicos das gonadotrofinas. Isso resulta dos esteróides sexuais e possivelmente de um aumento da capacidade de resposta da hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH), secretada pelo hipotálamo para regular as gonadotrofinas (Hafez e Hafez, 2004).

Durante o período de 2-3 dias imediatamente antes do estro, os valores de LH e FSH aumentam fazendo com que os folículos nos dois ovários cresçam rapidamente (Estienne e Harper, 2005).

À medida que os folículos se desenvolvem o tamanho e peso dos ovários aumenta, passando dos 30-60g durante a fase infantil para cerca de 150-250g na fase da puberdade. A puberdade é então caracterizada pelo primeiro cio, pela ovulação dos folículos de Graff e pela libertação de oócitos capazes de serem fecundados.

A idade da puberdade ronda, como foi mencionado acima os 6-8 meses, no entanto existem uma série de factores que podem influenciar a maior ou menor precocidade da entrada na fase púbere, destacando-se:

(i) Nível alimentar:

Existem muitas evidências de que, na maioria das espécies animais, a idade da puberdade está relacionada com o peso corporal; pelo que não é de estranhar que a nutrição seja um factor importante. Animais alimentados correctamente e com boas taxas de crescimento atingem a puberdade antes do que os animais que não estão nestas condições (Noakes *et al.*, 2001). A limitação do consumo de energia pela metade do determinado por animais-controlado atrasa a puberdade em mais de 40 dias (Hafez e Hafez, 2004).

(ii) Estação do ano:

No caso particular dos suínos este aspecto é pouco relevante, sendo que estes são animais poliéstricos contínuos em oposição às espécies poliéstricas sazonais.

(iii) Presença do macho

Estudos em porcos mostraram que a exposição ao macho pode acelerar a entrada na puberdade, de 191 contra 232 dias (Hafez e Hafez, 2004); o efeito macho é, provavelmente mediado por feromonas e outros fenómenos sensoriais que influenciam a secreção hipotalâmica de GnRH.

(iv) Doenças

Qualquer doença que possa afectar a taxa de crescimento, quer directamente quer por interferir com a alimentação ou com a utilização de nutrientes irá atrasar a entrada na puberdade (Noakes *et al.*, 2001). Além destes a raça, linha genética, e as práticas de manejo a que os animais são sujeitos têm também influência na entrada nesta fase.

(v) Tipo de alojamento

A puberdade ocorre mais precocemente em marras criadas junto a grupos do que sozinhas.

3.1.2. Ciclo éstrico

Após atingir a puberdade as fêmeas entram então no primeiro cio. O início do cio é caracterizado por uma série de mudanças, sejam elas comportamentais (inquietação, monta sobre outros animais, aceitação à monta) anatómicas (edema e hiperémia da vulva) e, ocasionalmente por descargas mucosas. O ciclo éstrico dura aproximadamente 21 dias (19-23 dias). As fêmeas suínas são poliéstricas contínuas e somente a gestação ou disfunção endócrina interrompem a sua ciclicidade (Hafez e Hafez, 2004).

Fase folicular: é durante a vida fetal que se desenvolvem todos os folículos primordiais nas fêmeas, desses folículos apenas alguns serão recrutados para chegarem a oócitos capazes de serem fecundados. Este recrutamento faz-se de forma periódica durante toda a vida da

fêmea e tem início na puberdade. A duração total da foliculogénese é de cerca de 103 dias, sendo o crescimento dos folículos pré-antrais muito lento (84 dias) e o dos folículos antrais bastante mais rápido (19 dias).

As fases de folículo primordial e folículo primário (pré-antrais) são independentes das gonadotrofinas, mas a partir da fase de folículo secundário (antral), o crescimento, recrutamento e selecção de folículos que irão ovular está dependente de hormonas secretadas na hipófise. A hormona estimulante dos folículos (FSH) actua principalmente ao nível da camada granulosa, promovendo a sua divisão e a produção de fluído folicular esta hormona promove também o desenvolvimento de receptores para a hormona luteinizante (LH), o que aumenta a sensibilidade destas células a esta hormona. Este aumento de sensibilidade é importante, no que toca à fase de luteinização que se segue ao pico pré-ovulatório de LH e conseqüente ovulação (Monteiro, 1999).

A secreção de hormonas esteróides pelos folículos é muito baixa no início do seu desenvolvimento mas vai aumentando ao longo do desenvolvimento pré-ovulatório, sendo que as concentrações máximas (estrogénios e androgénios) são atingidas por volta do 19^o-20^o dia. Imediatamente antes da ovulação dá-se um pico de LH o que por sua vez irá diminuir a produção de estradiol ao mesmo tempo que as concentrações de progesterona aumentam no líquido folicular. Além destas hormonas os folículos também produzem factores de crescimento (Monteiro, 1999).

O ciclo pulsátil normal da LH aumenta na fase folicular devido à diminuição do efeito de inibição causado pela progesterona ao nível do eixo hipotálamo-hipofisário, este aumento de LH leva ao aumento da produção de estradiol pelos folículos e induz a onda de crescimento pré-ovulatório. Quando os níveis de estrogénio atingem determinado nível, provocam um pico de LH, que desencadeará por sua vez o processo de ovulação. A descarga de LH dura entre as 12-20 horas e atinge valores máximos de 5-15 ng/ml. Durante este pico de LH os níveis de FSH no sangue são também eles relativamente elevados. Depois de uma ligeira diminuição, eles aumentam novamente até as concentrações de LH voltarem a níveis próximos dos que precedem o pico pré-ovulatório (2 ng/ml). Durante a fase folicular, as concentrações de progesterona mantêm-se sempre abaixo dos 0,5 ng/ml (Monteiro, 1999).

Fase Luteínica: Os corpos lúteos formam-se a partir das células da granulosa e da teca interna após a ovulação. As alterações não se limitam apenas à morfologia e estendem-se também aos padrões de secreção hormonal destas células, passando estas a produzir progesterona. Apenas dois dias depois da ovulação os corpos lúteos já estão formados, medindo entre os 10-15 mm. Devido a este fenómeno as concentrações de progesterona aumentam atingindo o seu máximo (20-50 ng/ml) entre o 10^o e o 14^o dia do ciclo. Estes valores caem então, entre o 14^o e 16^o dia, ao mesmo tempo que os valores de prolactina

umentam, este fenómeno deve-se à secreção de prostaglandina $F_{2\alpha}$ por parte do útero. A secreção da prostaglandina $F_{2\alpha}$ atinge um máximo (2-5 ng/ml) entre o 14º e 16º dias do ciclo e desencadeia a regressão dos corpos lúteos, descendo depois para valores basais após o 18º dia.

A $PGF_{2\alpha}$ não é luteolítica na porca até ao dia 11 ou 12 do ciclo éstrico, contrariamente ao que se observa na vaca, na égua, na ovelha e na cabra cujos corpos lúteos sofrem lise por acção dessa hormona depois do dia 5 ou 6 do ciclo. Isso limita a utilização dessa hormona no controlo do ciclo éstrico da porca.

3.1.3. O estro

É durante o período do estro que se dá a ovulação. Consiste na libertação de vários gâmetas femininos depois da ruptura dos folículos de Graaf. A duração do estro é variável, mas geralmente nas primíparas dura cerca de 38 horas e nas múltiparas perto de 53 horas. Um dos pontos críticos para o sucesso de um programa de inseminação artificial é a correcta detecção do estro. Para atingir este objectivo os animais devem ser observados, se possível duas vezes por dia em busca de uma série de sinais; três dias antes do início do estro começa-se a detectar um aumento do volume e hiperémia da vulva. Esta característica persiste durante o estro e pode manter-se até 3 dias após o estro. A inquietação é também muito característica da entrada em cio, as porcas em cio emitem um “roncar” característico, perdem o apetite, aumentam a frequência da micção. Se estiverem em grupos, os animais em cio tendem a cheirar a vulva dos outros, tendem a tentar montá-los e aceitam a monta por parte dos outros. No pico do cio as porcas elevam as orelhas, “bloqueiam” os joelhos e elevam as costas, denominando-se reflexo de imobilização (Noakes et al., 2001).

A receptividade sexual da fêmea dura entre as 40 e 60 horas, sendo que a duração do cio puberal normalmente é mais curto (47 horas) do que a duração dos seguintes (56 horas).

Os oócitos são libertados entre as 38 e 42 horas após o início do cio e a duração do processo ovulatório ronda as 3,8 horas (Hafez e Hafez, 2004), cerca de 40 a 48 horas após o pico de LH. Durante a fase luteínica e início da fase folicular poderá haver até 50 pequenos folículos, embora nas fases do pro-estro só 10 a 20 folículos atinjam o tamanho pré-ovulatório.

Algumas horas antes da ovulação ocorrem algumas alterações morfológicas do folículo. Este torna-se saliente na superfície do ovário e a sua vascularização aumenta, nesta altura o folículo recrutado mede cerca de 8-12 mm de diâmetro. A libertação de prostaglandinas E e F produzidas no ovário vai aumentando, atingindo um pico máximo 2-3 horas antes da ruptura do folículo. Estas prostaglandinas vão promover a libertação de enzimas lisossomais que por sua vez levam à degradação do ápice do folículo, através da dissociação das células da granulosa e da destruição das fibras de colagénio. Como resultado final desta

degradação temos a ruptura do folículo e a libertação do oócito nele encapsulado, ou seja ocorre a ovulação (Monteiro, 1999).

3.1.4. Sazonalidade:

Como já foi referido, a fêmea suína apresenta ciclos éstricos ao longo de todo o ano de forma mais ou menos contínua. No entanto tem sido verificada uma certa sazonalidade no que diz respeito a atrasos à entrada na puberdade, a aumentos do intervalo desmame-concepção e ao aumento da mortalidade embrionária durante os meses de Verão e Outono. Esta diminuição das performances produtivas parece estar associada às alterações no fotoperíodo, na nutrição e a alterações ambientais. Diferentes estudos permitiram chegar a algumas conclusões quanto a este fenómeno. A taxa de ovulação varia ao longo do ano, sendo máxima no Outono e mínima no Inverno (Monteiro, 1999; Hafez e Hafez, 2004). Outros autores citados no estudo de Monteiro, 1999, verificaram também um nº inferior de folículos ovários no Verão; outros sugerem falhas no reconhecimento materno da gestação, relacionado com a presença de estrogénios, que por sua vez causam a regressão dos corpos lúteos. Os mesmos autores observaram um aumento da concentração de melatonina durante os períodos de baixa fertilidade (fotoperíodo longo, associado a restrição alimentar). Os porcos selvagens, ao contrário das espécies domesticadas, apresentam uma sazonalidade bem marcada, sendo que as fêmeas apresentam um período de anestro durante os meses de Verão e Outono. O período de anestro é caracterizado por valores de estrogénios abaixo dos necessários para a ovulação e por valores basais de progesterona sérica.

Pode ser que as variações verificadas nas performances produtivas das porcas ao longo do ano, sejam ainda a reminiscência de um ritmo ancestral dependente do fotoperíodo (Monteiro, 1999).

3.2. Sincronização de estro em Fêmeas suínas:

A Inseminação artificial facilita o beneficiação de grandes grupos de fêmeas que possam estar em cio ao mesmo tempo, posto isto e tendo em conta que o estabelecimento de rotinas é importante no que toca a estabelecer o protocolo de manejo em explorações de média/grande dimensão é então fácil perceber que a sincronização dos estros associada às técnicas de inseminação artificial hoje em dia praticadas é uma mais-valia para o produtor. Existem vários métodos de sincronização do estro em porcas, que têm por base a neurofisiologia própria da espécie ou a utilização de fármacos isoladamente ou associação em protocolos mais complexos.

O desmame da ninhada pode ser um método muito razoável para a sincronização do estro nas porcas. A remoção da ninhada após 3 a 5 semanas de lactação resulta em

desenvolvimento folicular, cio e ovulação dentro de 4 a 8 dias. Durante a lactação, ocorre redução na libertação de FSH e na síntese de LH. As concentrações de prolactina no plasma são altas ao momento do parto, aumentam em resposta à sucção dos leitões e diminuem rapidamente após o desmame (Hafez e Hafez, 2004).

No desmame, ocorre um breve aumento na LH plasmática e no conteúdo hipotalâmico de hormona libertadora de LH (LHRH). Durante o período pós-desmame, as concentrações plasmáticas de estradiol-17 β aumentam gradualmente e caem após o pico pré-ovulatório de LH no cio. Aumentos nos níveis de FSH coincidem com a onda de LH, mas a secreção de prolactina pode estar mais associada com o cio do que com o processo ovulatório (Hafez e Hafez, 2004).

No entanto, em algumas porcas, particularmente aquelas desmamadas no verão ou em má condição corporal ou que manifestam fraco apetite durante a lactação este mecanismo hormonal pode funcionar deficientemente. Quando os leitões são desmamados o aumento da secreção de LH e FSH necessário para provocar o desenvolvimento folicular e a produção de estradiol pode atrasar ou mesmo não acontecer. Consequentemente estas porcas podem entrar em cio atrasadas ou não chegar a entrar em estro nesse ciclo (Estienne e Harper, 2005).

Quanto ao uso de meios farmacológicos e como foi mencionado acima a escolha dos produtos e dos protocolos é vasta.

O método de desmame, apesar de eficaz na maioria dos casos, pode não ser suficiente no que toca a explorações de grandes dimensões. Segundo estudos, principalmente alemães (Hühn, Jöchle, Brüssow, 1996), um dos grandes produtores de suínos da Europa, para assegurar um intervalo curto e uniforme entre o desmame e a inseminação e para reduzir o período de anestro pós-parto é necessário recorrer a métodos biotecnológicos para maximizar a eficiência produtiva destas grandes explorações. Diversos estudos revelaram que a administração de 750-800 U.I de eCG exactamente 24h após o desmame dos leitões fornecia um grau suficiente de controlo do crescimento folicular e do estro (Hühn et al., 1996).

Demonstraram também que o uso, por rotina, de eCG aumentava o número de nados vivos em 0,5 leitões por ninhada comparativamente a grupos de estudo não tratados.

A estimulação do estro passou também a ser complementada com a adição de hCG para a sincronização da ovulação. Diversos ensaios citados pelo mesmo autor (Hühn et al., 1996) demonstraram inicialmente que a administração de 500 U.I de hCG, dada no momento da primeira detecção do reflexo de imobilização induzia a ovulação relativamente bem.

Quando a GnRH ficou disponível, várias combinações de gonadotrofina coriónica humana (hCG) e de GnRH foram testadas. Chegou-se à conclusão de que uma combinação de

300UI e de 300µg de hCG e de GnRH, respectivamente, melhorava a sincronização da ovulação. Através de laparotomia, feita em mais de 500 porcas verificou-se que a ovulação ocorria por volta das 37 horas, variando entre as 24 e as 40h, após o tratamento com hCG individualmente, contra as 36h, variando entre as 33 e 44h da administração de hCG associada à GnRH. A duração média da ovulação foi determinada nas 2,5h podendo variar até às 5,5horas. Este nível de sincronização permite o estabelecimento de um protocolo de inseminação a tempo fixo/determinado tornando assim desnecessário trabalho extra para a detecção do estro. No entanto novas pesquisas permitiram refinar ainda mais este protocolo, particularmente no que diz respeito ao tempo de aleitamento. O resultado destes estudos está patente no protocolo seguinte e esquematizado na figura nº1 (Hühn et al., 1996).

a) Administração de eCG exactamente 24h após o desmame para indução do estro. Doses: primíparas 1.000UI; múltíparas 800UI,

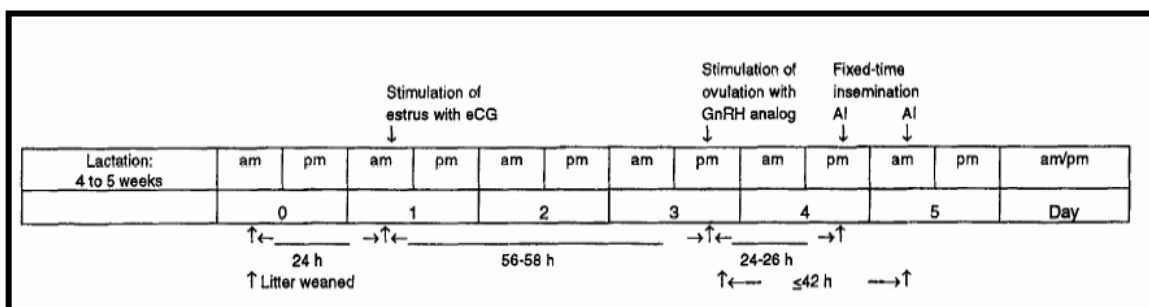
b) hCG+GnRH ou GnRH-Agonist para sincronização da ovulação

☒ 56-58h após a indução do estro se a ninhada foi desmamada após 4-5semanas (ou mais)

☒ 72-78h após a indução do estro se a ninhada foi desmamada após 3-4semanas,

c) Inseminação a tempo fixo: primeira inseminação 24-26h após a sincronização da ovulação, segunda inseminação até 42h após a sincronização da ovulação (Hühn et al., 1996).

Figura nº 1 -Esquema para o manejo das porcas para inseminação a tempo-fixo. (Hühn et al., 1996)



No entanto este não é o único protocolo possível. Outros estudos mencionados por Huhn et al., 1996 permitiram concluir que o intervalo de anestro é mais reduzido, 3,8 dias aquando da administração de P.G600 (contém 400 UI de gonadotrofina coriônica de égua gestante e 200 UI de gonadotrofina coriônica humana (HCG)) contra os 4,5 dias em porcas tratadas com placebo e que a percentagem de porcas que não demonstraram sinais de cio era de

2,9% para porcas tratadas contra P.G600 contra 17,1% nas porcas de controlo, sem que as diferenças no tamanho da ninhada fossem significativas.

Como resultados destes estudos são sugeridos diferentes hipóteses de sincronização. Se houver disponibilidade económica e de pessoal podem-se tratar todas as porcas com o P.G600, outra possibilidade é de administrar o composto apenas às porcas em risco de anestro prolongado, entendem-se por porcas em risco porcas no primeiro e segundo partos, com fraca condição corporal, porcas com historial de problemas reprodutivos, etc. Outra alternativa ainda é de proceder a detecções diárias de cio e só administrar o composto a porcas que não entrem em cio até 7 dias pós-desmame. Os animais tratados devem entrar em cio até 5 dias após o tratamento e podem então ser inseminadas (Estienne e Harper, 2005).

No caso de porcas pré-puberres, o efeito da deslocação e da presença de varrasco são duas práticas de manejo que podem ser utilizadas para sincronização do estro nestes animais. Deslocar as porcas para novas instalações, usualmente associada ao “misturar” com porcas que não tinham contacto prévio pode induzir a sincronização do estro entre os 15-30% no caso de porcas com idade próxima da puberdade. Expor porcas perto da idade da puberdade a um varrasco pode induzir o estro de 30-90% das porcas ao fim de três a sete dias. Muitos produtores associam estes dois factores de modo a garantir melhores resultados (Estienne e Harper, 2005).

Quanto à administração do P.G600 nestes animais, a mesma fonte revela que, a administração do composto a porcas pré-puberres que tenham pelo menos 5,5 meses e que pesem pelo menos 85 kg, leva a uma eficaz sincronização do cio. Num ensaio realizado na Tidewater Agricultural Research and Extension Center verificou-se que cerca de 83% das porcas tratadas manifestaram o estro em menos de sete dias após a injeção. Nestas porcas o tempo médio de intervalo entre o tratamento e o estro foi de 4,3 dias.

Em muitas explorações, as porcas só são inseminadas durante o segundo ou terceiro estro após a puberdade de modo a maximizar o número de ovulações e assim aumentar o potencial da ninhada (Estienne e Harper, 2005).

3.3. Avaliação da condição corporal

Tendo em conta os altos níveis de produção actuais, em que as porcas têm valores de fertilidade muito mais elevados e produzem mais leite durante a lactação do que há 15 anos, é fácil perceber que o estado metabólico destes animais é levado ao extremo, sendo que a linha que separa um estado normal de um estado de desequilíbrio é muito ténue. A manutenção de uma condição corporal ideal é, portanto, essencial para a manutenção quer

dos níveis de bem-estar quer para manter os níveis de produção requeridos. Como todas as fases do ciclo reprodutivo estão relacionadas, qualquer desvio da condição corporal normal, que se verifique numa das fases pode ter efeitos muito graves numa fase posterior, podendo inclusivamente não se notar por vários meses ou ciclos produtivos. No entanto, não é fácil manter uma condição corporal óptima para todos os animais; um pequeno erro na quantidade de alimento distribuído durante todo o período da gestação pode levar a porcas com peso a mais ou a menos à altura do parto (Maes, Janssens, Delputte, Lammertyn, de Kruif, 2004).

Apesar da sua importância, a avaliação da condição corporal em condições de rotina prática nem sempre é fácil. Em muitas explorações, a condição corporal é avaliada visualmente pelo produtor, numa escala de 0-5.

Este sistema funciona de forma muito razoável e é de prática corrente. No entanto as suas limitações são facilmente identificadas. É um método subjectivo e pouco preciso estando muito dependente das capacidades de avaliação da pessoa que procede à avaliação, além disso, quando esta avaliação é efectuada pelo produtor, no mesmo grupo de animais, ao longo do tempo, é provável que este se torne menos sensível a desvios da condição corporal normal, um fenómeno chamado de “cegueira de grupo” (“herd blindness”). É de notar ainda que esta avaliação se torna ainda mais difícil em grupos de animais compostos por mais do que uma raça, devido às diferenças de conformação inerentes a estas.

A medição da espessura da gordura subcutânea lombar constitui um método mais preciso e rigoroso para avaliar a condição corporal dos animais. Esta medição deve ser efectuada por ultrassonografia, ao nível da última costela, dorsalmente a 6-8 cm da linha média, em ambos os lados da porca e posteriormente calculada a média de ambas as medições, sendo este o resultado para o animal em questão (Maes et al., 2004).

Uma vez que a espessura da gordura subcutânea lombar reflecte o conteúdo total de gordura no animal, pode ser usada para avaliar se o maneio alimentar utilizado é o correcto ou se tem que ser sujeito a qualquer tipo de alterações ou mesmo como indicador de bem-estar animal. A avaliação destes níveis assume particular importância em marrãs, pois nestas a influência da condição corporal nas suas performances reprodutivas é maior do que em porcas mais velhas (Maes et al., 2004).

3.3.1. Estado metabólico e nutricional das porcas e a sua influência na performance reprodutiva

Tal como nos outros animais, as interacções entre o genótipo e o ambiente nos suínos têm efeitos profundos no resultado final do fenótipo das suas crias. As alterações podem ser muito precoces, ao ponto da manipulação nutricional durante o período pré-ovulatório afectar a maturação dos folículos e dos oócitos (Foxcroft, Vinsky, Paradis, Tse, Town,

Putman, Dyck, Dixon, 2007). No entanto é em fases um pouco mais tardias, durante o desenvolvimento embrionário que estes efeitos se fazem sentir mais e reflectem-se ainda durante o desenvolvimento do leitão, já após o nascimento (Foxcroft et al., 2007). Um dos factores mais importantes na determinação do desenvolvimento intra-uterino é a capacidade uterina, que caso seja excedida pode levar a que os fetos em desenvolvimento mostrem sinais de retardamento do crescimento intrauterino. No entanto, se a capacidade uterina não for excedida, um deficit em nutrientes a nível da interface materno-placental pode também levar a retardamento do crescimento intra-uterino (Foxcroft et al., 2007).

Num dos estudos consultados (Foxcroft et al., 2007) verificou-se que o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária não eram afectados pelo estado nutricional até aos 30 dias de gestação, pelo que se depreende que é em fases mais avançadas da gestação que estes factores desempenham um papel mais evidente (Foxcroft et al., 2007).

Estas influências não se verificam isoladamente e de uma forma, digamos, aguda, ou seja, os níveis nutricionais da porca vão variando ao longo de todo o ciclo de produção da porca, pelo que alterações numa determinada fase do ciclo, como por exemplo durante a lactação, podem influenciar os resultados da gestação subsequente, mesmo que pelo meio tenham passado outras fases do ciclo. Uma das maneiras mais usualmente praticadas para avaliar o estado nutricional das porcas é a medição da espessura da gordura lombar como anteriormente foi mencionado (Maes et al., 2004).

Um estudo, realizado na Bélgica, levou a uma série de conclusões. Este estudo compreendia a avaliação da condição corporal e das performances produtivas de três explorações de dimensões consideráveis que foram designadas por A, B e C, destacando-se as seguintes conclusões:

Espessura da gordura lombar no final da gestação vs número de nados-mortos: Porcas com maior percentagem de nados mortos apresentavam menores níveis da espessura da gordura lombar no fim da gestação nos grupos A e C enquanto no grupo B os níveis de gordura lombar não foram significativamente influenciados pelo número de nados-mortos (isto pode dever-se ao facto de que no grupo B à menor variação nos níveis de alimentação durante a gestação, ou à menor variação dos níveis de gordura lombar ou do número de leitões nascidos vivos entre as diferentes porcas deste grupo).

Não houve relação significativa entre o número de leitões nascidos vivos e a espessura da gordura lombar verificados entre o dia 80 da gestação e o parto.

Espessura da gordura lombar durante a lactação vs eficiência reprodutiva: No geral verificou-se uma correlação negativa, significativa, entre os níveis de gordura lombar no fim da gestação, medidos pela diferença em mm na espessura da gordura lombar, e o número de leitões desmamados por porca. Isto apenas indica que maiores reduções nos níveis de

gordura lombar foram verificadas em porcas que desmamaram mais leitões. Isto é fácil perceber visto que maior energia é necessária para a produção de leite em ninhadas maiores.

Muitos estudos demonstraram que porcas e especialmente marrãs que perdiam grandes percentagens de peso durante a lactação, apresentavam intervalos de anestro maiores, menores taxas de fecundação e reduzida sobrevivência fetal; no entanto, neste estudo, perdas de gordura lombar durante a lactação não demonstraram influenciar, significativamente, o intervalo até ao estro seguinte; das porcas que permaneceram no estudo apenas 3% não demonstraram sinais de estro nos 10 dias seguintes ao desmame (Maes et al., 2004).

O intervalo desmame-concepção em porcas que não conceberam nos 10 dias seguintes ao desmame foi maior quando as perdas de gordura lombar durante a lactação foram mais pronunciadas, mas esta associação não se revela estatisticamente significativa. Para as porcas que demonstraram o cio nos dez dias seguintes à lactação, as alterações na espessura da gordura lombar, revelaram-se positivamente relacionadas com o número de leitões nascidos vivos no ciclo reprodutivo subsequente (Maes et al., 2004).

No caso de porcas primíparas ou mais novas, outro estudo refere que maiores aportes de energia e de alimento durante a lactação estão associados a uma maior proporção de sobrevivência embrionária durante as gestações mais precoces e a maiores ninhadas subsequentes (Koketsu e Dial, 1998).

3.3.2. Idade, o seu efeito na performance reprodutiva das fêmeas

A idade da porca é outro factor que pode influenciar os resultados da performance reprodutiva de forma positiva ou negativa. No caso de porcas de produção a idade pode ser relacionada com o número de partos do animal. De uma forma geral as porcas apresentam menores resultados numa fase precoce do seu desenvolvimento, resultados esses que vão aumentando até por volta do 5º parto e depois começam lentamente a descer novamente até à idade em que são excluídas do efectivo reprodutor (Koketsu e Dial, 1998; Foxcroft et al., 2007).

Estudos consultados (Koketsu e Dial, 1998) em que se fazia uma análise mais específica deste factor afirmam que em idades mais precoces os resultados sofrem mais efeitos negativos aquando da prática de menores intervalos de lactação e que esses efeitos se reflectem nas ninhadas subsequentes.

Afirmam ainda que é possível que a duração da involução uterina seja a principal causa desta relação negativa, especulando que as porcas mais novas estão ainda a desenvolver o

seu sistema endócrino apesar de conseguirem reparar o útero de uma forma mais rápida que as porcas mais velhas (Koketsu e Dial, 1998).

Noutro estudo em que se avaliava a influência de factores extrínsecos sobre os resultados reprodutivos das porcas chegou-se à conclusão de que as porcas em idades mais precoces sofriam mais o efeito desses factores do que as porcas mais velhas. E que porcas mais novas, em caso de factores extrínsecos favoráveis apresentavam ninhadas mais homogêneas, afirmando que a dinâmica do desenvolvimento uterino tende a tornar-se mais complexa à medida que a idade das porcas avança, o que levará também a maior variabilidade nas características fenotípicas das ninhadas (Foxcroft *et al.*, 2007).

3.3.3. Influência do tipo de alojamento durante a gestação

A manutenção de porcas gestantes em baias individuais é bastante controversa. As baias permitem um maneio mais prático, alimentação individual e reduzem significativamente a agressividade entre os animais (Harris, Pajor, Sorrels, Eicher, Richert, Marchant-Forde, 2006). Além disto, alguns estudos revelaram que a exposição a alterações sociais e alimentares durante as primeiras três semanas de gestação podem ter efeitos negativos na sobrevivência embrionária ou no desenvolvimento dos embriões (van Wettere, Pain, Stott, Hughes, 2008).

No entanto, a liberdade de movimentos é muito restrita e as porcas confinadas demonstraram apresentar reduzida capacidade cardiovascular, menor massa muscular e resistência óssea reduzida além de morbilidade aumentada. Além disto, o confinamento, associado a restrições alimentares demonstrou estar associado ao desenvolvimento de comportamentos estereotipados e repetitivos possíveis indicadores de bem-estar reduzido e desenvolvimento de stress crónico. Estudos revelaram ainda que o confinamento das porcas gestantes pode estar associado a redução do peso vivo da ninhada (van Wettere *et al.*, 2008).

O estudo efectuado por Bates *et al.* (2003) (citado por van Wettere *et al.*, 2008) chegou a conclusões semelhantes, verificando que uma maior percentagem de porcas estabuladas em grupo, em parques com alimentadores electrónicos, permaneciam gestantes e chegavam a termo de gestação, do que as alojadas em baias individuais. Também o peso da ninhada era mais elevado nas porcas alojadas em grupos em cerca de 1.0 kg, comparativamente às alojadas individualmente, sendo que este traço se mantinha ao momento do desmame com diferenças de peso na ordem dos 0.9 kg.

No mesmo estudo não foram observadas diferenças no que diz respeito ao número de leitões desmamados por porca, relativamente ao tipo de alojamento. O mesmo acontecendo

no que diz respeito ao número de fetos mumificados e de nados vivos (Bates, Edwards, Korthals, 2003).

Importa salientar que neste estudo as porcas eram mudadas das celas individuais para os parques em grupo aos 4 dias após a inseminação e que no ensaio em análise as porcas eram mudadas aos 25 dias.

Estas conclusões vão no entanto contrariar as conclusões de outro investigador que relatou que o peso médio dos leitões à nascença era 0,5 kg inferior em porcas gestantes em grupos comparativamente aquelas alojadas em baias (Bates et al., 2003).

No entanto o ganho médio diário é 6 g superior nas porcas gestantes mantidas em grupos do que as porcas gestantes em baias.

Além disto, Blair et al. (1994) (citado por Bates et al., 2003) concluíram que as porcas gestantes mantidas em grupos com alimentador automático tinham ninhadas mais homogéneas em termos de peso do que as alojadas em grupos mas alimentadas individualmente em baias.

Noutros estudos, nomeadamente num ensaio Italiano efectuado por Barbari, (2000) (citado por Bates et al., 2003), são referidas menores taxas de parto em explorações que alojavam as porcas em grupos relativamente às que as alojavam as porcas em baias individuais. No entanto, outros estudos sugerem ainda, que não existem diferenças no que diz respeito a leitões/porca/ano quando se comparam explorações com porcas gestantes em alojamento individual, pequenos grupos ou grupos grandes com alimentadores automáticos. Isto sugere que as taxas de parto, tenham sido semelhantes entre os diferentes grupos/alojamentos visto que não foram relatados diferenças no tamanho das ninhadas (Bates et al., 2003).

Quanto ao momento da mudança de grupo, ou da cela individual para os parques, verificou-se que a permanência em alojamento individual não aumentava a sobrevivência embrionária. E que, aparentemente não existem efeitos adversos sobre o desenvolvimento embrionário ou na sobrevivência embrionária quando as porcas são “misturadas” nos primeiros dez dias de gestação (Van Wettere et al., 2008).

3.4. Ciclo reprodutivo nos machos

3.4.1. Puberdade

Dos 40 aos 250 dias de idade, o peso dos dois testículos aumenta marcadamente de 6 para 120 gramas. As concentrações de testosterona no plasma periférico aumentam conforme o desenvolvimento puberal progride e declina já próximo da maturidade.

A actividade de monta ocorre precocemente (erecção ao redor dos 4 meses), mas o padrão sequencial de comportamento sexual começa após os 5 meses. Os primeiros ejaculados

ocorrem entre o quinto e oitavo meses de idade. A estimativa média de heritabilidade para a idade da puberdade é de 0,32. O número de espermatozóides e o volume de sémen continuam a aumentar durante os primeiros 18 meses de vida (Hafez e Hafez, 2004).

.

3.4.2. Produção de espermatozóides

A duração de um ciclo do epitélio seminífero requer 8,6 dias. A duração do ciclo espermatogénico ou seja, o tempo que decorre desde a fase da espermatogónia até ao espermatozóide maduro (não capacitado), é de aproximadamente 34,4 dias. Posto isto, é fácil ver que durante um ciclo espermatogénico decorrem 4 ciclos do epitélio seminífero. A duração para o trânsito dos espermatozóides através do epidídimo é de 10,2 dias. As mais altas taxas de fertilização são obtidas com espermatozóides obtidos das porções proximal e distal da cauda do epidídimo. A testosterona mantém as actividades secretoras das glândulas acessórias, vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais, e esses fluidos seminais constituem a maior parte do ejaculado total do varrasco (Hafez e Hafez, 2004).

3.5. Inseminação artificial

A inseminação artificial é a técnica mais importante desenvolvida para o melhoramento genético dos animais, já que poucos reprodutores seleccionados produzem sémen suficiente para inseminar milhares de fêmeas anualmente. Em contraposição, a progenie anual por fêmea é pequena, mesmo com o emprego de transferência de embriões. A mais antiga documentação sobre a inseminação artificial data de 1780, quando o fisiologista italiano Spallanzani conseguiu o nascimento de uma ninhada de cachorros. Outras comunicações surgiram no sec. XIX. Todavia, apenas a partir de 1900 estudos extensos com animais domésticos foram iniciados, nomeadamente na Rússia, imediatamente seguidos pelo Japão. As principais vantagens da IA são: a) melhoramento genético, b) controlo de doenças venéreas, c) avaliação de registos precisos de reprodução, d) vantagens económicas, e) segurança, graças à eliminação de reprodutores inferiores, f) permite a utilização de sémen de reprodutores incapacitados ou oligospérmicos, g) é de utilização essencial após a sincronização do cio em grandes grupos de animais, j) permite que reprodutores desejáveis sejam utilizados em acasalamentos genéticos específicos, k) possibilita meios úteis de pesquisa dos muitos aspectos da fisiologia reprodutiva de machos e fêmeas, l) acelera a introdução de novos processos genéticos, m) permite cruzamentos que modificam características de produção. Quando realizada adequadamente, existem poucas desvantagens na sua utilização, no entanto é necessário contar com pessoal treinado em técnicas adequadas e dispor de boas condições para o manuseio das fêmeas durante a terapia hormonal (caso se faça sincronização de cio), além da detecção do cio e a própria inseminação.

Obter sémen o mais precocemente possível de animais potencialmente valiosos é importante para acelerar a identificação de reprodutores superiores. Machos jovens cuidadosamente seleccionados devem ser avaliados tão cedo quanto possível após a puberdade. A I.A. facilita os cruzamentos, requerendo que apenas uma das raças seja mantida na exploração com todas as vantagens a isso inerentes (Hafez e Hafez, 2004).

Quanto às desvantagens destacam-se a necessidade de níveis de manuseamento mais elevados por parte de operadores que podem levar a erros humanos que não existiriam no caso de a monta natural ser utilizada como método de inseminação; maiores variações e influências ambientais podem ocorrer sobre um sémen que tem que ser colhido, diluído, transportado e então depositado artificialmente. Isto exige que a inseminação tenha que ser feita correctamente e no momento apropriado para garantir os mesmos resultados da monta natural; além disto tem que se garantir uma correcta higienização de todo o equipamento utilizado (Sterle e Safranski, s/data).

3.5.1. Colheita de sémen

Caso os varrascos estejam já treinados/habitados a saltar sobre o tronco, a recolha do sémen deve ser feita num tronco fixo, em instalações próprias. Isto porque assim é possível controlar as condições de higiene, e reduzir os riscos do animal cair ou se lesionar. Esses riscos aumentam caso a recolha tenha que ser feita na varrasqueira com troncos menos estáveis e em piores condições de higiene. Portanto em primeiro lugar devem treinar-se os varrascos para que estes consigam saltar sem problemas.

Idealmente, todo o material que estará em contacto com o sémen deve estar, em primeiro lugar, limpo e esterilizado e previamente aquecido a cerca de 37° C.

O ejaculado deve ser recolhido directamente para dentro de um copo próprio e de preferência descartável, colocado dentro de um termo, garantindo assim a manutenção dos 37° C. Sobre o copo deve ser colocado uma gaze esterilizada. Esta evita que o ejaculado recolhido seja conspurcado com qualquer tipo de sujidade que possa cair no copo durante a recolha, além de que evita a mistura da fracção espermática com o gel ou tapioca, actuando como filtro.

Depois do animal ter saltado para o tronco e aí permanecer, deve proceder-se ao “esvaziamento” da bolsa prepucial, pressionando a mesma, de modo a eliminar restos de urina ou secreções que aí possam existir.

Quando o varrasco exterioriza a ponta do pénis, este deve ser seguro pelo técnico, de tal modo que os dedos fiquem em contacto com a parte espiralada do pénis sem pressão exagerada e deve ser feita uma tracção ligeira até exteriorização completa do pénis. Após a exteriorização total deve colocar-se o pénis de tal modo que o sémen caia sem problemas

para dentro do copo de recolha, evitando no entanto que o pénis roce, quer no tronco, quer no próprio animal, e evitando posições “anormais” do pénis.

Com ejaculados que tenham problemas de aglutinação é conveniente colocar previamente no copo de recolha cerca de 100 cc de diluidor MR-A® a 37° C.

3.5.2. Fracções do ejaculado

No varrasco o ejaculado é composto de três porções que devem ser distinguidas durante o procedimento de recolha:

Fracção pré-espermática: é a primeira porção do ejaculado. Esta não tem interesse em ser recolhida, visto que não contém espermatozóides e pode conter uma carga altamente contaminante. É transparente, muito fluída e tem cerca de 10-15 cc de volume.

Fracção espermática ou fracção rica: é a 2ª porção, vem imediatamente a seguir à fracção pré-espermática e sai rapidamente devido à primeira contracção da cauda do epidídimo. Apresenta uma cor branca e tem aspecto “leitoso”. Tem uma grande concentração de espermatozóides e um volume de cerca de 100 cc. Esta é a fracção que mais interessa recolher para a I.A..

Fracção pós-espermática: esta é muito pobre em espermatozóides, sendo maioritariamente constituída por secreções das glândulas acessórias do tracto reprodutivo do varrasco. É de cor esbranquiçada mas muito menos densa que a fracção rica e pode apresentar grumos gelatinosos durante a sua emissão. Esta fracção pode, no entanto, ser intercalada com emissões de fracção rica, pelo que se deve estar atento de modo a aproveitar essas emissões. O volume da fracção pós espermática é de cerca de 200 cc. Esta fracção é muito rica em plasma seminal, que actua estimulando os espermatozóides, isto faz com que não deva ser recolhida caso se queira conservar o sémen armazenado por mais de 24 horas.

Durante a ejaculação, mas sobretudo durante a emissão da primeira e terceira fracção, são expulsos uns grumos gelatinosos conhecidos vulgarmente por “tapioca” procedentes das glândulas de Cowper. Esta fracção gelatinosa solidifica em contacto com o ar e, durante a monta natural, forma uma rolha ao nível do cérvix que evita o refluxo do sémen para a vagina. No entanto, para fins de inseminação artificial não deve ser recolhido, uma vez que provoca a gelificação do líquido seminal; deve portanto ser filtrado através da gaze.

Uma vez recolhido o sémen deve ser levado o mais rapidamente possível para o laboratório para se proceder à sua avaliação e processamento.

(Manual de inseminación artificial porcina. Kubus S.A)

3.5.3. Técnicas de avaliação do sémen

Apesar de existir variada bibliografia referente a este tema, a descrição que se segue tem como fonte o manual utilizado no laboratório da exploração em que decorreu o ensaio. (*Manual de inseminación artificial porcina*. Kubus S.A (s/data))

As técnicas de avaliação de sémen podem dividir-se em dois grandes grupos: O exame de rotina ao nível do centro de I.A. independente ou no laboratório da exploração caso o haja e os exames mais especializados em laboratório independente. No decorrer deste estudo a avaliação do sémen decorreu no laboratório da própria exploração e resumia-se ao exame dito de rotina que passarei a descrever.

Avaliam-se, macroscopicamente, a cor, o odor e o volume; microscopicamente avaliam-se a motilidade, o grau de aglutinação, concentração (através da câmara de Bürker ou por fotocolorímetro), morfologia dos espermatozóides (presença de morfoanomalias graves) e por vezes, se for possível a integridade dos cromossomas.

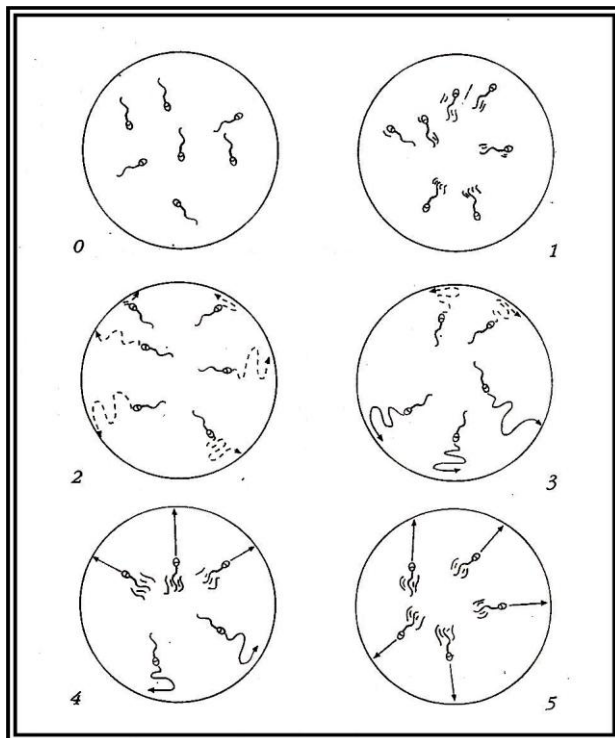
Avaliação da cor e odor: deve verificar-se que a cor esbranquiçada do sémen é nítida, sem que esteja turva com outros tons, como o amarelo, o vermelho ou rosa. O aparecimento destas cores ou a presença de odores estranhos pode ser devida a alterações patológicas do aparelho genital ou à mistura de sémen com urina durante o procedimento da colheita.

Volume do ejaculado: é quantificado em cc ou ml. Para realizar a sua medição utilizam-se provetas graduadas ou recorre-se a uma balança, pesando o ejaculado, tendo, previamente tarado o copo de recolha. Considera-se nesta medição que 1 g=1 cc. O volume normal da fracção rica do ejaculado oscila entre os 50 e os 125 cc, variando com a raça, com estado fisiológico de cada varrasco, e com a estação do ano.

Motilidade: Avalia-se colocando uma pequena gota de ejaculado numa lâmina de microscópio, de preferência em platina aquecida a 37° C e reobre-se com uma lamela. A amostra é então observada ao microscópio óptico (m.o.) com uma ampliação de 100 ou 200x e avalia-se o movimento geral da amostra (avalia-se em percentagem) e o tipo de movimento individual (expresso numa escala numérica de 0-5) como demonstrado na figura nº2.

Em casos de avaliação da motilidade de sémen conservado levam-se a cabo duas observações: uma realizada com uma gota de sémen diluído e aquecido e outra com uma gota de sémen diluído, à qual se adiciona uma gota de solução de cafeína, que nos serve para determinar a capacidade real de movimento dos espermatozóides.

Figura nº 2 - Classificação do tipo de movimento individual dos espermatozóides. (*Manual de inseminación artificial porcina* (s/data) - edita kubus S.A).



- 0-sem movimento (necroespermia)
- 1-sem movimento progressivo, girando sobre si mesmo.
- 2-movimentos anormais e alguns progressivos.
- 3-movimentos progressivos lentos e sinuosos.
- 4-movimentos progressivos rápidos.
- 5-movimentos progressivos muito rápidos.

Aglutinação: ao avaliar a motilidade espermática, por vezes observam-se agregados de espermatozoides que aglutinam em volta de detritod ou de outras células. A dimensão dos aglutinados é normalmente classificada de 0-3+++ , sendo as três cruces referentes a uma aglutinação muito evidente. Ao avaliar a motilidade da amostra, as células aglutinadas não entram na percentagem total de células em movimento.

Concentração do ejaculado: o seu cálculo é fundamental, já que é em função desta e do volume de ejaculado que se podem calcular o número de doses a preparar. Consiste na determinação do número de espermatozoides por unidade de volume. Esta determinação pode ser feitas por diversos métodos, sendo os mais utilizados a contagem na câmara de Bürker e a fotocolorimetria. Passamos a descrever a primeira, pois foi esta a utilizada na avaliação do sémen utilizado no ensaio.

O procedimento é o seguinte:

Misturar bem o ejaculado antes de retirar um ml de sémen puro (não diluído) com o auxílio de uma pipeta.

Realizar uma diluição 1:100 numa solução de soro fisiológico formolado a 3%.

Homogeneizar a mistura e retirar, com uma pipeta de Pasteur, uma gota para colocar na câmara de Bürker, do seguinte modo:

- i) Ajustar bem a lamela à câmara

ii) colocar a pipeta entre a lâmina e a lamela deixando que o interior da câmara encha por capilaridade.

iii) observar ao m.o com uma ampliação de 400x

4- Realizar a contagem de espermatozoides presentes em 40 quadrados do retículo da câmara. Devem ser contados aqueles espermatozoides cujas cabeças estejam situadas dentro dos quadrados e aqueles cuja cabeça toque o lado superior e direito e as esquinas superior e inferior direitas do quadrado.

A área dos quadrados pequenos da câmara de Bürker é de $0,0025\text{mm}^2$. A altura entre a câmara e a lamela é de $0,1\text{mm}$. Portanto o volume contido em cada quadrado é de $0,00025\text{mm}^3$. O volume contido nos 40 quadrados será de $0,01\text{mm}^3$.

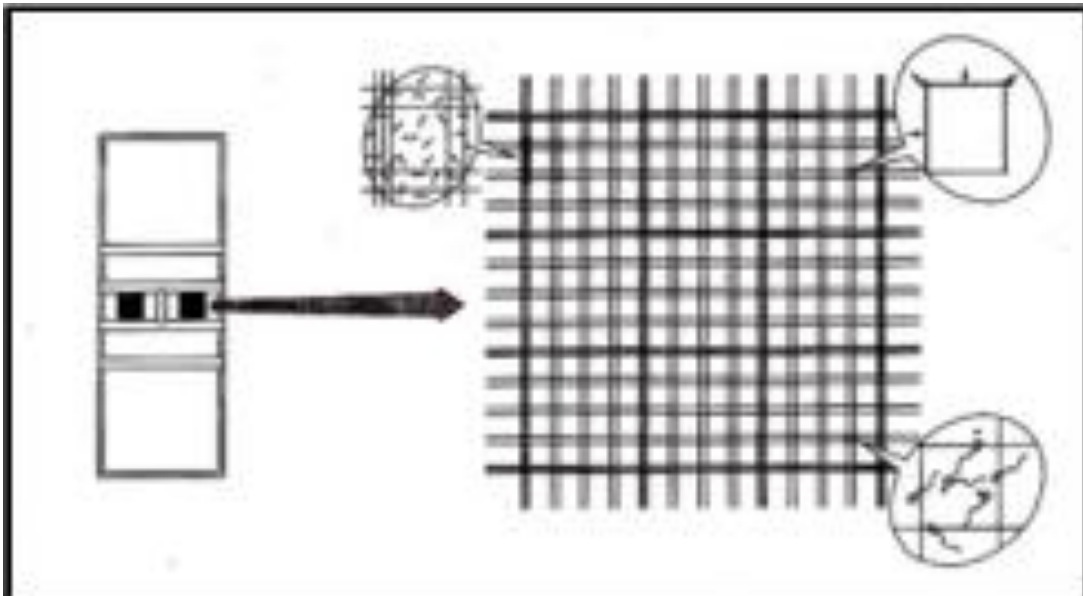
Posto isto a fórmula simplificada para o cálculo do nº total de espermatozoides por ejaculado é:

$$C = V \times A \times 10^7$$

A- nº de espermatozoides em $0,01\text{mm}^3$.

V- volume total de ejaculado.

Figura nº 3 – Detalhe da câmara de Bürker para a contagem de espermatozoides. (Manual de inseminación artificial porcina (s/data) - edita kubus S.A).

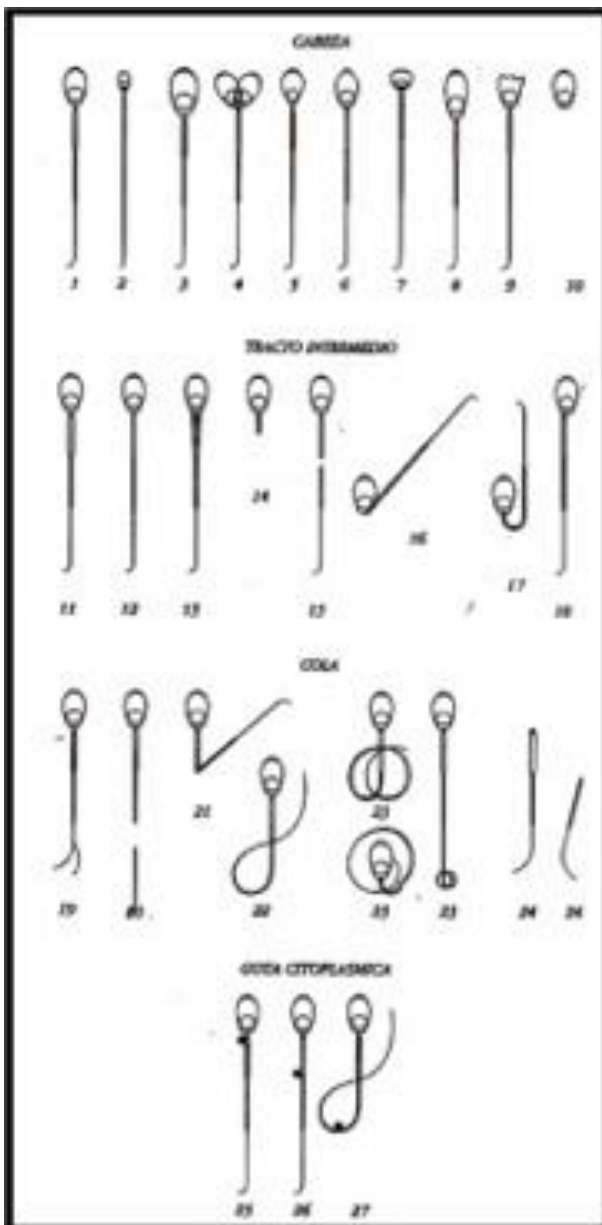


Formas anormais: O cálculo da percentagem de formas anormais pode realizar-se:

- No momento da contagem na câmara de Bürker
- Realizando uma coloração com Azul de metileno ou com Rosa Bengala, e observando com o microscópio as formas anormais existentes em 100 células contadas.
- Fixando uma amostra com solução de citrato-formol e observando num microscópio com contraste de fase as morfoanomalias em 100 células contadas.

As anomalias morfológicas mais comuns são: caudas enroladas, gotas citoplasmáticas proximais e distais e estão ilustradas na figura nº4. (Manual de inseminación artificial porcina (s/data) - edita kubus S.A).

Figura nº 4 – Anomalias morfológicas (Manual de inseminación artificial porcina (s/data) - edita kubus S.A).



Cabeça:

- Normal; 2) Microcabeça; 3) Macrocabeça; 4) Cabeça dupla; 5) cabeça piriforme; 6) cabeça afilada; 7) achatada; 8) cabeça alargada; 9) cabeça desintegrada; 10) cabeça solta;

Tracto médio:

- engrossado; 12) filiforme; 13) duplo; 14) partido; 15) desprendido; 16) flexionado; 17) retorcido; 18) excêntrico;

Cauda:

- dupla; 20) partida; 21) flexionada; 22) em chicote; 23) enovelada; 24) solta;

Gota citoplasmática:

- proximal; 26) distal; 27) distal e cauda em chicote.

3.5.4. Preparação das doses

Preparação do diluidor MRA®

- 1) medir o volume de água destilada a 37° C ;
- 2) adicionar o diluidor necessário para cada litro de água bidestilada;
- 3) misturar durante cinco minutos de forma manual ou com um agitador magnético.

Preparação das doses propriamente ditas

Uma vez o sémen avaliado e dado como apto para a I.A., e conhecendo a sua concentração, passamos a calcular o nº de doses que se podem obter com o ejaculado em questão.

Podemos considerar que a dose mínima recomendada tem uma concentração de cerca de 2×10^9 espermatozóides, no entanto, a concentração mais utilizada e a que foi utilizada neste ensaio é de cerca de 3×10^9 espermatozóides por dose.

Cálculo da dose

$$n^{\circ} \text{ doses} = \frac{n^{\circ} \text{ total espermatozóides}}{(n^{\circ} \text{ espermatozóides / dose})} = \frac{(V \times A \times 10^7)}{3 \times 10^9}$$

A - nº de espermatozóides em 0,01 mm³.

V - volume total de ejaculado.

Antes de misturar o sémen com o diluente escolhido é preciso verificar se não existem diferenças de temperatura entre ambos, de modo a evitar que os espermatozóides sofram um choque térmico. Para adicionar deve verter-se, suavemente, o ejaculado sobre o diluente e não o contrário, permitindo uma mistura homogénea. Uma vez feita a mistura deve fazer-se nova avaliação da motilidade da mesma.

Finalmente procede-se ao enchimento das garrafas-dose que devem ser identificadas com os seguintes dados: nº do varrasco, raça e data de preparação e de validade.

Há que fazer aqui uma ressalva relativamente aos cateteres GEDIS®; antes de proceder ao enchimento destes, que deve ser feito num aparelho próprio que injecta, sobre pressão, a dose já preparada na membrana elástica do cateter, o sémen tem que ser deixado a arrefecer ao abrigo da luz, para que a temperatura desça um pouco e se evite assim que ao introduzir o sémen ainda quente este possa levar a fluidificação do tampão de gel termo-sensível do cateter.

Uma vez preparadas, as doses devem ser mantidas a temperatura ambiente (20-25 °C) durante pelo menos 1,5 a 2 horas, para que a temperatura desça o mais gradualmente possível até atingir a temperatura de conservação de 15° C que será mantida nas estufas de armazenamento (Manual de inseminación artificial porcina (s/data)- edita kubus S.A).

3.5.5. Técnicas de inseminação artificial

A evolução da inseminação artificial tem sido acompanhada do desenvolvimento de diferentes técnicas que podemos dividir de forma grosseira em Inseminação artificial convencional, inseminação intra-uterina no corpo uterino, Inseminação intra-uterina profunda (2/3 dentro do corno uterino) e técnicas cirúrgicas com deposição do sémen directamente no ovário por laparotomia ou laparoscopia (Belstra, 2002; Hafez e Hafez, 2004) . Nesta divisão podemos contar também com várias subdivisões onde se incluem técnicas ligeiramente diferentes umas das outras e que por si só se podiam levar à elaboração de outro trabalho. No entanto, no âmbito deste trabalho só será aprofundado o primeiro tipo, a inseminação artificial dita convencional, pois foi esta a utilizada no ensaio prático elaborado. Neste tipo de inseminação a porção mais externa do cérvix é o local de deposição do sémen (semelhante ao local onde o sémen é depositado no caso de monta natural), embora existam várias técnicas para se proceder a esta deposição.

Existem dezenas de cateteres de inseminação disponíveis no mercado. No entanto não existem muitos estudos que comparem a performance reprodutiva em porcas inseminadas com os diferentes tipos de cateteres. O que foi o objectivo principal deste trabalho.

Os meios económicos e as preferências do pessoal ditam normalmente que tipo de cateter é utilizado em cada exploração, mas independentemente do tipo de cateter utilizado há algumas regras que devem ser cumpridas, em termos de higiene para garantir a saúde do grupo. O equipamento de inseminação não deve ser utilizado em mais do que uma porca dado o risco de transmitir doenças que possam comprometer não só a performance reprodutiva, bem como a própria vida do animal. Este problema é facilmente ultrapassado, visto que hoje em dia a maior parte do equipamento utilizado é descartável. Antes de inseminar, a vulva da porca deve ser limpa ou com uma toalha de papel ou com toalhetes próprios para o efeito, alguns dos quais têm na sua composição desinfectantes não espermicidas, sendo estes a melhor escolha. A extremidade do cateter deve ser lubrificada, com um produto também este não espermicida, antes da inseminação para evitar que se possam provocar lesões no tracto reprodutivo da fêmea que possam comprometer a sua performance ou levar a infecções.

3.5.6. Inseminação artificial “clássica”

Nesta técnica, após a limpeza da vulva e depois de lubrificada a extremidade do cateter este é introduzido através da vulva ligeiramente inclinado para cima e de forma a evitar a uretra. O cateter é então introduzido cuidadosamente através da vagina até se sentir resistência, o que indica que foi atingido o cérvix. Nesta fase as técnicas variam um pouco conforme o tipo de cateter utilizado. Com cateteres tipo “spirette” o cateter deve ser rodado no sentido contrário ao dos ponteiros do relógio até se sentir que este ficou preso no cérvix; depois de completada a inoculação do sêmen o cateter deve ser removido, rodando no sentido dos ponteiros do relógio enquanto se puxa gentilmente o cateter para fora do tracto reprodutivo da porca. Com cateter de ponta esponjosa, a fixação ao cérvix é efectuada pressionando o cateter com alguma firmeza, mas cuidado, a direito até que a ponta esponjosa fique presa no cérvix. Após a I.A., o cateter deve ser removido por tracção suave. Depois do cateter estar fixo ao cérvix, o dispositivo contendo a dose seminal (normalmente garrafa com sêmen mais diluidor) é acoplado à extremidade livre do cateter, nesta altura uma de duas alternativas é possível. A inoculação do fluído seminal pode ser efectuada segundo dois métodos: a) quando as porcas são inseminadas directamente pelo inseminador, sem a utilização de mais nenhum tipo de dispositivo, este deve exercer uma ligeira pressão na garrafa por cerca de 3 a 5 minutos, tendo o cuidado de evitar um excessivo refluxo do sêmen e do diluidor através da vulva; b) quando se usam dispositivos semelhantes a albardas com peso no dorso da porcas, este dispositivo possui uma extremidade em que a garrafa contendo a dose de sêmen pode ser fixa, após isto o fundo da garrafa deve ser furado, permitindo assim que o sêmen flua lentamente por acção da gravidade e das contracções uterinas do animal. Isso aproxima-se do que ocorre na cobertura natural e permite que várias porcas sejam inseminadas ao mesmo tempo. Contudo, os movimentos das porcas nas baias, provocam muitas vezes o desencaixe da garrafa-dose com o cateter ou o estrangulamento do tubo ou mesmo a queda de todo o dispositivo, o que impõe uma vigilância apertada, para evitar este tipo de problemas.

Ocasionalmente a ponta do cateter pode ficar bloqueada contra o tecido do cérvix impedindo que o sêmen flua, nestes casos o cateter deve ser reposicionado. Apesar de não ser essencial para uma inseminação artificial bem sucedida, normalmente esta é muito mais fácil se a fêmea exibir reflexo de imobilização o que é facilitado se a fêmea estiver em contacto com um macho no momento da inseminação. No entanto este contacto deve ser restringindo a poucas porcas de cada vez, uma vez que o reflexo de imobilização exige um grande dispêndio de energia pelo que se não tivermos este cuidado e no caso de grande número de porcas a serem inseminadas, algumas podem ficar fatigadas e consequentemente refractárias ao varrasco antes de serem inseminadas.

Além de induzir o reflexo de imobilização a presença do varrasco, no momento da inseminação leva a que a glândula pituitária da porca liberte ocitocina na corrente sanguínea. A ocitocina provoca, entre outros efeitos, a contracção da musculatura do útero e dos ovidutos. Estas contracções vão fazer com que o sémen flua mais rapidamente para dentro do tracto reprodutivo durante a I.A.. Um efeito semelhante a este pode ser conseguido aplicando uma pressão firme sobre a zona lombar da porca e esfregando o flanco da porca durante a inseminação (Estienne e Harper, 2005).

3.5.7. Inseminação artificial com os novos cateteres GEDIS®

Esta técnica, podendo ainda ser incluída no tipo de inseminação dita clássica devida ao local de deposição do sémen, é uma técnica recente, sendo que só agora começou a estar disponível em Portugal. Nesta técnica não são necessários mais dispositivos que não o próprio cateter e foi desenvolvida de modo a diminuir o tempo por inseminação e a evitar a fadiga dos operadores sem prejudicar as taxas de fecundação.

Ensaio levado a cabo pela empresa que produz estes cateteres (ver site oficial www.genesdiffusion-swine.com) permitiram concluir que, nas I.A. clássica, a fadiga do operador ocorria quando estes inseminavam muitos animais num curto período de tempo. Operadores que inseminavam mais de 10 porcas sem intervalo tinham uma redução na taxa de fecundação de 85% para 78% e aqueles que inseminavam mais de 15 desciam para os 71%.

Reduzindo o tempo que demora cada inseminação reduz-se também a fadiga dos operadores melhorando assim a sua performance. Por outro lado, esta técnica permite a inseminação simultânea de vários animais e uma vez introduzido o cateter o operador fica com as mãos livres, de modo que tem maior liberdade para estimular correctamente as porcas e proceder a uma melhor detecção do cio.

No mesmo site podemos consultar os resultados de um outro ensaio no qual se verificou que a eficácia da inseminação com estes novos cateteres tinha uma taxa de eficácia 2,11% superior às técnicas convencionais e que podiam levar a poupanças de tempo de até 75%. Os factores que podem ser responsáveis pelo aumento da eficácia são: uma melhor higienização do cateter, uma maior consistência reprodutora por reduzir as variáveis do operador no momento da introdução do sémen e por ser mais prático permite que a inseminação seja efectuada no exacto momento em que o cio for detectado.

Nesta técnica o sémen é armazenado no próprio cateter introduzido sob pressão numa membrana colapsável. O sémen é mantido no interior desta graças a um rolhão de gel

sensível à temperatura desenvolvido para derreter à temperatura de 37° C. Uma vez introduzido no tracto reprodutivo o cateter começa a aquecer e quando atinge a temperatura indicada o gel derrete e permite a saída do sémen para dentro do cérvix.

Os cateters GEDIS® , ilustrados na figura nº5, podem ser utilizados em qualquer tipo de instalações em que os cateteres convencionais são utilizados, podem ser utilizados por qualquer tipo de técnicos desde que basicamente treinados para utilizar esta técnica e podem ser utilizados para qualquer raça de suínos.

A técnica de inseminação com estes cateteres apesar de bastante simples apresenta algumas diferenças em relação às técnicas convencionais.

Figura nº 5 – Cateter GEDIS®

Os cateteres cheios devem ser armazenados numa câmara de refrigeração de sémen e devem ser rodados e agitados duas vezes por dia de modo a garantir uma correcta e homogénea suspensão do sémen.



Aquando do momento da inseminação os cateteres devem ser seguros pela extremidade azul que se encontra fora do invólucro

de modo a garantir a higiene do processo, devem ser novamente agitados e depois procede-se a quebra da ponta vermelha no momento em que se abre o invólucro de plástico. De seguida aplica-se uma pequena porção de fluído lubrificante na extremidade evitando depositar o lubrificante no orifício da extremidade. O modo de introdução na vulva da porca é semelhante ao dos outros métodos, ou seja, inclinado ligeiramente para cima de modo a evitar que entre na uretra. Uma vez introduzidos cerca de 10 cm deve ser aplicado o “extensor” na extremidade azul, continuar a empurrar, gentilmente, no sentido cranial, é de salientar que visto o fole de borracha na extremidade ser bastante suave, não se sinta um “thup,thup,thup” que seria de esperar na introdução do cateter no cérvix, caso se usasse uma borracha um pouco mais firme. Não é necessário rodar o cateter aquando da introdução. É normal que a extremidade azul do cateter fique dentro da vulva na fase inicial do processo. Continuar a introduzir o cateter até sentir uma fixação firme e sólida por parte do cérvix. Uma vez introduzido o cateter deve-se remover o “extensor” rodando um quarto de volta de modo a soltá-lo da extremidade azul. Neste momento e se tudo correr bem o cateter deve ter sido introduzido correctamente, de notar que caso, durante a inseminação se verificar um refluxo de sémen é porque o cateter não foi correctamente introduzido e não estava correctamente colocado dentro do cérvix.

Após o processo de introdução a porca relaxar-se-á e o cateter pode deslocar-se ligeiramente para trás para a sua posição “normal”. Em porcas maiores o cateter até pode ser “sugado” mais para o interior e em porcas mais novas é normal que a extremidade posterior fique cerca de 8cm fora da vulva.

À medida que a temperatura da porca aquece a dose de sêmen, também aquece o tampão de gel sensível à temperatura. Quando os 37° C são atingidos este tampão dissolve-se e o processo de inseminação propriamente dito começa. Na maioria das porcas isto demora cerca de 2-3 minutos. Quando a inseminação está completa a membrana do cateter terá encolhido à sua forma original e o balão estará vazio. É aconselhável deixar o cateter alguns minutos mesmo após o fim da inseminação, tempo esse em que o operador poderá estar a proceder à inseminação noutras porcas, de modo a permitir que as contracções uterinas normais puxem o sêmen ainda mais para a frente no tracto reprodutivo (www.genesdiffusion-swine.com , consultado a 15/02/08).

Figura nº 6 – Processo de inseminação com cateteres GEDIS®



A)



B)



C)



D)

Figura nº 6 (Continuação)



E)

Legenda da Figura nº 6: A) Agitar bem o cateter; B) abrir o invólucro plástico; C) partir a ponta vermelha do doseador ; D) inserir o cateter no cervix da porca; E) esperar que a dose aqueça e ocorra a “auto-inseminação”. (www.genesdiffusion-swine.com, consultado a 15/02/08).

3.5.8. Momento da inseminação

O sucesso de um protocolo de inseminação pode ser influenciado pela variação no início do cio após o desmame, na duração do cio e no intervalo entre o início do cio e a ovulação (Hafez e Hafez, 2004). Posto isto, é também fácil perceber que o sucesso de um programa de inseminação depende em grande escala da capacidade do técnico responsável de fazer uma correcta identificação destes momentos.

Devido à grande variabilidade que pode existir nestes parâmetros nas diferentes porcas e marrãs existentes numa exploração é difícil definir um protocolo de inseminação 100% eficaz.

Além disso existem diferenças nos protocolos caso se use sémen congelado em vez do sémen fresco.

De forma geral, o momento ideal para inseminar uma fêmea é antes da ovulação, independentemente da utilização de sémen fresco ou congelado (Bertani, Scheid, Fialho, Rubin, Wentz, Gonçalves, 1997). O ideal é cerca de 24 horas antes da ovulação em porcas e 12 horas antes da ovulação em marrãs (Estienne e Harper, 2005). No entanto se for necessário proceder à inseminação em período pós-ovulatório, é preferível a utilização de sémen congelado em detrimento do sémen fresco. Verificou-se que quando a I.A. era efectuada pós-ovulação com sémen fresco a taxa de viabilidade embrionária diminuía, não se verificando o mesmo para a utilização de sémen congelado. Este efeito deve-se, provavelmente, ao intervalo de tempo necessário para a capacitação do sémen. O intervalo maior, necessário para a capacitação do sémen fresco, associado à I.A. após ovulação,

pode ser prejudicial para a fertilização, resultando em envelhecimento dos oócitos e deficiente viabilidade embrionária (Bertani et al., 1997).

Uma vez que os produtores, pelos métodos tradicionais, não conseguem prever exactamente o momento da ovulação é usual proceder a duas inseminações durante o cio, de modo a garantir melhores resultados (Estienne e Harper, 2005). No entanto, se for possível determinar o momento exacto da ovulação (por exemplo nos casos em que se fazem protocolos de sincronização de cio e de ovulação) uma só inseminação pode garantir resultados tão bons ou melhores (Garcia, 2007).

Há que referir que porcas que tenham menores intervalos desmame-estro (cerca de 4 dias) tendem a ter estros mais longos e ovulam mais tarde, enquanto que porcas com intervalos desmame-estro mais longos (> 5 dias) tendem a ter estros mais curtos e a ovular mais cedo (Garcia, 2007).

Apesar do anteriormente mencionado, foram efectuados estudos que permitiram chegar à definição de protocolos eficazes para inseminação artificial de suínos. Como citado por Hafez e Hafez (2004), Weitze, por meio de ultrassonografia transcutânea de ovários de porcas conseguiu identificar o momento da ovulação em relação ao início do cio em 427 porcas. As recomendações deste autor, em relação ao protocolo de inseminação são:

- 1) Porcas que apresentem um cio prematuro em relação ao desmame: inseminar do segundo e terceiro dias do cio, a cada 12 horas.
- 2) Porcas que apresentem o cio no tempo normal após o desmame: 24 horas após a detecção do cio e uma nas 12 horas posteriores.
- 3) Porcas que apresentam cio tardiamente após o desmame: logo que seja possível após a detecção (Hafez e Hafez, 2004).

Noutro estudo o autor chegou ao protocolo referido na tabela nº1.

Tabela nº 1 – Protocolo de inseminação (Estienne e Harper, 2005).

Frequência de detecção do cio	Melhor momento para inseminar relativamente à primeira detecção do cio:	
	Marrãs	Porcas
Uma x ao dia	0 e às 24 horas	0 e às 24 horas
Duas x ao dia (12 horas de intervalo)	12 e às 24 horas	24 e às 36 horas

Em jeito de conclusão pode afirmar-se que uma inseminação bem sucedida tem apenas que garantir a disponibilidade de sêmen suficiente no oviduto no momento da ovulação. Outros aspectos do protocolo, tais como frequência da inseminação, tempo da inseminação,

quantidade de esperma inseminado ou local da deposição do sémen devem servir apenas para garantir a premissa acima mencionada (Garcia, 2007).

3.5.9. Inseminação com sémen congelado comparativamente ao sémen fresco

Ambos os tipos de doses seminais estão disponíveis no mercado e são utilizadas. Numa abordagem mais superficial pode-se afirmar que o sémen fresco tem a vantagem de poder ser produzido com a utilização de menos meios, ser mais económica a sua produção fazendo com que seja relativamente fácil a uma exploração produzir as suas próprias doses. Sujeitar as células sexuais a menor stress e manipulação, permitir a avaliação do sémen num momento relativamente perto da sua utilização. Como principais desvantagens o sémen fresco possui um tempo de conservação relativamente curto, que, nos dias de hoje e graças ao desenvolvimento de novos diluidores ronda já os 5-6 dias. O sémen congelado apresenta como principal vantagem o facto da sua duração de conservação ser muito superior à do sémen fresco possibilitando, por exemplo, a importação ou exportação de doses de sémen particulares de uma parte do globo para a outra, tornando possível o aumento do pool genético, e o melhoramento genético a uma escala global.

No entanto, no que diz respeito a resultados efectivos, ou seja em termos da fertilidade ambos os tipos apresentam vantagens e desvantagens que têm que ser consideradas e avaliadas. Um estudo realizado no Brasil chegou a conclusões interessantes relativamente às vantagens e desvantagens de cada método. Neste estudo as porcas eram sincronizadas para a ovulação e eram inseminadas com sémen fresco ou congelado, e em dois momentos, antes e após a ovulação. Das suas conclusões destacam-se: que de uma forma geral a I.A. efectuada antes da ovulação apresenta melhores resultados, em termos de número total de embriões, independentemente da utilização de sémen fresco ou congelado. No que diz respeito à percentagem de embriões viáveis, a I.A. com sémen fresco apresenta melhores resultados quando efectuada antes da ovulação, no entanto, relativamente à inseminação com sémen congelado não se verificaram diferenças significativas para I.A. antes ou após a ovulação, para o mesmo parâmetro. Além disto, verificou-se que a I.A. artificial após a ovulação reduzia a viabilidade embrionária independentemente do processamento do sémen. O mesmo estudo chegou também à conclusão de que, caso a inseminação fosse efectuada após a ovulação a percentagem de viabilidade embrionária era maior com a utilização de sémen congelado relativamente ao fresco. Este achado é provavelmente devido ao intervalo necessário para a capacitação do sémen, ou seja, o maior intervalo necessário para a capacitação do sémen fresco, associado à inseminação após ovulação pode ser prejudicial à fertilização, resultando num envelhecimento dos oócitos e numa deficiente viabilidade embrionária (Bertani et al., 1997).

3.6. Métodos de diagnóstico da gestação

É importante saber, tão cedo quanto possível, se uma porca não está em gestação de modo a que possa ser inseminada novamente, tratada ou refugada. Se assim não for podem ser causa de perdas económicas consideráveis (Noakes et al., 2001). Qualquer que seja a técnica utilizada no diagnóstico esta deve ser de utilização possível em fases precoces da gestação e economicamente viável.

Existem vários métodos disponíveis para o diagnóstico de gestação em suínos, que podem ser divididos em quatro grandes grupos: métodos ditos de maneio, métodos clínicos, métodos ultra-sonográficos e métodos laboratoriais. Todas estas técnicas apresentando, como é óbvio as suas vantagens e desvantagens.

3.6.1. Métodos de maneio

Tradicionalmente o não-retorno ao cio entre os 18-22 dias após a inseminação era tido como um sinal de gestação. No entanto a detecção de cio pode ser difícil e levar muito tempo, além de ser um método muito grosseiro e inconsistente. O não retorno ao cio ou a sua não identificação pode dever-se a porcas que por si sejam relutantes em demonstrar os sinais de cio ou a porcas com quistos ováricos.

3.6.2. Métodos clínicos

Palpação trans-rectal. Este método é um método bastante antigo e baseia-se na palpação, através do recto do cérvix, do útero e das artérias uterinas médias. Os detalhes do método são:

- ☒ 0-21 Dias de gestação: O cérvix e o útero são muito semelhantes ao seu estado de diestro, no entanto, durante este período a bifurcação dos cornos uterinos torna-se menos distinta e o útero fica ligeiramente aumentado com as paredes mais moles. A artéria uterina aumenta para aproximadamente 5mm de diâmetro à medida que se aproxima a terceira semana.
- ☒ 21-30 Dias de gestação: A bifurcação dos cornos uterinos é ainda menos distinta, o cérvix e o útero estão aumentados e as suas paredes são finas. A artéria uterina média tem cerca de 5-8mm de diâmetro e é mais fácil de identificar.
- ☒ 31-60 Dias de gestação: o cérvix sente-se como uma estrutura tubular de paredes moles; o útero está mal definido e de paredes muito finas. A artéria uterina média está aproximadamente do tamanho da artéria ilíaca externa. O frémito pode ser identificado inicialmente por volta dos 35-37 dias de gestação e o padrão do pulso pode ser comparado com o da artéria ilíaca externa.

- ☒ 60 Dias até ao termo da gestação: a artéria uterina média fica maior do que a ilíaca externa e com um frémito mais forte. Por esta altura cruza a ilíaca externa mais dorsalmente do que antes. Só perto do final da gestação é possível palpar os leitões ao nível da bifurcação dos cornos do útero.

Esta técnica pode ser efectuada sem grandes necessidades de contenção especialmente se for feita durante a alimentação, no entanto é uma técnica que depende muito da prática e sensibilidade de quem efectua o diagnóstico, não pode ser aplicada a porcas primíparas por serem geralmente muito pequenas e além disto é uma técnica muito menos prática do que técnicas mais modernas tendo por isso caído em desuso. No entanto alguns estudos revelam que a exactidão deste método pode ser superior à ultrassonografia com valores de 97,6% contra os 96,8% respectivamente, o mesmo estudo revela que a capacidade dos testes para detectar os animais não gestantes era mais baixa o que se reflectia em baixa especificidade (Pyörala, 1999).

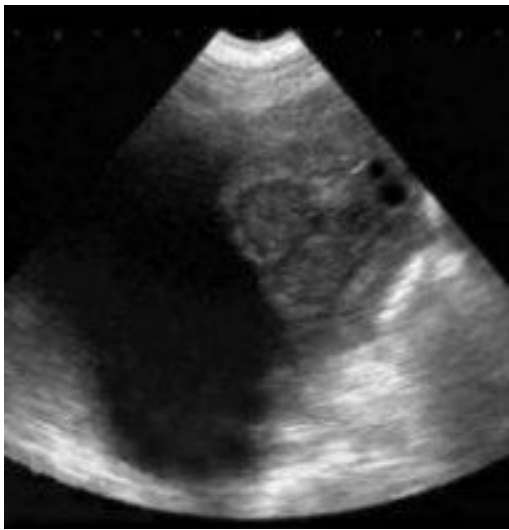
3.6.3. Métodos ultrasonográficos

O uso do detector de pulso fetal (Doppler) para diagnosticar a gestação em porcas foi, pela primeira vez descrito por Fraser e Robertson, este método era feito com recurso a uma sonda rectal e aproximadamente aos 25 dias de gestação. A exactidão deste método é de cerca de 92-100% para porcas gestantes mas de 25-100% para porcas não gestantes.

A ultrassonografia dita de “Modo-A” provou ser mais fiável. Num estudo, envolvendo cerca de 1001 porcas e usando uma sonda externa de 2MHz registaram-se os 99% de certeza no diagnóstico de porcas gestantes e cerca de 98% no diagnóstico de porcas não gestantes. Estes resultados foram obtidos entre os 30 e 90 dias de gestação, sendo que resultados menos fiáveis foram obtidos antes dos trinta dias.

A ultrassonografia em modo-B provou ser muito eficaz em porcas. A sonda é aplicada à parede abdominal, estando esta em estação durante o exame, cerca de 5 cm caudalmente ao umbigo, para a direita da linha média imediatamente lateral aos tetos da porca sendo que a sonda deve ser dirigida em direcção ao abdómen caudal, as imagens obtidas deverão ser semelhantes às da figura nº 7. Estudos efectuados com este método revelaram cerca de 100% de eficácia no diagnóstico de porcas não gestantes e cerca de 99% no diagnóstico de porcas gestantes entre os 24 e os 37 dias de gestação (Noakes et al., 2001). Este é o método mais prático em termos de ultrassonografia e, muito provavelmente, apesar de não ter sido possível recolher dados oficiais acerca desta afirmação, o mais utilizado actualmente na produção de suínos.

Figura nº 7 - Imagens de diagnóstico de gestação por ecografia:



A)



B)

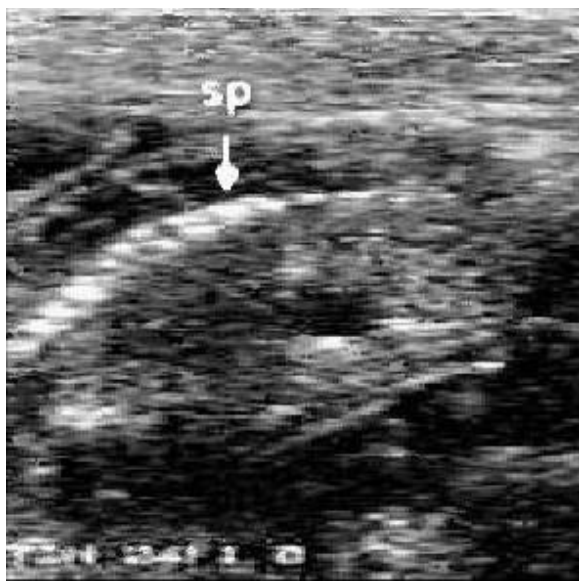


C)



D)

Figura nº 7 (Continuação)



E)

Legenda da figura nº 7:

A) aos 18 dias;

B) 20 dias;

C) 22 dias;

D) 23 dias;

E) 70 dias,

sp- coluna vertebral

(www.esaote-piomedical.com,

consultado a 10/04/2008).

3.6.4. Métodos laboratoriais:

Biópsia vaginal

A avaliação histológica do número de camadas de epitélio estratificado da mucosa vaginal, obtida por biópsia pode ser utilizada como método de diagnóstico de gestação em porcas. A exactidão deste método, aplicado entre os 30 e os 90 dias, ronda os 90%. Aplicado entre os 18 e os 22 dias após a inseminação é de 97% para diagnóstico de gestação e de 94% no caso de não gestação. O diagnóstico depende do número de camadas de células do epitélio vaginal; posto isto, durante o pro-estro, quando os estrogénios dominam, ocorre uma rápida proliferação do estrato germinativo pelo que ao estro há mais de 20 camadas de células. Após o estro, e durante a fase luteínica do ciclo, quando domina a progesterona, a espessura do epitélio vaginal diminui, de tal modo que ao 11^o-12^o dia só existe três ou quatro camadas celulares e apenas duas ou três no diestro tardio. Caso ocorra gestação o predomínio da progesterona continua e por volta do 26^o dia a imagem histológica típica é a de duas camadas de células paralelas com núcleos escuros e condensados. Amostras recolhidas, erradamente, da vagina posterior ou do cérvix não servem para o diagnóstico. Apesar desta técnica ser bastante satisfatória tem duas grandes desvantagens, o custo da técnica e o tempo que demoram quer a técnica em si, quer os resultados (Noakes et al., 2001). Por isto é fácil perceber que seja muito pouco aplicada na prática.

Aferição da progesterona plasmática

Uma vez que, após o 16º dia em porcas não gestantes e cíclicas, há um declínio da concentração de progesterona no sangue, a aferição da concentração desta hormona após este dia pode também servir de indicador de gestação. Estudos demonstraram que este método pode ter eficácia na ordem dos 96% e que valores acima dos 7,5ng/ml são indicadores de gestação. Os autores indicam no entanto que este método é mais fiável para diagnosticar porcas não gestantes do que gestantes (Noakes et al., 2001).

No entanto a recolha das amostras torna este método muito pouco prático e pouco aplicado.

Outros estudos consultados apontam a medição de estrogénios nas fezes através do método ELISA como uma boa ferramenta no diagnóstico de gestação. Os testes elaborados com base na concentração de estrona nas fezes (E1) revelaram ter uma sensibilidade (correcto diagnóstico de gestação) na ordem dos 96,5% e uma especificidade (correcto diagnóstico de não-gestação) na ordem dos 93,5 %, usando como valor de referência os 3,65 ng E1/g de fezes. O mesmo estudo chegou às conclusões de que para o diagnóstico com base na ultrassonografia os valores para a sensibilidade e para a especificidade eram de 99,3% e de 92,5%, respectivamente. Apesar de terem verificado, no estudo mencionado, que os valores para E1 aumentaram em proporção com o tamanho das ninhadas, não foi, no entanto possível, estabelecer uma relação directa entre estes dois parâmetros, ou seja, que as concentrações E1 não podem ser usadas para prever o tamanho das ninhadas. Como conclusão final deste estudo pode aferir-se que as concentrações E1 em ambas gestantes e não-gestantes oferecem uma base sólida para o desenvolvimento de um teste de gestação simples e eficaz (Vos, van Oord, Taverne, Kruij, 1999).

4. Materiais e métodos

Este estudo decorreu nas instalações suinícolas da Vale Henriques SA.-sociedade agro-pecuária, situadas em Casais do Regedor- Azambuja, entre os meses de Outubro de 2007 e Março de 2008.

4.1. Animais

O grupo de estudo foi constituído por 4 porcas primíparas e 87 porcas múltíparas das raças Landrace e Largewhite de linhagem pura, com origem na exploração, sanitariamente controladas e consideradas indemnes de doenças infecto-contagiosas. O grupo de estudo aparece esquematizado na tabela nº 2. A idade das porcas era variável.

Algumas eram primíparas enquanto outras chegavam às 9 barrigas, sendo a média de 6,6 barrigas.

Os varrascos intervenientes no estudo eram também eles de raça pura Landrace e Largewhite, tinham origem na exploração e eram sanitariamente controlados e considerados indemnes de doenças infecto-contagiosas

Tabela nº 2- Distribuição das porcas do ensaio com base no nº de partos e na sua raça.

Nº de partos	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
	lw	lr	lw	lr	lw	lr	lw	lr	lw	lr	lw	lr	lw	lr	lw	lr	lw	lr
Nº de porcas	4	0	9	0	2	0	1	0	5	0	5	0	10	5	41	2	8	0

lw – Largewhite

lr – Landrace

4.2. Instalações

O ensaio decorreu na exploração mencionada acima. As instalações onde as porcas permaneceram durante a gestação podem ser divididas em dois tipos. Após a inseminação as porcas permaneceram na unidade, dita de gestação, até ao diagnóstico de gestação ou até nova entrada em cio e respectiva re-inseminação. Esta unidade era constituída por baias individuais com 2,10 m de comprimento por 0,58 m de largura, providas de um alimentador automático, também este individual e com um bebedouro comum com água sempre disponível. O pavimento era em cimento sendo que na sua parte posterior era constituído por grelhas de cimento para escoamento das fezes e da urina. Durante esta fase as porcas foram alimentadas, diariamente, com cerca de 4 kg de alimento composto para porcos indicado para esta fase produtiva, havendo pequenas variações com base na condição corporal.

Após diagnóstico positivo, geralmente em torno do 25º dia, as porcas foram transferidas para parques cobertos, preferencialmente em grupos. Esses parques tinham o pavimento em cimento e algumas áreas com grelhas para o mesmo efeito de escoamento. Nestes parques encontravam-se cerca de 50 animais, para uma área de aproximadamente 76 m². Os animais eram alimentados num alimentador automático do tipo “walk- trough” e tinham bebedouros automáticos distribuídos pelo parque. Durante esta fase foram alimentadas diariamente com cerca de 2,8 kg de alimento composto para porcos. Aqui as porcas permaneciam até cerca do 110º dia, sendo posteriormente transferidas para as salas de parto onde permaneciam até ao parto e durante o aleitamento.

4.3. Maneio alimentar e reprodutivo das porcas em ensaio

Tendo em conta os objectivos deste trabalho, e no que diz respeito às porcas, durante o decurso do estudo foram sujeitas ao maneio habitual desta exploração. O método utilizado para a sincronização de cio foi o desmame. As porcas foram desmamadas à sexta-feira, sendo o diagnóstico de cio iniciado na terça-feira seguinte. Para detecção de cios, as porcas eram sujeitas à presença do varrasco diariamente. A identificação das porcas em cio baseou-se em sinais comportamentais, nomeadamente o reflexo de imobilização e roncar característico e com base em parâmetros físicos, cor da vulva e presença de muco. Após a detecção de cio as porcas foram divididas em 3 grupos de número igual e eram inseminadas o mais precocemente possível, com um dos 3 diferentes métodos, método clássico individual, método clássico com albarda ou pelo novo método com os cateteres GEDIS® descritos na revisão bibliográfica. Pretendia-se assim excluir o efeito do dia da inseminação e o efeito do varrasco, visto que as porcas eram inseminadas no mesmo dia e com sémen do mesmo varrasco (consoante a raça). No dia seguinte à primeira inseminação as porcas foram inseminadas novamente, sempre pelo método inicial. Após a inseminação as porcas permaneceram estabuladas nas baias onde foram alimentadas individualmente em alimentadores automáticos até se proceder ao diagnóstico de gestação por ultrassonografia, que foi efectuado ao 25º dia após a inseminação, sendo, em caso positivo, mudadas para parques com cerca de 50 animais. Nestes parques foram alimentadas num alimentador automático do tipo “walk-through” até cerca do 110º dia de gestação, quando eram mudadas novamente, desta vez para as maternidades onde permaneciam até ao parto e, consecutivamente, durante o aleitamento (28 dias).

4.4. Maneio alimentar e reprodutivo dos varrascos usados

Os varrascos usados no ensaio como reprodutores estavam alojados em instalações adjacentes ao laboratório onde eram feitas as colheitas e as avaliações da qualidade do sémen. Estavam alojados em varrasqueiras individuais com cerca de 9 m² e foram alimentados diariamente pelo tratador com 3 kg de alimento composto para porcos.

As colheitas de sémen foram feitas segundo um esquema bissemanal em que numa semana o varrasco saltava à segunda e à quinta (duas colheitas) e na semana seguinte só saltava à segunda (uma colheita). O sémen foi processado e avaliado no laboratório da própria exploração, pelos métodos que foram os descritos na revisão bibliográfica.

4.5. Tempo de inseminação

O tempo de inseminação foi definido como o tempo que decorria entre o iniciar da inseminação propriamente dita, ou seja desde o início da introdução dos cateteres na vulva da porca até ao iniciar da inseminação na porca seguinte. Para melhor reflectir o tempo real foi obtida a média de pelo menos três inseminações consecutivas.

4.6. Refluxo

O refluxo foi definido e avaliado segundo uma escala numérica, de 0 a 4, sendo 0 a ausência de refluxo e 4 a expulsão da “totalidade” da dose utilizada, o que incluía o refluxo de sémen durante e imediatamente após a inseminação. A avaliação foi sempre efectuada pela mesma pessoa, a mesma que procedia à inseminação.

4.7. Condição corporal

A condição corporal das porcas à inseminação foi determinada, por exame visual e classificada numa escala de 0 a 5, sendo o 0 utilizado para porcas extremamente magras e o 5 para porcas extremamente gordas. O exame foi em todos os casos efectuada pela mesma pessoa após o procedimento das inseminações.

4.8. Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação era feito com base em ultrassonografia trans-abdominal e mediante a observação das vesículas embrionárias ao 25^o dia após a inseminação, o ecógrafo utilizado foi um Tringa50 da ESAOTE Pie Medical, com uma sonda linear variável entre os 5 e os 7,5 Hz, em modo B.

4.9. Análise estatística

A fertilidade foi analisada utilizando o Proc GENMOD do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC) e um modelo logístico incluindo os efeitos do método de inseminação, da condição corporal, do varrasco, do número de parto e suas interações. Esta análise permitiu calcular a probabilidade de gestação, equivalente à taxa de fertilidade, para cada método de inseminação artificial.

A prolificidade foi analisada utilizando o Proc GLM do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC) e um modelo incluindo os mesmos efeitos referidos para a análise da fertilidade. Também e pelas mesmas razões, manteve-se apenas no modelo final de análise o efeito do método de inseminação.

Não sendo significativos ($p > 0.05$) os efeitos da condição corporal, do varrasco, do número de parto e das interações foram retirados do modelo final de análise, mantendo-se apenas o efeito do método de inseminação que, apesar de não ser significativo, constituía o motivo de realização deste trabalho.

5. Resultados

Nas tabelas nº 3 e nº 4 estão apresentados os resultados obtidos na análise de dados de fertilidade e prolificidade.

Tabela nº 3 - Efeito do método de inseminação na fertilidade das porcas.

Método	n	Fertilidade (%)
A	30	82.8
B	28	89.2
C	34	73.5
Total	92	

$$X^2 = 2,62; p = 0,270$$

Método A- I.A. "clássica"; Método B- I.A. com albardas; Método C- I.A. com novos cateteres GEDIS®.

Tabela nº 4 - Efeito do método de inseminação na prolificidade das porcas.

Método	n	Prolificidade ± EP
A	22	11,6 ± 0,711
B	19	9,8 ± 0,765
C	19	10,7 ± 0,765
Total	60	

$$p = 0,235; R^2 = 0,050; DPR = 3,335$$

Método A- I.A. "clássica"; Método B- I.A. com albardas; Método C- I.A. com novos cateteres GEDIS®.

6. Discussão

Os resultados obtidos no ensaio em relação à fertilidade foram os mencionados nas tabelas nº2 e nº3. Estes valores são próximos dos valores de referência estimados em 88% (Cardoso, comunicação pessoal) à excepção do método C que obteve resultados mais baixos. O ensaio permitiu determinar que, tendo em conta as condições do ensaio, o método de inseminação utilizado não influencia significativamente os resultados, no que diz respeito à fertilidade dos animais estudados.

Em relação à prolificidade os resultados obtidos foram de $11,6 \pm 0,711$ para o método A (método clássico), $9,8 \pm 0,765$ para o método B (das albardas) e $10,7 \pm 0,765$ para o método C (cateteres Gedis). Estes valores, em traços gerais, são um pouco mais baixos do que os valores de referência estimados para estas raças, 10,9-11 para os Landrace e 12,5-13 para os Largewhite (Cardoso, comunicação oral). Também para este parâmetro, o método de inseminação não revelou ter influência significativa sobre estes resultados.

Assim sendo, a opção por qualquer dos métodos utilizados deve ser feita tendo em conta outros factores que não a maior ou menor fertilidade e prolificidade, como por exemplo, os custos de cada método, os níveis de formação e sensibilidade do pessoal que procede à inseminação, as poupanças em termos de tempo e a gestão de tarefas dentro de cada exploração.

Quanto ao facto do número total de porcas que serviram de base ao cálculo da fertilidade (92), ter sido diferente do usado no cálculo da prolificidade (60) deve-se ao facto de que no decorrer do ensaio morreram 7 animais já após efectuado o diagnóstico de gestação ao 25º dia e que das restantes, 25 tiveram problemas de mortalidade embrionária. Estes casos podem dever-se, muito provavelmente, ao facto das porcas serem transferidas das baias individuais, para os parques cobertos onde os níveis de stress e agressão são muito maiores, aos 26-27 dias de gestação o que é um valor tardio demais para que as porcas passem pelo período de stress antes que decorra a implantação dos embriões (van Wettere et al., 2008) e muito precoce para que a implantação seja suficientemente forte para resistir às agressões e ao stress.

Quanto ao tempo de inseminação, e tendo em conta o método, verificaram-se diferenças importantes. Método A- 5 min e 23 s , método B- 5 min e 46 s, método C- 1 min e 32 s. Este é o tempo que um funcionário despende com cada animal inseminado. Tendo em conta os elevados níveis de produção requeridos para uma exploração vingar neste sector actualmente, estas diferenças podem ter um reflexo importante no que toca a custos e rendimentos de uma exploração e são sem sombra de dúvida um critério a ter em conta na escolha do método de inseminação utilizado.

Um funcionário que esteja a inseminar os animais não pode estar a proceder a outros trabalhos. Fazendo uma análise um pouco grosseira podemos afirmar que um funcionário ganha em média 6,25 euros à hora e que em média procede a 600 inseminações por mês numa exploração destas dimensões. Posto isto e fazendo as contas aos diferentes métodos é fácil perceber que ao fim do mês uma exploração poderia poupar 250 euros que ao fim de um ano dá 3000 euros, se optasse pelo método mais rápido. No entanto é preciso também ter em conta os custos de cada método mas aí as variáveis são maiores e não vão ser aqui discutidas.

Além destes parâmetros foram avaliados também a condição corporal à inseminação, o varrasco utilizado e o número de partos que a porca já tivera; estes parâmetros saíram do objectivo principal deste trabalho tendo sido avaliados a título meramente de curiosidade. Verificou-se, tendo em conta o procedimento do ensaio, que nenhum destes parâmetros influenciava significativamente os resultados da fertilidade ou da prolificidade das porcas. Estes resultados contrariam alguma da bibliografia existente acerca deste tema (Koketsu e Dial, 1998; Foxcroft et al., 2007; Tummaruk, Tantasuparuk, Techakumphu, Kunavongrit 2007) principalmente acerca do número de partos e à condição corporal.

No que diz respeito ao número de partos as diferenças podem ser devidas ao baixo número de porcas estudadas ou então devido à distribuição irregular do número de partos, nas porcas ensaiadas, sendo que o número de porcas abaixo dos cinco partos era muito inferior ao número de porcas com mais de sete partos, factor que impossibilita outro tipo de conclusões.

O mesmo se aplica à condição corporal, podendo explicar as contradições existentes, ou seja, o número de porcas e a distribuição dos valores da condição corporal não permitiram mais conclusões.

Quanto ao efeito do varrasco não ser significativo, pode ser facilmente explicado pelo facto de todos os varrascos terem sido seleccionados desde muito jovens e de serem avaliadas as suas performances reprodutivas semanalmente, garantindo que estas são as melhores possíveis, sendo que o objectivo é mesmo esse, de garantir que a qualidade do varrasco não influencie negativamente a produção/ rendimento da exploração.

7. Conclusões

A inexistência de estudos deste tipo, em que se comparam diferentes métodos de inseminação em condições o mais próximo possível das condições de utilização habitual é uma realidade, tendo em conta que actualmente, a maior parte das cobrições neste sector é efectuada por inseminação artificial e considerando as dimensões do sector é fácil compreender a necessidade de se efectuarem estudos que permitam caracterizar esses métodos. Os valores determinados neste trabalho não podem ser utilizados como valores absolutos para os parâmetros avaliados, uma vez que o número de animais não foi o ideal. Sobressaindo assim a necessidade de completar este estudo com mais dados relativos a este tema.

No que diz respeito aos valores obtidos para as taxas de fertilidade e prolificidade, e tendo em conta as condições do ensaio, pode-se afirmar que as diferenças nestes parâmetros não se devem aos métodos de inseminação utilizados.

Quanto ao tempo, ficou provado que o método de inseminação com os novos cateteres GEDIS permite uma poupança de tempo grande, libertando os funcionários para procederem ao desempenho de outras funções dentro da exploração. Além disto, a utilização destes novos cateteres permite a redução de grande parte dos erros humanos no processo de inseminação artificial. Ou seja, com estes cateteres o técnico só tem que proceder a uma correcta introdução do cateter no cérvix da porca e esperar que a própria porca proceda ao resto do trabalho de um modo muito fisiológico. Além disto evita o cansaço provocado pelo desempenho de uma tarefa repetitiva que leva muitas vezes a que na ânsia de se livrar desta função proceda a inseminações menos correctas, mais à pressa e sem os cuidados necessários.

Quanto aos outros parâmetros tidos em consideração não foi possível estabelecer uma relação entre eles e os resultados dos parâmetros reprodutivos.

Em modo de conclusão posso afirmar que a principal ilação a tirar deste ensaio é que na escolha de determinado método de inseminação não podemos considerar apenas este ou aquele parâmetro, mas devemos proceder a uma avaliação global e dirigida a determinada exploração. É preciso considerar os custos de cada método, os parâmetros reprodutivos, as dimensões e a capacidade económica da exploração, os níveis de formação do pessoal, os níveis de sensibilidade e disponibilidade do pessoal para a aprendizagem de novas técnicas, o número de inseminações a efectuar, entre outros. No entanto este trabalho pode ser uma ferramenta útil aquando do momento da escolha, a mais não ser pelas questões que possa ter levantado, e pode ser um modelo útil para servir de base à elaboração de novos estudos nesta área.

8. Bibliografia

- Anónimo (s/data). *Manual de inseminación artificial porcina*. Kubus S.A. Madrid
- Bates R.O, Edwards D.B, Korthals R.L, (2003). Sow performance when housed either in groups with electronic sow feeders or stalls. *Livestock Production Science* 79:29-35.
- Belstra B.A. (2002). Review: Intrauterine (Transcervical) and Fixed-Time artificial insemination in swine. College of agricultural and Life sciences- Annual Swine Report 2002.
- Bertani G.R, Scheid I.R, Fialho F.B, Rubin M.I.B, Wentz I, Gonçalves P.B.D. (1997). Effect of the time of artificial insemination with frozen-thawed or fresh semen on embryo viability and early pregnancy rate in gilts. *Theriogenology* 48: 933-945.
- Brassley P.(2007). Cutting across nature? The history of artificial insemination in pigs in the United Kingdom. *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 38: 442-461.
- Cardoso J.J.A (2007). A história da inseminação artificial em Portugal. *Suicultura – Revista da Federação Portuguesa de Associações de suicultores* 76: 92.
- Day B.N. (2000). Reproductive biotechnologies: current status in porcine reproduction. *Animal Reproduction Science* 60-61(2000)161-172.
- Estienne M.J. e Harper A.F. (2005). Using Artificial Insemination in Swine Production: Detecting and Synchronizing Estrus and Using Proper Insemination Technique. Virginia Cooperative extension, publicação 414-038.
- Foxcroft G.R, Vinsky M.D, Paradis F, Tse W.Y, Town S.C, Putman C.T, Dyck M.K, Dixon W.T (2007). Macroenvironment effects on oocytes and embryos in swine. *Theriogenology* 68S: S30-S39.
- Garcia J.C. (2007). Effect of sperm numbers and time of insemination relative to ovulation on sow fertility. *Animal Reproduction Science* 100: 397-401.

GEDIS The “All-in-one” AI Catheter, disponível em [http:// www.genesdiffusion-swine.com](http://www.genesdiffusion-swine.com) ,
consultado a 15/02/08

Gerrits R.J, Lunney J.K, Johnson L. A, Pursel V.G, Kraeling R.R, Rohrer G.A, Dobrinsky J.R
(2005). Perspectives for artificial Insemination and genomics to improve global swine
populations. *Theriogenology* 63: 283-299.

Hafez B e Hafez E.S.E (2004). *Reprodução Animal*. Sétima edição. Editora Manole Ltda
(Brasil).

Harris M.J, Pajor E.A, Sorrels A.D, Eicher S.D, Richert B.T, Marchant-Forde J.N.(2006).
Effects of stall or small group gestation housing on the production health and
behaviour of gilts. *Livestock Science* 102: 171-179.

Hühn U, Jöchle W, Brüßow K.P. (1996). Techniques developed for the control of estrus,
ovulation and parturion in the East German Pig Industry: A review. *Theriogenology*
46: 911-924.

Koketsu Y, Dial G.D, King V.L.(1996). Returns to service after mating and removal of sows
for reproductive reasons from commercial swine farms. *Theriogenology* 47(7):1347-
1363.

Koketsu Y, Dial G.D (1998). Interactions between the associations of parity, lactation length,
and weaning-to-conception interval with subsequent litter size in swine herds using
early weaning. *Preventive Veterinary Medicine* 37: 113-120.

Maes D.G.D, Janssens G.P.J, Delputte P, Lammertyn A, de Kruif A. (2004). Back fat
measurements in sows from three commercial pig herds: relationship with
reproductive efficiency and correlation with visual condition scores. *Livestock
Production Science* 91: 57-67.

Monteiro M.H.G.V. (1999). Aspectos reprodutivos de fêmeas da raça suína alentejana.
Dissertação de Mestrado em Produção Animal- Universidade Técnica de Lisboa,
Faculdade de Medicina Veterinária.

Noakes D.E, Parkinson T.J, England G.C.W. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and
Obstetrics*. Oitava edição. Saunders.

- Pérez e Pérez F.(1985). *Reproduccion Animal, Inseminacion Artificial y Transplante de embriones*. Segunda edição. Editorial científico-médica.
- Perry E.J. (1968). *The artificial insemination of farm animals*. Rutgers University
- Pyörala S (1999). Pregnancy diagnosis in swine by palpation and by amplitude-depth ultrasound scanning. *Theriogenology* 31:1067-1073
- Singleton W.L.(2001). State of the art in artificial insemination of pigs in the United States. *Theriogenology* 56: 1305-1310
- Sterle J. e Safranski T.(s/ data). *Artificial Insemination in Swine: Breeding the Female*. Agricultural MU Guide- University of Missouri-Columbia.
- Tummaruk P, Tantasuparuk W, Techakumphu M, Kunavongrit A. (2007). Age, body weight and backfat thickness at first observed oestrus in crossbred Landrace X Yorkshire gilts, seasonal variations and their influence on subsequent reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 99: 167-181.
- Van Wettere W.H.E.J, Pain S.J, Stott P.G, Hughes P.E. (2008). Mixing gilts in early pregnancy does not affect embryo survival. *Animal Reproduction Science* 104: 382-388.
- Vos E.A, van Oord R, Taverne M.A.M, Kruijff Th.A.M. (1999). Pregnancy diagnosis in sows: Direct ELISA for estrone in feces and its prospects for an on-farm test, in comparison to ultrasonography. *Theriogenology* 51: 829-840.