



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**ANÁLISE DO POTENCIAL EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO PLASMA SEMINAL
SINTÉTICO NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL DA PORCA REPRODUTORA**

Andreia Filipa da Silva Oliveira

Coimbra, Dezembro 2016



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**ANÁLISE DO POTENCIAL EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO PLASMA SEMINAL
SINTÉTICO NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL DA PORCA REPRODUTORA**

Coimbra, Dezembro 2016

Andreia Filipa da Silva Oliveira
Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Prof. Doutor Manuel Sant'Ana
Escola Universitária Vasco da Gama

Orientador Interno

**Prof. Doutora Rosa Lino Neto
Pereira**
Escola Universitária Vasco da Gama

Prof. Doutora Ana Calado
Escola Universitária Vasco da Gama

Orientador Externo
Dr. José Júlio Alfaro Cardoso
Carreira da Cunha

Dissertação do estágio curricular do ciclo de estudo conducente
ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG

Resumo:

A inseminação artificial (IA) é uma tecnologia de reprodução assistida, frequentemente utilizada na produção de suínos. No entanto, com a aplicação desta técnica, o efeito macho é reduzido não havendo estimulação da porca reprodutora por parte do varrasco. Ainda na IA, há redução do volume de plasma seminal pois este é rejeitado quando ocorre a recolha de sémen, podendo a sua ausência influenciar a produtividade reprodutiva da porca.

O objetivo do trabalho foi verificar se a utilização prévia à IA do plasma seminal sintético Predil MR-A[®] influencia o desempenho reprodutivo da porca. Para tal dividiu-se a amostra em dois grupos com 69 porcas cada. No grupo tratado fez-se uma administração intrauterina de 30 ml do plasma seminal sintético e, em seguida, a inseminação com uma dose de sémen de 80 ml com 3×10^9 espermatozoides. No outro grupo (controlo) fez-se a administração intrauterina de 30 ml de diluidor MR-A[®] e, em seguida, a inseminação da dose de sémen com volume e concentração idênticas. Os parâmetros analisados foram a fertilidade, nados vivos, nados mortos, nados mumificados e nados totais.

Os resultados obtidos mostraram que o uso do plasma seminal sintético (PSS) não influenciou ($p > 0.05$) o desempenho reprodutivo da porca. Contudo o mês de parto influenciou o número de nados totais e de nados vivos ($p < 0.01$) que foi superior no mês de Janeiro. Igualmente, a paridade das porcas teve um efeito significativo ($p < 0.01$) no número de leitões nascidos mortos que aumentou 0.198 por cada parto a mais. A fertilidade não foi influenciada por nenhum dos efeitos estudados, observando-se valores muito semelhantes nos dois grupos (controlo: 94.03% vs. tratado: 94.12%).

Palavras-chave: Inseminação artificial, Plasma seminal, Plasma seminal sintético, Reprodução, Sémen, Suíno

Abstract:

Artificial insemination (AI) is an assisted reproductive technology frequently used in swine production. However, by applying this technique, the male effect is reduced and there is no stimulation of the sow by the breeding boar. In addition, in AI, there is the reduction of seminal plasma volume as it is rejected during the collection of semen. The productivity of the sow can be influenced by this absence.

The aim of the work was to determine whether the use of synthetic seminal plasma Predil MR-A[®] prior to IA has an influence in the reproductive performance of the sow. For that, the sample was divided into two groups of 69 sows each. In the treated group, intrauterine administration of 30 ml of synthetic seminal plasma was done, followed by the insemination of the semen dose 80 ml, whose concentration was of 3×10^9 spermatozoa. In the other group (control) an intrauterine administration of 30 ml MR-A[®] extender was made, followed by the insemination of an identical sperm dose in volume and concentration. The analyzed parameters was fertility, live births, stillbirth, borns mummified and total births.

The analysis of the results showed that the use of synthetic seminal plasma (SSP) didn't affected ($p > 0.05$) the reproductive performance of the sow. However, the delivery month interfered in the number of total births and live births ($p > 0.01$), which was higher in January. Likewise, the parity of sows had a significant effect ($p > 0.01$) in the number of stillbirths piglets born, which increased 0.198 per each delivery. Fertility was not influenced by the studied parameters. The observed values were very similar in both groups (control: 94.03% vs. treated: 94.12%).

Key words: Artificial Insemination, Seminal Plasma, Synthetic Seminal Plasma, Reproduction, Semen, Swine

Aos meus pais pelo carinho e apoio incondicional.

Aos meus irmãos pelo apoio e incentivo.

Ao meu namorado pelo apoio, carinho e compreensão.

Aos meus amigos que estiveram sempre presentes em todas as fases.

Agradecimentos:

À minha orientadora, Prof. Doutora Rosa Lino Neto Pereira, por ter aceite percorrer esta jornada comigo. Agradeço toda a disponibilidade, compreensão e ajuda na elaboração desta tese. Pelo profissionalismo, competência e prontidão, o meu muito obrigado.

À minha coorientadora, Dr.^a Elisabete Gomes Martins, pela enorme paciência, incentivo, disponibilidade e ainda pelas valiosas orientações durante a realização da dissertação.

Ao Dr. Alfaro Cardoso por me ter aceite como estagiária, pela confiança que me depositou e o enorme incentivo que me deu. Agradeço ainda toda a simpatia e à vontade com que me colocou, para além de todo o conhecimento e experiência que me transmitiu.

Ao Prof. Doutor Nuno Carolino pela disponibilidade, compreensão, profissionalismo, pela elaboração do tratamento estatístico da minha dissertação de mestrado, o meu muito obrigado.

Ao Dr. Xavier por toda a ajuda, incentivo, confiança depositada, foi crucial na minha integração. Agradeço todo o conhecimento e experiência que me transmitiu.

Ao arquiteto Aldo por permitir que o meu estágio tenha tido lugar na Herdade do Ramalhão.

Ao meu colega de estágio Diogo e à D. Noémia pela experiência e simpatia.

À Bárbara, Elsa, Rodolfo, Ana, Luís e o Pedro por sempre estarem comigo desde o início deste percurso, pela amizade e companheirismo.

Índice Geral

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Índice de Gráficos.....	vi
Índice de Tabelas.....	vii
Lista de Abreviaturas.....	viii
1. Introdução.....	1
2. Materiais e Métodos.....	2
2.1. Caracterização da exploração/Amostra.....	2
2.2. Maneio reprodutivo.....	2
2.3. Análise Estatística.....	3
3. Resultados.....	4
4. Discussão.....	6
5. Conclusão.....	9
6. Referências Bibliográficas.....	10
7. Anexos.....	12
7.1. Casuística.....	12
7.2. Procedimentos na Inseminação Artificial Pós-cervical associada ao uso de Predil MR-A [®]	13

Índice de Gráficos:

Gráfico 1 – Distribuição da amostra por paridade das porcas.

Gráfico 2 - Número de leitões nascidos mortos segundo o número de partos da porca.

Índice de Tabelas:

Tabela 1 - Valores médios dos parâmetros observados no grupo controle e no grupo tratado.

Tabela 2 - Resultados da análise de variância da prolificidade.

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos \pm erro padrão do número de leitões nascidos vivos e número total de leitões nascidos segundo o efeito do mês de partos.

Tabela 4 - Análise da Fertilidade dos Grupos Controle e Tratado.

Lista de Abreviaturas:

BEA – Bem-estar animal

DP – Desvio padrão;

E. coli – *Escherichia coli*;

GC – Grupo controlo;

GT – Grupo Tratado;

IA - Inseminação artificial;

IC – Intervalo de confiança;

IU – Intrauterina;

IAPC – Inseminação artificial pós-cervical;

Id.semen – Idade sémen;

IDC – Intervalo desmame cobrição;

IEP – Intervalo entre partos;

Max – máximo;

Min – mínimo;

ml - Mililitros;

Nvivos - Nados vivos;

Nmortos – Nados mortos;

Nmumif – Nados mumificados;

Ntotais – Nados totais;

Nº partos – Números de partos;

Nº obs – Número de observações;

Nº – Número;

PRRS – Porcine Respiratory & Reproductive Disease Syndrom (Síndroma Respiratório e Reprodutivo Suíno);

PS – Plasma seminal;

PSS – Plasma seminal sintético;

1 - Introdução:

A inseminação artificial (IA) é uma técnica antiga, já utilizada desde 1930 nos suínos. No entanto só em 1980 é que ocorreu o seu verdadeiro desenvolvimento, e posterior comercialização e disseminação na indústria da suinicultura (Bortolozzo, Menegat, Mellagi, Bernardi, & Wentz, 2015). O sucesso da reprodução em suínos utilizando a IA é atribuída ao incremento da fertilidade, à maior eficiência no trabalho, ao melhoramento genético e ao aumento da produção (Knox, 2016).

O método standard é a inseminação intracervical, que consiste na deposição de uma dose de sémen na porção posterior do canal cervical. Cada dose de sémen contém cerca de 1,5 a 4,0 bilhões de espermatozoides diluídos em 70-100 ml de diluidor. Embora Hancock tenha descrito nos finais de 1950 uma técnica não cirúrgica de IA, só muito mais tarde foi aprovada e comercializada com sucesso. Esta nova técnica de IA pós-cervical não requer pessoal qualificado, assim como não necessita de tempo extra na sua execução. Não põe em causa o bem-estar animal, promovendo ainda o aumento da produtividade, e podendo ser efetuada na ausência de varrasco (Bortolozzo et al., 2015)

A primeira ejaculação do varrasco ocorre entre os cinco e os seis meses, atingindo esta fase adulta a partir dos doze meses de idade. O volume de ejaculado varia entre 200-300 ml e a concentração oscila de 10 a 100×10^9 espermatozoides. Este ejaculado consiste em duas partes principais: a fração rica que contém os espermatozoides que representa 10% a 30% do volume final, e a fração líquida que contém o plasma seminal (PS) e representa 70% a 90% do volume. Grande parte deste volume consiste em secreções das glândulas acessórias, túbulos seminíferos e epidídimo (Sancho & Vilagran, 2013). O PS é um fluido nutritivo que permite manter a viabilidade celular e é o responsável pela sobrevivência dos espermatozoides durante a progressão no trato masculino e feminino. É constituído por componentes orgânicos e inorgânicos, nomeadamente: glúcidos, lípidos, aminoácidos e proteínas de baixo e elevado peso molecular. Algumas destas proteínas ligam-se à superfície dos espermatozóides, estabilizando a membrana espermática e prevenindo a sua capacitação precoce e perda da capacidade fertilizante antes da aproximação ao gâmeta feminino (Suzuki et al., 2002); (Vadnais & Althouse, 2011); (Sancho & Vilagran, 2013). Tem também na sua constituição citoquinas e prostaglandinas que se ligam a recetores nas células alvo do cérvix e útero, modulando as respostas celulares e alterando a expressão de genes importantes na estrutura e função destes tecidos (Yeste & Castillo-Martín, 2013). Com o uso da técnica de IA em substituição da monta natural, foram eliminados alguns estímulos provenientes da cobrição, que influenciam a atividade fisiológica da porca, estímulos estes que resultam do contato entre a porca e o varrasco. Por outro lado, a produção de um elevado número de doses por ejaculado, conduziu à redução do volume de PS (Kirkwood, Vadnais, & Abad, 2008). No entanto, resultados recentes evidenciam que o PS exerce diferentes ações fisiológicas no aparelho reprodutivo da fêmea, que incluem a estimulação do transporte espermático, o avanço do momento da ovulação e o estímulo da atividade imunossupressora, melhorando a

proteção dos espermatozoides e embriões nas fases precoces de pré-implantação. Induz ainda uma resposta inflamatória aguda transitória no endométrio, provocando alterações no tecido endometrial benéficas para a implantação e gestação (Troedsson et al., 2005); (Kirkwood et al., 2008); (Kubus, 2011). De acordo com os resultados dos estudos de Garcia Ruvalcaba, Pallas Alonso, Hernandez-Gil, & Dimitriv, 2009 e Dimitrov, S. (2012) o uso de plasma seminal sintético (PSS) melhora o desempenho reprodutivo das porcas marrãs e múltiparas. Segundo Yeste & Castillo-Martín, 2013 o PS é sobretudo absorvido pela parede vaginal em vez de ser transportado para o útero, desencadeando uma resposta fisiológica no endométrio e ovários que leva a um aumento da probabilidade de concepção e manutenção da gestação. Por outro lado, (Kubus, 2013) refere que a sensibilização do trato genital feminino através de interações entre espermatozoides-PS-lúmen uterino poderá melhorar a fertilidade, diminuir a taxa de mortalidade embrionária e melhorar o tamanho da ninhada. No entanto, outros autores não conseguiram demonstrar estas diferenças (de Graaf, Leahy, Marti, Evans, & Maxwell, 2008).

A realização deste estudo teve como objetivo verificar se a administração intrauterina (IU) de PS sintético (PSS) Predil MR-A[®] previamente à IA tem influência no desempenho reprodutivo da porca nomeadamente, na fertilidade, nados totais, nados vivos, nados mumificados e nados mortos.

2 - Materiais e Métodos

2.1. Caracterização da exploração / amostra:

O estudo foi realizado numa exploração comercial em regime intensivo, no período de 15 de Setembro de 2015 a 31 de Maio de 2016. A exploração detém um efetivo de 236 reprodutoras e 5 varrascos, funcionando em regime fechado. Tem estatuto indemne às principais doenças infecciosas nomeadamente Aujeszky e PRRS sendo realizada a profilaxia vacinal frente à doença de Aujeszky, *E.coli*, Mal Rubro, Rinite Atrófica, Parvovirus e *M. hyopneumoniae*.

No estudo foram incluídas 138 reprodutoras F1 (Large White vs Land Race), divididas equitativamente por dois grupos em função do número de ordem de parto, o **grupo controlo (GC)** e ao **grupo tratado (GT)**. Em cada grupo foram emparelhadas 69 porcas, com parições dispersas entre a 2^a e 10^a ou mais parições, conforme apresentado no gráfico 1.

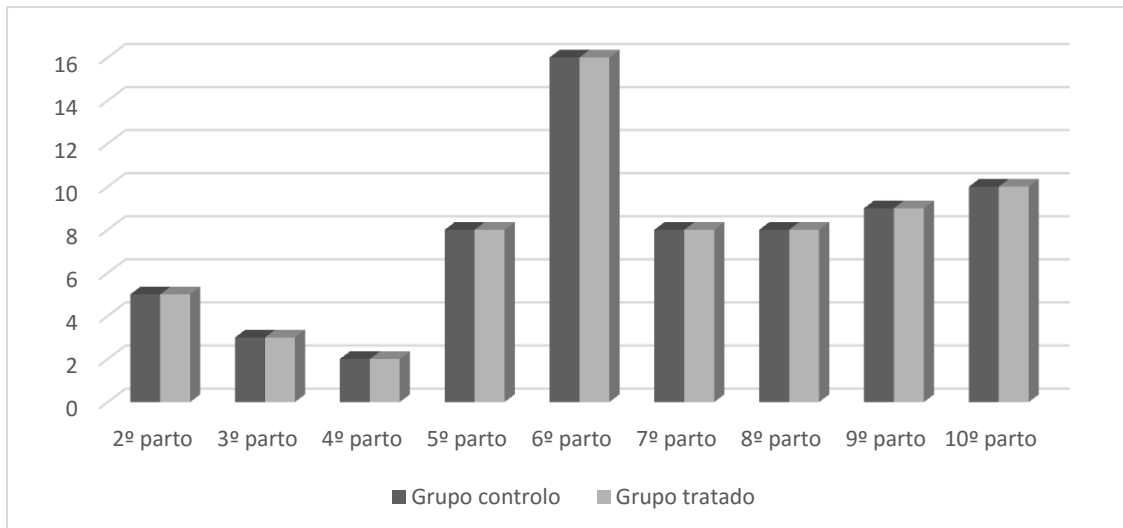


Gráfico 1 – Distribuição da amostra por paridade das porcas

2.2. Maneio reprodutivo:

As porcas foram inseminadas no período de 21 de Setembro de 2015 a 26 de Janeiro de 2016. O sémen utilizado foi proveniente de um único varrasco e as colheitas realizadas a cada segunda-feira de manhã. Foi utilizada água bidestilada na preparação do diluidor MR-A[®]. O processamento do sémen foi realizado no laboratório da exploração.

A deteção deaios foi efetuada de igual modo para todas as porcas, com base na observação dos sinais clássicos com e sem recurso a varrasco. Foi utilizada a inseminação artificial pós cervical (IAPC) em ambos os grupos, utilizando uma dose de 80 ml de sémen com a concentração de 3×10^9 espermatozóides. Previamente à IA, ao GC foi administrado 30 ml de diluidor, enquanto ao GT se administrou 30 ml de PSS. As porcas foram inseminadas nas baias individuais de gestação, onde permaneceram até ao diagnóstico de gestação, confirmado por ultrassonografia aos 23 dias pós IA. As porcas gestantes foram transferidas para parques coletivos onde permaneceram até uma semana antes da data prevista de parto, sendo posteriormente transferidas para as salas de parto, e registada a data de parto, nados vivos (Nvivos), nados mortos (Nmortos), nados mumificados (Nmumif) e nados totais (Ntotais).

2.3. Análise Estatística:

Os diversos parâmetros reprodutivos Nvivos, Nmortos, Nmumif e Ntotais foram submetidos a análise de variância com o PROC GLM do programa SAS (SAS Institute, 2004). Inicialmente utilizou-se um modelo de análise idêntico para todos os parâmetros incluindo o efeito do mês de parto, tratamento, intervalo desmame-cobrição (IDC), intervalo recolha do sémen- IA e nº partos, que foi considerado como covariável linear. Posteriormente, foram excluídos os efeitos do intervalo desmame-cobrição (IDC) e intervalo recolha de sémen-IA por não influenciaram significativamente ($p > 0.05$) qualquer dos parâmetros analisados. Por último, estimaram-se as médias dos quadrados mínimos dos parâmetros segundo os fatores que os influenciaram significativamente.

A fertilidade foi analisada por regressão logística, através do PROC LOGISTIC do programa SAS, com um modelo de análise que incluiu os efeitos do tratamento, mês de IA, intervalo colheita do sémen/IA, número de partos e intervalo desmame - IA, em que estes dois últimos fatores foram considerados como variáveis contínuas. As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0.05$.

3- Resultados

Na tabela 1 estão representadas as médias, desvio padrão, máximos e mínimos das variáveis estudadas nos grupos GC e GT. A análise dos resultados revelou que a utilização do PSS não influenciou significativamente ($p > 0.05$) os índices reprodutivos da exploração (tabela 1 e tabela 2). No decurso do estudo 8 porcas fizeram retornos ao cio, 1 aborto e 3 morreram antes do parto.

Tabela 1 – Valores médios dos parâmetros observados no Grupo Controlo e Grupo Tratado.

Variável	n		Média (dp)		Min - Max	
	GC	GT	GC	GT	GC	GT
Mês Parto	63	64	2.92 (1.27)	2.78 (1.24)	1.0 - 5.0	1.0 - 5.0
Nº parto	69	69	6.81 (2.46)	6.82 (2.49)	2.0 - 12.0	2.0 - 12.0
Mês IA	69	69	9.05 (3.83)	9.63 (3.28)	1.0 - 12.0	1.0 - 12.0
Nº IA's	69	69	2.0 (0)	2.0 (0)	2.0 - 2.0	2.0 - 2.0
IDC	69	69	4.69 (0.71)	4.60 (0.69)	4.0 - 7.0	4.0 - 7.0
ITP	63	63	146.38 (1.86)	146.63 (1.53)	142.0-154.0	141.0-153.0
ID.sémen	69	69	0.69 (0.71)	0.60 (0.69)	0 - 3.0	0 - 3.0
Nvivos	63	63	13.41 (2.44)	13.57 (3.13)	5.0 - 18.0	2.0 - 20.0
Nmortos	63	63	0.88 (1.39)	1.53 (1.92)	0 - 6.0	0 - 10
Nmumif	63	63	0.01 (0.12)	0.03 (0.25)	0 - 1.0	0 - 2.0
Ntotais	63	63	14.31 (2.54)	15.14 (2.96)	8.0 - 19.0	4.0 - 21.0

GC- Grupo controlo; GT- Grupo tratado; n- número de observações; dp – desvio padrão; Min – mínimo; Max - máximo; Nº parto – número de partos; Mês IA – mês de inseminação artificial; Nº IA's – número de inseminações artificiais; IDC – Intervalo desmame cobrição; ITP – Intervalo entre partos; ID. Sémen – Idade do sémen; Nvivos – Nados vivos; Nmortos – Nados mortos; Nnumif – Nados mumificados; Ntotais – Nados totais.

Tabela 2- Resultados da análise de variância da prolificidade.

		Nvivos	Nmortos	Nmumif	Ntotais
Fatores	Gl	Valores de F			
Mês parto	4	2.69**	1.45	2.19	4.22**
Tratamento	1	0.08	4.08	0.09	2.41
Efeito linear N ^o partos	1	1.94	10.61**	0.27	0.35
N ^o Obs.		126	126	126	126
Média		13.49	1.21	0.024	14.73
r ²		0.098	0.144	0.072	0.145

N^o Obs. - número de observações; r² - coeficiente de determinação; Nvivos – nados vivos; Nmortos – nados mortos; Nmumif – nados mumificados; Ntotais – nados totais.

* - significativo para p <0.05; ** - significativo para p<0.01

Os resultados da análise de variância do tamanho da ninhada, na tabela 2, indicam que os modelos utilizados explicam uma reduzida proporção (r²= 0,072 e 0,145) da variabilidade destas características. O Nmumif não foi influenciado por qualquer dos fatores estudados e como referido o tratamento não influenciou qualquer das variáveis analisadas. De um modo geral, quando as características reprodutivas são submetidas à análise de variância, apenas se consegue justificar parte da variabilidade observada, sendo a proporção da variabilidade residual normalmente mais elevada.

Como se pode observar na tabela 3, o número de leitões nascidos, vivos e totais, no mês de Janeiro é maior (p<0.05) do que em todos os outros meses (Fevereiro a Maio inclusive) analisados.

Tabela 3 - Médias dos quadrados mínimos ± erro padrão do número de leitões nascidos vivos e número total de leitões nascidos segundo o efeito do mês de partos.

Mês Parto	Nados vivos	Nados totais
Janeiro	15,20 ^a ± 0,58	16,75 ^a ± 0,56
Fevereiro	13,22 ^b ± 0,52	14,21 ^b ± 0,51
Março	13,09 ^b ± 0,42	14,65 ^b ± 0,41
Abril	12,91 ^b ± 0,64	14,06 ^b ± 0,62
Maio	13,33 ^b ± 0,66	13,85 ^b ± 0,64

Médias do mesmo parâmetro com letras diferentes, diferem significativamente para p<0.05

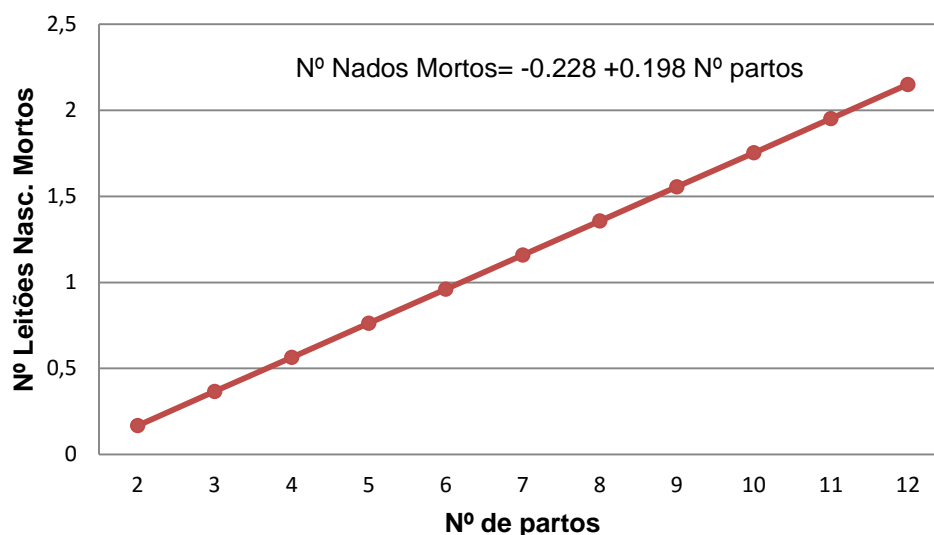


Gráfico 2 - Número de leitões nascidos mortos segundo o número de partos da porca.

O número de nados mortos aumentou com a paridade das porcas (gráfico 2). Em média, por cada parto a mais, o número de leitões nascidos mortos aumenta 0.198.

A análise de regressão logística da fertilidade não permitiu concluir que qualquer dos efeitos estudados pudesse influenciar a fertilidade (tabela 4), observando-se valores médios muito semelhantes entre o grupo controlo = 94.03% [(Intervalo de confiança (IC) 95%: 88.21 - 99.85)] e grupo tratado = 94.12% [(IC 95%: 88.38 – 99.86)].

Tabela 4 – Análise da Fertilidade dos Grupos Controlo e Tratado.

	Nº	Média	Desvio Padrão	Coefficiente Variação	Mínimo	Máximo	Mediana
GC	67	94.03	23.87	25.3878	0	1.0	1.0
GT	68	94.12	23.70	25.1859	0	1.0	1.0

GC – Grupo Controlo; GT – Grupo Tratado.

4 - Discussão

A qualidade do PS depende das características individuais dos varrascos, sazonalidade, estatuto sanitário e idade. A sazonalidade pode alterar a função secretora de uma ou mais glândulas acessórias e influencia a quantidade de PS produzido assim como a sua composição química (Muiño-Blanco, Pérez-Pé, & Cebrián-Pérez, 2008); (Sancho & Vilagran, 2013). A idade é outro fator importante pois com o seu aumento ocorrem alterações a nível hormonal e celulares que afetam a qualidade espermática e a fertilidade (Tsakmakidis, Khalifa, & Boscós, 2012). Segundo Jatesada, Elisabeth, & Anne-marie, (2013) tanto a monta

natural como a IA com PS influencia o início da ovulação, sendo que o intervalo entre o estro e a ovulação diminui em média 8h quando é usado o PS. Durante a produção das doses de sémen o PS e a fração pobre são excluídos, pois é necessário diminuir o metabolismo e conservar a qualidade dos espermatozoides, sendo o diluidor responsável por esta manutenção e conservação da viabilidade. Por outro lado, tanto o PS como a fração pobre podem conter elevadas concentrações bacterianas e víricas (Sancho & Vilagran, 2013); (Bussalleu & Torner, 2013); (Okazaki & Shimada, 2012).

De fato, a utilização do PS na descongelação do sémen pode aumentar o risco de infecções por vírus, sendo por isso necessário um rigoroso controlo dos varrascos nos centros de IA e nas explorações (Okazaki & Shimada, 2012). A utilização do PSS pode evitar estes problemas, mas a composição destes produtos nem sempre consegue mimetizar com exatidão o PS natural. De acordo com (Schuberth et al., 2008) inseminar com sémen lavado em diluidor induz uma maior chamada de neutrófilos, quando comparado com inseminações de espermatozoides e plasma seminal, ou utilizando apenas o plasma seminal ou somente o diluidor, o que vem ao encontro dos resultados obtidos no presente estudo. No entanto, a constituição dos vários diluidores comerciais varia entre si, o que pode implicar uma heterogeneidade das respostas. Devido a esta variedade de composições de diluidores, não se pode generalizar a influência na migração de neutrófilos ou os efeitos obtidos com o PS para os diferentes PSS.

Resultados obtidos durante a criopreservação de sémen de suíno mostram que a presença de PS durante o processo de arrefecimento aumenta a resistência ao choque térmico (Okazaki & Shimada, 2012). A fração rica de espermatozoides quando mantida 24h no PS antes da congelação suporta melhor a criopreservação que o ejaculado total (Alkmin et al., 2014). A diminuição da qualidade espermática pode ser associada às elevadas diluições que ocorrem durante o processamento, e conseqüente diminuição do PS. Estes efeitos negativos influenciam os espermatozoides originando a destabilização da membrana, ou mesmo a morte celular. A inclusão do PS contraria estes processos e melhora a viabilidade e motilidade dos espermatozoides (de Graaf et al., 2008). Os espermatozoides ejaculados possuem reduzida motilidade, atividade metabólica, capacidade de fertilização e podem até morrer se a concentração de PS no meio for reduzida na diluição ou lavagem, o que foi descrito como “efeito de diluição”. A adição de PS a doses diluídas reduz o efeito diluição e aumenta a viabilidade do sémen de varrasco, carneiro e coelho (Muiño-Blanco et al., 2008). No entanto, estes autores não compararam a substituição do PS por PSS ou diluidores para verificar se teriam resultados semelhantes.

Ainda segundo alguns autores, o PS previne ou reverte a capacitação dos espermatozoides no sémen fresco ou descongelado. A adição de PS a sémen congelado-descongelado pode melhorar a fertilidade na porca, pois as proteínas do PS têm a capacidade de reparar a membrana celular dos espermatozoides danificada no processo de crioconservação. O PS é capaz de reverter a criocapacitação *in vitro*, quando doses de sémen são suplementadas com 10% de PS (Kirkwood et al., 2008). No entanto, a variabilidade do PS

entre varrascos dificulta a sua utilização e repetibilidade dos resultados. Assim sendo, várias empresas têm tentado desenvolver o PSS ideal.

O presente estudo, teve como objetivo testar se a administração IU de PSS antes da IA influenciava o desempenho reprodutivo das porcas. Foi realizado numa exploração comercial, mediante as regras de bem-estar animal (BEA), sendo respeitadas as boas práticas de limpeza, desinfeção das instalações, assim como efetuados os controlos de sanidade nomeadamente rastreios da Doença de Aujeszky. O estudo foi realizado em simultâneo para os dois grupos (GT e GC) e as condições foram constantes para ambos. Quanto à fertilidade e prolificidade das porcas, a utilização do Predil MR-A[®] não influenciou qualquer das variáveis analisadas. Estes dados são corroborados pelos resultados obtidos no ensaio de (Pallás et al., 2016) onde não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos, grupo Predil e grupo controlo, nomeadamente nos leitões nascidos vivos, nascidos mortos e nascidos totais cujas diferenças apresentadas foram de 0,23, 0,4, 0,25 respetivamente. No entanto, estes autores obtiveram diferenças significativas ($p = 0,015$) nas taxas de partos de 91,47% no grupo Predil comparativamente com 84,57% do grupo controlo, o que não aconteceu neste trabalho. Igualmente, os resultados do presente trabalho contrariam um estudo recente de (Campos do Nascimento, 2015) que encontrou um aumento dos nados vivos e totais de 7,6% e 8,6% respetivamente quando utilizou o Predil MR-A[®]. No entanto, o delineamento experimental de (Campos do Nascimento, 2015) foi diferente, não tendo administrado os 30 mL de diluidor no grupo controlo. Por outro lado, diferenças nos animais, ambientais ou no processo de recolha e processamento das doses de sémen poderão estar na origem destas diferenças, embora tenham sido iguais para o grupo controlo e tratado do presente trabalho. O fotoperíodo é o principal sinal ambiental da época reprodutiva, que leva a alterações sazonais como o tamanho testicular, peso, produção de secreções, atividade sexual e fertilidade dos machos (Muiño-Blanco et al., 2008). De acordo com (Dimitrov, S. (Trakia University, 2012) e (Garcia Ruvalcaba et al., 2009) a técnica IAPC associada ao uso de Predil MR-A[®] melhoram o desempenho reprodutivo das porcas. No estudo de (Dimitrov, S. (Trakia University, 2012), este constatou um aumento do desempenho reprodutivo quando usada a técnica IAPC associada com o uso de Predil MR-A[®], observando que a taxa de conceção e parto apresentavam valores de 82.81% e 82.81% respetivamente no grupo Predil (parições ≤ 5), e no grupo controlo 79.11% e 77.61%. Relativamente as parições superiores a 5 observaram valores de 87.50% e 83.33% referentes a taxas de conceção e parto no grupo Predil e no grupo controlo, 77.72% em ambos os parâmetros. Em contrapartida, no mesmo estudo os resultados dos leitões nascidos vivos e totais são superiores no grupo controlo. Já no estudo de (Garcia Ruvalcaba et al., 2009) os resultados referem um aumento da taxa de parto nas porcas marrãs (75% no grupo Predil comparativamente com 68.29% no grupo controlo), assim como nas porcas múltiparas (74.07% no grupo Predil vs. 61.90% no grupo controlo). Nas porcas marrãs estes autores observaram um aumento de 0.58 leitões nascidos totais por ninhada no grupo Predil, e um incremento de 0.50 leitões nascidos vivos por ninhada. Nas porcas múltiparas observaram um aumento de 1.12 leitões nascidos totais por ninhada e um

aumento de 1.28 de leitões nascidos vivos por ninhada. No entanto, estes autores também não testaram o efeito da substituição da aplicação do Predil pela aplicação de diluidor, conforme o protocolo usado no nosso trabalho.

Os resultados do presente estudo evidenciaram que o mês de parto influenciou significativamente o nº de leitões nascidos vivos e totais ($p < 0.01$). Resultados estes que também podem ser influenciados pela sazonalidade, fotoperíodo e estatuto sanitário. A eficiência reprodutiva das porcas reduz cerca de 15 a 20% nos meses de verão, sendo um problema para a indústria da suinicultura. Ainda não se sabe se o mecanismo de regulação fisiológico é responsável por todas as manifestações de infertilidade sazonal, no entanto alterações sazonais na duração diária do fotoperíodo estão implicadas como um determinante em comum. Os mecanismos pelos quais o fotoperíodo influencia a fisiologia reprodutiva nos suínos ainda permanecem incertos. Nos mamíferos durante o período da noite, ocorre um aumento da concentração de melatonina que através do sistema nervoso central interfere na regulação da secreção das gonadotrofinas hipofisárias (Bassett, Bray, & Sharpe, 2001). Estes autores verificaram que a aplicação de implantes de melatonina nas porcas consegue impedir o anestro sazonal que se verifica no Verão.

A produtividade das explorações depende não só das condições ambientais e de manejo, mas também das características dos reprodutores, como a genética, a idade ou o estado sanitário (Freking, Purdy, Spiller, Welsh, & Blackburn, 2012); (Knox, 2016). De fato, a análise dos resultados do presente estudo permitiu identificar um efeito linear negativo do nº de partos na produtividade da porca, ou seja, por cada parto a mais por porca aumenta em 0.198 os leitões mortos. O desempenho reprodutivo da porca varia ao longo da sua vida, por motivos diversos, tais como idade em que inicia a sua vida reprodutiva, variação da condição corporal, nutrição, manejo, BEA, fotoperíodo, sazonalidade, estatuto sanitário, fatores sociais, fatores ambientais, atividade ovárica e, stress (Kubus, 2013); (McPherson, Nielsen, & Chenoweth, 2014).

5 - Conclusão:

Ao longo deste estudo e mediante os resultados apresentados, conclui-se que o tratamento com o PSS não influenciou significativamente o desempenho reprodutivo das porcas nomeadamente a fertilidade, os nados vivos, mortos, mumificados e totais. Não foi possível evidenciar nenhuma vantagem em utilizar PSS previamente à IA. De facto a não utilização do PSS facilita o manejo reprodutivo visto que, é menos um produto a ser utilizado na IA; reduzindo custo e tempo despendido.

6 – Referências Bibliográficas:

- Alkmin, D. V., Perez-Patiño, C., Barranco, I., Parrilla, I., Vazquez, J. M., Martinez, E. A., ... Roca, J. (2014). Boar sperm cryosurvival is better after exposure to seminal plasma from selected fractions than to those from entire ejaculate. *Cryobiology*, 69(2), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.07.004>
- Bassett, J. M., Bray, C. J., & Sharpe, C. E. (2001). Reproductive seasonality in domestic sows kept outdoors without boars. *Reproduction*, 121(4), 613–629. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210613>
- Bussalleu, E., & Torner, E. (2013). Quality Improvement of Boar Seminal Doses. In Boar Reproduction (pp. 217–550). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-35049-8>
- Bortolozzo, F. P., Menegat, M. B., Mellagi, A. P. G., Bernardi, M. L., & Wentz, I. (2015). New Artificial Insemination Technologies for Swine. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 50, 80–84. <https://doi.org/10.1111/rda.12544>
- Campos do Nascimento, C. X. (2015). *EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE PLASMA SEMINAL SINTÉTICO (PREDIL® MR-A®) NO DESEMPENHO REPRODUTIVO DA PORCA*. UNIVERSIDADE DE LISBOA Faculdade de Medicina Veterinária.
- de Graaf, S. P., Leahy, T., Marti, J., Evans, G., & Maxwell, W. M. C. (2008). Application of seminal plasma in sex-sorting and sperm cryopreservation. *Theriogenology*, 70(8), 1360–1363. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.012>
- Dimitrov, S. (Trakia University, S. Z. (Bulgaria). F. of A. (2012). Postartificial insemination of sows in combination with synthetic seminal plasma (Predil MR-A®). *Savremena Poljoprivreda /Contemporary Agriculture*, 61(3–4), 169–174. Retrieved from <https://sites.google.com/site/savremenapoljoprivreda/>
- Freking, B. A., Purdy, P. H., Spiller, S. F., Welsh, C. S., & Blackburn, H. D. (2012). Boar sperm quality in lines of pigs selected for either ovulation rate or uterine capacity. *Journal of Animal Science*, 90(8), 2515–2523. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-4723>
- Garcia Ruvalcaba, J. A., Pallas Alonso, R., Hernandez-Gil, R., & Dimitriv, S. (2009). The use of synthetic seminal plasma (Predil MR-A®) as a method to facilitated procedures with cervical and post-cervical artificial insemination of sows.
- Jatesada, J., Elisabeth, P., & Anne-marie, D. (2013). Seminal plasma did not influence the presence of transforming growth factor- β 1 , interleukine-10 and interleukin-6 in porcine follicles shortly after insemination. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-66>
- Kirkwood, R. N., Vadnais, M. L., & Abad, M. (2008). Practical application of seminal plasma. *Theriogenology*, 70(8), 1364–1367. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.018>
- Knox, R. V. (2016). Artificial insemination in pigs today. *Theriogenology*, 85(1), 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.009>
- Kubus, S. A. (2011). *Manual de inseminación artificial porcina*. Madrid.
- Kubus, S. A. (2013). *Inseminación artificial porcina Cómo ganar eficiencia con la reproducción de tu ganado porcino*. Madrid.

- McPherson, F. J., Nielsen, S. G., & Chenoweth, P. J. (2014). Semen effects on insemination outcomes in sows. *Animal Reproduction Science*, *151*(1–2), 28–33.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.09.021>
- Muñoz-Blanco, T., Pérez-Pé, R., & Cebrián-Pérez, J. A. (2008). Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress. *Reproduction in Domestic Animals*, *43*(SUPPL.4), 18–31.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01228.x>
- Okazaki, T., & Shimada, M. (2012). New strategies of boar sperm cryopreservation: Development of novel freezing and thawing methods with a focus on the roles of seminal plasma. *Animal Science Journal*, *83*(9), 623–629. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2012.01034.x>
- Pallás, R., Fernández, G., Hernández-Gil, R., Martín, S., Rodríguez, F., Martínez, P., & Ruvalcaba, J. G. (2016). Use of synthetic seminal plasma, Predil® MR-A®, by two-phase insemination technique in Iberian sows.
- Sancho, S., & Vilagran, I. (2013). The Boar Ejaculate: Sperm Function and Seminal Plasma Analyses. In *Boar Reproduction* (pp. 471–516). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-35049-8>
- Schuberth, H. J., Taylor, U., Zerbe, H., Waberski, D., Hunter, R., & Rath, D. (2008). Immunological responses to semen in the female genital tract. *Theriogenology*, *70*(8), 1174–1181. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.020>
- Suzuki, K., Asano, A., Eriksson, B., Niwa, K., Nagai, T., & Rodriguez-Martinez, H. (2002). Capacitation status and in vitro fertility of boar spermatozoa: Effects of seminal plasma, cumulus-oocyte-complexes-conditioned medium and hyaluronan. *International Journal of Andrology*, *25*(2), 84–93. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.2002.00330.x>
- Troedsson, M. H. T., Desvovsge, A., Alghamdi, A. S., Dahms, B., Dow, C. A., Hayna, J., ... Buhi, W. C. (2005). Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Animal Reproduction Science*, *89*(1–4 SPEC. ISS.), 171–186.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.07.005>
- Tsakmakidis, I. A., Khalifa, T. A. A., & Boscós, C. M. (2012). Age-related changes in quality and fertility of porcine semen. *Biological Research*, *45*(4), 381–386.
<https://doi.org/10.4067/S0716-97602012000400009>
- Vadnais, M. L., & Althouse, G. C. (2011). Characterization of capacitation, cryoinjury, and the role of seminal plasma in porcine sperm. *Theriogenology*, *76*(8), 1508–1516.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.021>
- Yeste, M., & Castillo-Martín, M. (2013). Boar Spermatozoa Within the Uterine Environment. In *Boar Reproduction* (pp. 205–255). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-35049-8>

7 - Anexos:

Anexo 1 - Casuística



ESCOLA
UNIVERSITÁRIA
VASCODAGAMA



MEDICINA
VETERINÁRIA

Andreia Filipa da Silva Oliveira

Suínos	
Casos	Nº casos
Broncopneumonia	1
Doença dos edemas	1
Diarreia	96
Metrite	4
Piodermatite exsudativa - <i>Staphilococos hyicus</i>	47
Pseudo-tinha	288
Cistite	2
Total	439
Intervenções em sanidade	Nº intervenções
Desparasitações	236
Colheitas de Sangue	272
Profilaxia de Anemia de Ferropriva	2138
Total	2646
Vacinações	
Aujeszky	4321
Parvovirus	216
<i>E.coli</i>	114
Rinite	102
<i>M. Hyopneumoniae</i>	2138
Total	6891
Ações em Segurança Alimentar e Saúde Pública:	
Necrópsias	3
Reprodução ou Produção animal:	
Nº total de inseminações	Nº de ecografias realizadas
224	322
Nº Total de partos	Nº total de leitões nascidos
192	2711

Anexo 2 - Procedimentos na inseminação artificial pós-cervical associada ao uso de Predil®

MR-A®

- a) Limpar a vulva com toalhita descartável, impregnada com desinfetante não espermicida;
- b) Retirar o invólucro de plástico do catéter sem tocar no extremo anterior nem na ponta da cânula.
- c) Introduzir o catéter inclinado (sem que a cânula interior se exteriorize) de forma a fazer um ângulo de 45° com o teto da vagina (para prevenir o risco de introdução na uretra).
- d) Continuar com a colocação do cateter na horizontal, rodando o cateter para a esquerda até que fique preso ao cérvix.
- e) Introduzir a cânula interior até que se note a primeira resistência das pregas cervicais.
- f) Esperar uns segundos para que o cérvix da porca relaxe antes de iniciar a introdução da cânula até ao corpo uterino.
- g) Introduzir 30 mL de Predil® MR-A®, aquecido a 37-42°C, à medida que se pressiona ligeiramente a cânula ao longo do cérvix até alcançar o corpo do útero.
- h) Introduzir a dose seminal aquecida a 37°C: volume de 80 mL e uma concentração de 1000-1500 milhões de espermatozoides.
- i) Retirar a cânula interior deixando o catéter dentro da porca durante 1-2 minutos.
- j) Retirar o catéter, puxando-o lentamente e rodando-o para a direita.