

Efeito de pré-infusões uterinas sobre a fertilidade de Marrãs (*Sus scrofa domestica*, Linnaeus, 1758)

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Fernando Pandolfo Bortolozzo
Setor de Suínos da Faculdade
de Veterinária
Universidade Federal do Rio
Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves, 9090
91540-000 - Porto Alegre - RS
e-mail: fpbortol@vortex.ufrgs.br

The effect of intrauterine sensitization on gilt (*Sus scrofa domestica*, Linnaeus, 1758) fertility

1-Faculdade de Veterinária da
Universidade Federal do Rio
Grande do Sul - RS
2-EMBRAPA-CNPSA-RS

Fernando Pandolfo BORTOLOZZO¹; Ivo WENTZ¹; Isabel SCHEID²; Antonio Lourenço GUIDONI²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da pré-sensibilização uterina com antígenos espermáticos ou seminais sobre a fertilidade da marrã de reposição. Cento e quarenta e uma marrãs cruzadas pré-púberes com 160-165 dias de idade foram alojadas. O estro foi induzido pela aplicação de PMSG-hCG no alojamento. A detecção de estro foi realizada duas vezes ao dia com o auxílio do macho. As pré-infusões uterinas foram realizadas 24 horas após o início do estro no primeiro e segundo estro. As marrãs foram agrupadas em 5 diferentes tratamentos: espermatozoides mortos (EM, n = 29), plasma seminal (PS, n = 29), plasma seminal e espermatozoides mortos (PS + EM, n = 28), solução salina fisiológica (SS, n = 28) e controle (n = 27). Marrãs que sempre apresentaram reflexo de tolerância ao macho (RTM) positivo no momento da infusão foram analisadas separadamente (Grupo 1) daquelas que tiveram no mínimo uma vez um RTM negativo no momento da infusão (Grupo 2). Somente uma inseminação artificial (IA) foi realizada 24 horas após a manifestação do RTM no terceiro cio. Aos 28-32 dias após a IA, as marrãs foram abatidas e os fetos e corpos lúteos foram contados. No Grupo 1, a taxa de prenhez do grupo PS (100%) foi superior ($p < 0,05$) ao controle (90%), PS + EM (90,9%) e SS (80%), entretanto foi similar à do EM (92,9%). No grupo 2, não ocorreram diferenças entre os grupos ($p < 0,05$). Não houve diferenças entre os tratamentos com relação à taxa ovulatória, taxa de perda embrionária e número de embriões viáveis. Os resultados sugerem que melhora significativa causada pela pré-sensibilização uterina possa ser observada somente se, por alguma outra razão, os índices reprodutivos do rebanho deixassem a desejar.

UNITERMOS: Marrã; Fertilidade; Útero.

INTRODUÇÃO

Em um sistema industrial de produção de suínos realiza-se anualmente, em média, uma reposição de 25-35% do plantel. Com isso, 1/3 do referido plantel é composto de primíparas⁷. Como a produtividade destas fêmeas, em relação ao tamanho da leitegada, é inferior à das pluríparas², é fundamental o sucesso no manejo de reposição para a viabilidade econômica do processo⁶.

Além da ordem de parto, o número de leitões nascidos por leitegada pode ser influenciado por uma série de outros fatores como: época do ano, nutrição, doenças, práticas de manejo e influência individual do macho⁵. Existem indicações de que os estímulos imunológicos podem afetar os processos

de fertilização e implantação ou favorecer a capacitação¹. O envolvimento direto do sistema imune também pode afetar o tamanho da leitegada³. Visando minimizar as perdas embrionárias nas marrãs integradas ao plantel, encontram-se os trabalhos de pré-sensibilização uterina com antígenos celulares específicos e não-específicos ao sêmen^{1,4,6,8,9,10}. Os resultados obtidos nestes experimentos mostram-se conflitantes com relação a um efeito benéfico destas pré-sensibilizações, bem como à possível origem deste efeito, principalmente em rebanhos com boa eficiência reprodutiva.

Com vistas a maximizar a eficiência reprodutiva das marrãs incorporadas ao plantel, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da pré-sensibilização uterina com antígenos espermáticos e seminais nos dois estros anteriores ao da inseminação artificial sobre a fertilidade da marrã.

MATERIAL E MÉTODO

Um total de 141 marrãs (Landrace x Large White, Landrace x Duroc) com 160-165 dias foram utilizadas no experimento. Para a indução do cio, as marrãs pré-púberes receberam 400 UI de PMSG e 200 UI de hCG, e 72 horas após, 500 UI de hCG. O controle do cio foi realizado duas vezes ao dia com o auxílio do cachaço.

As fêmeas foram divididas em 5 tratamentos: 1º Pré-infusão de espermatozoides mortos (n = 29); 2º Pré-infusão de plasma seminal (n = 29); 3º Pré-infusão de espermatozoides mortos e plasma seminal; 4º Pré-infusão com solução salina (n = 28); 5º controle (n = 27).

Para a preparação das pré-infusões, ejaculados de 6 cachaços doadores foram armazenados a -20°C em um período imediatamente anterior ao experimento. Após o descongelamento e homogeneização do pool de ejaculados armazenados, parte foi separada para as pré-infusões do tratamento com espermatozoides mortos e plasma seminal (EM + PS) e o restante foi centrifugado a 1.500 g por 15 minutos. O sobrenadante foi utilizado como material para o tratamento com plasma seminal (PS), e o sedimento, após ressuspensão com equivalente quantidade de solução fisiológica, para o tratamento com espermatozoides mortos (EM). Um 4º grupo recebeu uma pré-infusão de solução salina a 0,85% de NaCl (SF) enquanto o grupo controle não recebeu nenhuma pré-infusão.

As pré-infusões com um volume total de 100 ml foram realizadas 24 horas após o início da manifestação de cio no primeiro e segundo estro após a indução. Todas as marrãs deste experimento foram submetidas ao tratamento hormonal para indução da ovulação. Desta maneira, foram analisados separadamente os resultados, levando-se em conta a presença do RTM no momento da realização das pré-infusões (Grupo 1) e as que no momento da realização de no mínimo uma pré-infusão não apresentavam RTM (Grupo 2).

Como doadores de sêmen foram utilizados 6 machos das raças Landrace e Large White. Após a coleta do sêmen, este foi avaliado macroscopicamente quanto ao aspecto e volume e microscopicamente quanto à motilidade, concentração e morfologia. Para a inseminação artificial, utilizou-se sêmen de três doadores sob a forma de pool e cada dose espermática contou com um total de $2,5 \times 10^9$ espermatozoides diluídos em BTS. O sêmen foi armazenado a + 15°C por, no máximo, 48 horas. Uma única inseminação foi realizada 24 horas após o início do reflexo de tolerância ao macho, no terceiro cio após a indução.

Todos os animais sofreram um controle de retorno ao cio posterior ao da inseminação artificial. Entre 28 e 32 dias após a inseminação artificial, os animais foram abatidos com o objetivo de contar e avaliar macroscopicamente os embriões e corpos amarelos.

As perdas embrionárias, a taxa ovulatória e o número de embriões viáveis foram analisados pelo procedimento "GLM" do SAS (1985), e as médias foram comparadas pelo teste "t". A taxa de parto foi analisada pelo teste de Qui-quadrado.

RESULTADOS

De um total de 141 marrãs utilizadas no experimento, 123 (87,2%) estavam prenhes no momento do abate entre 28-32 dias de gestação (Tab. 1). Não ocorreu aumento na taxa de prenhez quando comparados o grupo controle (88,9%) e o grupo tratado com espermatozoides mortos (89,7%) aos demais tratamentos. No entanto, o grupo que recebeu pré-infusões uterinas com plasma seminal (93,1%) diferenciou-se estatisticamente ($p < 0,05$) tanto do tratamento com plasma seminal e espermatozoides mortos (82,1%) como do tratamento com solução fisiológica (82,1%).

Todos os animais apresentaram edema e hiperemia vulvar após este tratamento hormonal, no entanto nem todas

Tabela 1

Taxas de prenhez em marrãs após o tratamento com Plasma Seminal (PS), Espermatozoides Mortos (EM), associação Plasma Seminal com Espermatozoides Mortos (PS + EM) e Solução Fisiológica (SF) (Porto Alegre, 1994).

Tratamento	Fêmeas Não Prenhes		Fêmeas Prenhes		Total
	n	%	n	%	
Controle	3	11,1	24	88,9	27a, b
PS	2	6,9	27	93,1	29a
EM	3	10,3	26	89,7	29a, b
PS + EM	5	17,9	23	82,1	28b
SF	5	17,9	23	82,1	28b
Total	18	12,8	123	87,2	141

a,b Valores seguidos de letras desiguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 2

Taxas de prenhez de marrãs que apresentaram RTM no momento das pré-infusões (Grupo 1) e das que não apresentavam RTM no momento da realização de, no mínimo, uma das pré-infusões (Grupo 2) com Plasma Seminal (PS), Espermatozóides Mortos (EM), associação Plasma Seminal com Espermatozóides Mortos (PS + EM) e Solução Fisiológica (SF) (Porto Alegre, 1994).

Tratamento	Grupo 1		Grupo 2	
	Fêmeas	Não Prenhes	Fêmeas	Prenhes
	n	%	n	%
Controle	9	90,0 b	15	88,2
PS	17	100,0 a	10	83,3
EM	13	92,9 a,b	13	86,7
PS + EM	10	90,9 b	13	76,5
SF	8	80,0 b	15	83,3

a, b Valores seguidos de letras desiguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

Tabela 3

Número médio de corpos amarelos, embriões viáveis e percentual de perda embrionária após o tratamento com Plasma Seminal (PS), Espermatozóides Mortos (EM), associação Plasma Seminal com Espermatozóides Mortos (PS + EM) e Solução Fisiológica (SF) (Porto Alegre, 1994).

Tratamento	Número Total de Marrãs Prenhes	Corpos Amarelos		Embriões Viáveis		Perda Embrionária
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Controle	24	14,32	0,78	12,65	0,83	11,2
PS	27	14,23	0,61	11,71	0,65	17,5
EM	26	14,77	0,70	12,92	0,74	11,2
PS + EM	23	15,25	0,71	12,30	0,76	17,5
SF	23	15,98	0,72	12,60	0,77	19,6

Tabela 4

Número médio de corpos amarelos, embriões viáveis e percentual de perda embrionária nas marrãs que apresentaram RTM no momento das pré-infusões (Grupo 1) com Plasma Seminal (PS), Espermatozóides Mortos (EM), associação Plasma Seminal com Espermatozóides Mortos (PS + EM) e Solução Fisiológica (SF) (Porto Alegre, 1994).

Tratamento	Número Total de Marrãs Prenhes	Corpos Amarelos		Embriões Viáveis		Perda Embrionária
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Controle	9	14,27	1,23	13,05	1,35	8,0
OS	17	14,38	0,83	11,63	0,88	19,0
EM	13	14,68	0,86	13,37	0,92	8,8
PS + EM	10	15,83	1,14	12,44	1,22	16,9
SF	8	16,43	1,17	14,04	1,24	11,4

as fêmeas apresentaram reflexo de tolerância ao macho (RTM). Mesmo assim, todos os animais receberam as pré-infusões uterinas no momento em que apresentaram esta sintomatologia de edema e hiperemia vulvar, independente de terem ou não apresentado RTM. Com relação ao grupo 1, pode ser observado que o tratamento com PS (100%) diferenciou-se estatisticamente do controle (90,0%), PS + EM (90,0%) e SF (80,0%); mas não do grupo EM (92,9%) (Tab. 2). No grupo 2, não ocorreram diferenças asseguradas

estatisticamente entre os cinco tratamentos (Controle 88,2%, PS 83,3%, EM 86,7%, PS + EM 76,5% e SF 83,3%).

A taxa ovulatória (número de corpos amarelos) não diferiu entre os tratamentos (Tab. 3), nem se avaliada separadamente dentro do grupo 1 (Tab. 4) e do grupo 2 (Tab. 5). O mesmo ocorreu com o número de embriões viáveis com os quais pôde ser estimado o tamanho da leitegada. Com relação à taxa de perda embrionária, ocorreu uma variação de valores entre os tratamentos que também não foi assegurada estatisticamente.

Tabela 5

Número médio de corpos amarelos, embriões viáveis e percentual de perda embrionária nas marrãs que não apresentaram RTM no momento das pré-infusões (Grupo 2) com Plasma Seminal (PS), Espermatozóides Mortos (EM), associação Plasma Seminal com Espermatozóides Mortos (PS + EM) e Solução Fisiológica (SF) (Porto Alegre, 1994).

Tratamento	Número Total de Marrãs Prenhes n	Corpos Amarelos		Embriões Viáveis		Perda Embrionária
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	%
Controle	15	14,37	0,89	12,26	0,96	14,3
OS	10	14,07	0,89	11,77	0,95	15,9
EM	13	14,66	1,09	12,46	1,16	13,6
PS + EM	13	15,67	0,83	12,14	0,88	21,6
SF	15	15,53	0,84	11,17	0,89	27,9

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que a pré-sensibilização uterina com EM e PS nos períodos de cio anteriores ao da inseminação artificial não promoveram aumento no tamanho da leitegada, nem diminuição nas perdas embrionárias. Com relação à taxa de parto, foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$), ficando mais evidente quando levada em conta a manifestação do cio (Tab. 2), entre o grupo tratado com PS e os tratados com PS + EM, SF e controle.

O estímulo de resposta imunocelular, levando ao aumento na eficiência reprodutiva em animais, foi inicialmente investigado em roedores de laboratório³. Neste trabalho, foi sugerido que a pré-sensibilização do útero com antígenos provenientes do macho utilizado na cobertura leva ao aumento no número de embriões implantados. Posteriormente, foram relatados trabalhos que demonstraram melhora na eficiência reprodutiva em suínos através da pré-sensibilização uterina com antígenos celulares sob a forma de leucócitos¹ ou células espermáticas mortas^{8,9}.

Murray *et al.*⁹ e Murray e Griffó⁸ sugeriram que, através de pré-sensibilizações uterinas em marrãs, seria possível aumentar em 10-15% sua performance reprodutiva. Os autores demonstraram, nestes dois trabalhos, ser possível aumentar em 1,3 leitão vivo por leitegada nas fêmeas que sofreram a infusão uterina com sêmen morto. Gooneratne e Thacker⁶, por sua vez, demonstraram melhora significativa ($p < 0,05$) na fertilidade em marrãs de reposição submetidas a pré-sensibilização uterina com sêmen atenuado no primeiro e segundo cio e cobertas no terceiro. Entretanto, a taxa de concepção do grupo controle no referido experimento foi de 63,3% frente a 70,0% e 82,0% dos grupos tratados com solução salina e sêmen atenuado, respectivamente. Dentro deste contexto, sugere-se a necessidade de pesquisas adicionais levando principalmente em conta a comparação

de resultados em experimentos com melhor eficiência reprodutiva⁹. O presente trabalho apresenta melhor performance reprodutiva quando comparado aos de Murray *et al.*⁹ e Gooneratne e Thacker⁶. Nestas condições, não foi possível observar melhora sensível na fertilidade das marrãs. Estes resultados corroboram com o trabalho de Blichfeldt⁴, que levanta a possibilidade de que a adição de leucócitos ou outros imunostimulantes ao sêmen melhore a fertilidade somente quando a sobrevivência embrionária seja baixa, por alguma outra razão.

Segundo Gooneratne e Thacker⁶, a melhora nas taxas de concepção obtidas não pode ser totalmente atribuída a fatores imunológicos após a infusão com sêmen morto. Os autores aventam a possibilidade de estímulos mecânicos adicionais na vagina e cérvix durante a infusão de sêmen morto e solução salina.

Com relação ao tamanho da leitegada, estimado com base no número de embriões normais aos 28-32 dias de gestação, não foi demonstrado aumento significativo ($p < 0,05$), vindo a corroborar com o descrito por Gooneratne e Thacker⁶. Ao contrário, Murray *et al.*⁹ e Murray e Griffó⁸ descrevem aumento no tamanho da leitegada das fêmeas que foram submetidas a pré-sensibilização uterina. No entanto, deve-se levar em conta que nestes dois trabalhos as fêmeas foram cobertas no segundo cio, enquanto no presente estudo a inseminação artificial foi realizada no terceiro cio. Portanto, é possível que estes efeitos positivos sobre o tamanho da leitegada sejam mascarados pela tendência natural a um aumento na taxa ovulatória com a inseminação das fêmeas no terceiro cio⁶.

Os resultados destes trabalhos demonstram que, através da pré-sensibilização uterina com espermatozóides mortos, plasma seminal ou sua associação, não é possível melhorar a fertilidade de marrãs frente a uma situação em que a eficiência reprodutiva do rebanho atinja bons níveis.

SUMMARY

The objective of this study was to investigate the effect of uterine presensitization with sperm or seminal antigens on replacement gilt fertility. One hundred and forty one hybrid-gilts at the age of 160-165 days were housed. Oestrus was induced with PMSG and hCG injection at housing. Oestrus detection was done twice daily using a boar. Intrauterine preinfusions were performed 24 hours after the onset of oestrus at the first and second oestrus. Groups of gilts were subjected to 5 different treatments: dead sperm (DS, n = 29), seminal plasma (SP, n = 29), seminal plasma and dead sperm (SP + DS, n = 28), physiological saline solution (SS, n = 28) and control (n = 27). Gilts which always had a positive backpressure test (BPT) at infusion time were analysed separately (Group 1) from those which had at least one negative BPT at infusion time (Group 2). Only one artificial insemination (AI) was performed 24 hours after the onset of the BPT at the third oestrus. Twenty-eight to thirty-two days after AI the gilts were slaughtered, fetuses and corpora lutea counted. In the group 1 the pregnancy rates by SP gilts (100%) was significantly ($p < 0.05$) superior than the control (90%), SP + DS (90.9%) and SS (80%), however was similar to DS (92.9%) infused gilts. In the group 2 there were no differences ($p < 0.05$) among groups. There was no difference among treatments with regard to the ovulation rates, number of normal embryos and embryonic loss rates. These results suggest that any significant improvement caused by uterin presensitization might only be observed when overall herd reproductive indexes are low.

UNITERMS: Marrã; Fertility; Uterus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALMLID, T. Does enhanced antigenicity of semen increase the litter size in pigs? **Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie**, v.98, p.1-10, 1981.
- 2- ANDERSON, L.L. Pigs. In: E.S.E. HAFEZ, (ed.), **Reproduction in farm animals**. Philadelphia : Lea and Febiger, 1980. p.358-86.
- 3- BEER, A.E.; SCOTT, J.R.; BILLINGHAM, R.E. Histocompatibility and maternal immunological status as determinants of fetoplacental weight and litter size in rodents. **Journal of Experimental Medicine**, v.142, p.180-96, 1975.
- 4- BLICHFELDT, T. Effect of addition of antigen, adjuvant or mitogen to semen on embryonic survival in artificially inseminated gilts. **Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie**, v.101, p.298-304, 1984.
- 5- CLARK, L.K.; LEMAN, A.D. Factor that influence litter size in pigs: Part 1. **Pig News and Information**, v.7, n.3, p.303-10, 1986.
- 6- GOONERATNE, A.D.; THACKER, P.A. Effect of intrauterine infusion of sperm antigens on gilt fertility. **Theriogenology**, v.31, p.1221-6, 1989.
- 7- KROES, Y.; VAN MALE, J.P. Reproductive lifetime of sows in relation to economy of production. **Livestock Production Science**, v.6, p.179-83, 1979.
- 8- MURRAY, F.A.; GRIFFO, A.P. Intrauterine infusion of killed semen to increase litter size in gilts. **Journal of Animal Science**, v.62, p.187-90, 1986.
- 9- MURRAY, F.A.; GRIFFO, A.P.; PARKER, C.F. Increased litter size in gilts by intrauterine infusion of seminal and sperm antigens before breeding. **Journal of Animal Science**, v.56, p.895-900, 1983.
- 10- VAN DER LENDE, T.; DONKER, R.; HAZELEGER, W. Embryonic survival in the pig after insemination with antigen-enriched semen. **Theriogenology**, v.26, p.431-7, 1986.

Recebido para publicação: 30/12/1996
Aprovado para publicação: 27/10/1998