

# Efeito da agitação de doses de sêmen suíno envasadas em duas embalagens diferentes sobre a qualidade espermática

Gabriel Antônio Bona<sup>1</sup>  
Lucas Michel Wolf<sup>1</sup>  
Leonardo Abreu Leal<sup>1</sup>  
Dalila Mabel Schmidt Tomm<sup>1</sup>  
Thaís Spohr Christ<sup>1</sup>  
Martin Schulze<sup>2</sup>  
Fernando Pandolfo Bortolozzo<sup>1</sup>  
Rafael da Rosa Ulguim<sup>1</sup>  
Ana Paula Gonçalves Mellagi<sup>1\*</sup>

*Effect of agitation of boar semen doses packed with two different systems on semen quality*

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

<sup>2</sup> Institute for Reproduction of Farm Animals Schönnow, Alemanha

\*Correspondência: ana.mellagi@ufrgs.br

**Palavras-chave:** Motilidade espermática. Sêmen suíno. Transporte de doses.

## Introdução

Devido à otimização operacional e logística das centrais produtoras de sêmen (CPS), em alguns países a distância percorrida pelas doses entre as CPS e granjas podem variar em mais de 600 km (Bennemann et al., 2020). Essa condição submete as doses a desafios quanto ao tempo, temperatura e vibrações emitidas durante o transporte. As vibrações podem prejudicar a qualidade das células espermáticas, causando estresse oxidativo, redução da motilidade e alterações na membrana plasmática, dependendo da frequência de vibrações (Schulze et al., 2018), duração de exposição (Tamanini et al., 2022), além da temperatura durante o transporte (Paschoal et al., 2021). As embalagens mais

utilizadas para envase são os tubos e embalagens tipo *bag* plástico, constituídas por dimensões e volumes diferentes e, portanto, padrões distintos de movimentação de fluidos e formação de espuma (Mellagi et al., 2022). O objetivo deste estudo foi comparar o efeito das vibrações em doses inseminantes suínas armazenadas em dois tipos de embalagem e avaliar a qualidade das células espermáticas.

## Material e métodos

Foram utilizados 11 ejaculados de diferentes machos, com motilidade superior a 80% e menos de 20% de defeitos morfológicos. Os ejaculados foram pesados e avaliados quanto à motilidade e concentração espermática utilizando o sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis, AndroVison®, Minitub). Os ejaculados foram então diluídos em BTS (*Beltville Thawing Solution*) previamente aquecido a 36 °C. Após diluído, doses foram fracionadas em duas embalagens tipo tubos (QuickTip Flexitubes®, 90 mL - Minitüb) ou do tipo *bags* (QuickTip Bag®, 45 mL - Minitüb). As doses foram processadas para conter 1,5 bilhão de espermatozoides em um volume total de 45 ml, com ar residual de aproximadamente 30%. As doses foram transportadas até o laboratório em uma caixa com temperatura controlada a 22 °C. Após a chegada ao laboratório, todas as doses foram submetidas a vibrações emitidas por um agitador orbital a 100 rotações por minuto a 17 °C durante seis horas consecutivas. Em seguida, as doses foram armazenadas a 17 °C por até

120 h, sendo avaliadas quanto à motilidade espermática e pH às 24, 72 e 120 h de armazenamento. Às 120 h também foi realizado o teste de termo-resistência (TTR). Os dados foram analisados no pacote estatístico SAS (versão 9.4), com modelos de medidas repetidas, incluindo o tipo de embalagem e momento de armazenamento como efeitos fixos, e o macho como efeito aleatório. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer a um nível de significância de 5%. As motilidades foram analisadas com distribuição binomial, enquanto o pH foi avaliado como distribuição normal.

## Resultados e discussão

Quanto à motilidade total do sêmen suíno armazenado em embalagens *bag* e tubo (Tabela 1), não houve diferenças significativas entre embalagens, tempo de armazenamento e interação entre os fatores ( $p = 0,31$ ,  $p = 0,29$  e  $p = 0,07$ , respectivamente). A motilidade progressiva também não mostrou diferenças significativas entre os tipos de embalagem ( $p = 0,32$ ), tempo de armazenamento ( $p = 0,12$ ), e não houve interação entre tipo de embalagem e tempo de armazenamento ( $p = 0,13$ ). No entanto, o pH foi influenciado pela interação entre tipo de embalagem e tempo de armazenamento ( $p < 0,01$ ). Além do pH ser menor para o grupo *bag* em todos os momentos, a queda de pH entre 24 e 72 h de armazenamento foi maior para este grupo em comparação ao grupo tubo. Essas altera-

ções de pH podem ser atribuídas à hidrodinâmica das doses de sêmen e à formação de bolhas de ar e espuma. A presença de espuma pode ter efeitos negativos nas proteínas de superfície (Maa e Hsu, 1997). Apesar de não ter sido avaliada a fluidez da membrana plasmática, alterações de pH podem ter ocorrido devido à liberação de substâncias celulares, com a desnaturação de proteínas.

No TTR, realizado após 30 e 300 minutos (Tabela 2), não observou-se efeito significativo para motilidade total e progressiva do tipo de embalagem ( $p = 0,23$  e  $p = 0,81$ , respectivamente) e interação entre tipo de embalagem e tempo de armazenamento ( $p = 0,71$  e  $p = 0,70$ , respectivamente). Houve redução significativa de ambas as motilidades após 300 min de incubação, quando comparado a 30 min, independente da embalagem ( $p < 0,01$ ).

## Conclusão

Apesar de não ter sido observada diferença entre *bag* e tubo após 6 h de agitação para motilidade espermática durante o armazenamento e após TTR, pH foi reduzido nas doses produzidas em *bag*. Esses resultados indicam a necessidade de estudos adicionais para determinar o efeito de tempo de armazenamento mais prolongado, explorando os fatores envolvidos no estresse causado pelo transporte, com ênfase no tipo de embalagem e tempo de submissão a vibrações na qualidade espermática de doses de sêmen suíno.

**Tabela 1** - Motilidade espermática e pH de doses de sêmen suíno submetidas à emissão de vibração a 100 RPM durante seis horas e armazenadas em embalagens tipo *bag* ou tubo por até 120 horas

	Embalagens		Valor-p		
	<i>Bag</i>	Tubo	E	TA	E x TA
Motilidade total, %	-	-	0,31	0,29	0,07
24 horas	80,52 ± 2,81	81,99 ± 2,65	-	-	-
72 horas	80,58 ± 2,27	79,40 ± 2,37	-	-	-
120 horas	75,98 ± 2,78	80,04 ± 2,41	-	-	-
Motilidade progressiva, %	-	-	0,32	0,12	0,13
24 horas	73,33 ± 3,17	75,71 ± 2,98	-	-	-
72 horas	73,49 ± 2,57	72,35 ± 2,64	-	-	-
120 horas	67,45 ± 3,39	71,55 ± 3,12	-	-	-
pH	-	-	<0,01	<0,01	<0,01
24 horas	7,33 ± 0,020 <sup>aA</sup>	7,46 ± 0,020 <sup>bA</sup>	-	-	-
72 horas	7,18 ± 0,015 <sup>aB</sup>	7,39 ± 0,015 <sup>bB</sup>	-	-	-
120 horas	6,98 ± 0,187 <sup>aC</sup>	7,20 ± 0,018 <sup>bC</sup>	-	-	-

Nota: <sup>a,b</sup> Letras diferentes significam diferença entre as embalagens ( $p < 0,05$ ). <sup>A,B,C</sup> Letras diferentes significam diferença no tempo de armazenagem entre tipos de embalagem ( $p < 0,05$ ). E = tipo de embalagem (*bag* ou tubo); TA = tempo de armazenamento (24, 72 e 120 h).

**Tabela 2** - Motilidade espermática após o teste de termo-resistência às 120h de armazenamento de doses de sêmen suíno submetidas à vibração de 100 RPM por seis horas e envasadas em embalagens tipo *bag* ou tubos

	Embalagens		E	Valor-p	
	<i>Bag</i>	Tubo		TI	E × TI
Motilidade total, %	-	-	0,23	<0,01	0,71
30 min	72,56 ± 4,26	71,30 ± 4,38	-	-	-
300 min	36,88 ± 4,98	32,49 ± 4,69	-	-	-
Motilidade progressiva, %	-	-	0,08	<0,01	0,70
30 min	64,21 ± 5,57	61,41 ± 5,74	-	-	-
300 min	23,69 ± 4,39	19,05 ± 3,76	-	-	-

Nota: E = tipo de embalagem (*bag* ou tubo); TI = tempo de incubação (30 e 300 minutos).

## Agradecimentos

CNPq - Edital: Chamada CNPq/MCTI/FNDCT n° 18/2021  
- UNIVERSAL.

## Referências

- BENNEMANN, P. E. et al. Characterization of boar studs in Brazil. *Ciência Rural*. v.50, 2020.
- MAA, Y.-F.; HSU, C.C. Protein denaturation by combined effect of shear and air-liquid interface. *Biotechnol. Bioeng.* 54, 503-512, 1997.
- MELLAGI, A. P. G. et al. Update on artificial insemination: Semen, techniques, and sow fertility. *Molecular reproduction and development*. p.1 - 11, 2022.
- PASCHOAL, A.F. et al. Factors influencing the response of spermatozoa to agitation stress: Implications for transport of extended boar semen. *Theriogenology*. v.175, p.54-60, 2021.
- SCHULZE, M. et al. Effect of vibration emissions during shipping of artificial insemination doses on boar semen quality. *Animal Reproduction Science*. v.192, p.328-334, 2018.
- TAMANINI, M. S. C. et al. Impact of agitation time of boar semen doses on sperm traits in short- and long-term extenders. *Animal Reproduction Science*. v.247, p.107159, 2022.

# Toxicidade de lenços umedecidos (uso humano) frente à dose inseminante de suínos

Jorgea Pradieé\*  
Letícia Cantele  
Carine Casagrande  
Lucas Bevilacqua  
Kerlin Calderan

## *Toxicity of wet wipes (human use) against the insemination dose for swine*

Bretanha Suínos, Passo Fundo, Brasil

\*Correspondência: jorgea@retanhasuinos.com.br

**Palavras-chave:** Morfologia espermática. Motilidade. Sêmen.

### Introdução

Atualmente o uso de lenços umedecidos (uso humano) para limpeza/higienização das fêmeas pré-inseminação artificial tem se tornado frequente, principalmente pela praticidade que o produto oferece para limpeza da região perineal em fêmeas estabuladas em baias que não permitem o escoamento dos dejetos. No entanto alguns compostos dos lenços umedecidos podem ser prejudiciais ao sêmen suíno e interferir negativamente na inseminação. O objetivo do presente resumo foi avaliar os efeitos do lenço umedecido (uso humano) e seus compostos sobre a motilidade, vigor, aglutinação, morfologia e vitalidade espermática.

### Material e métodos

Foram utilizadas 20 doses prontas de 45 ml com concentração espermática de 1,25 bilhões de espermatozoides. As doses foram divididas em duas alíquotas (tratamento controle e lenço) de 3 ml de sêmen, os quais foram colocados em contato com uma fração do lenço umedecido (2,5 x 2,5 cm; Pradiee et al., 2016) em tubo cônico de 15 ml e incubados em banho-maria a

37 °C. Testou-se uma marca comercial de uso humano contendo água, propileno glicol, phenoxyethanol, butylparabeno, ethylparabeno, isobutylparabeno, methylparabeno, propylparabeno, sodium laureth sulfate, tetrasodium edta, extrato de *Aloe Barbadensis*, extrato da flor da *Chamomilla Recutita* (matricaria), triclosan, alpha-isomethyl ionone, d-limoneno. Foram avaliadas motilidade, vigor e aglutinação (0h, 15min, 30min, 1h, 2h,), morfologia e vitalidade espermática (eosinonigrosina) (0h, 1h, 2h). Os dados foram analisados em programa estatístico RStudio. O teste de normalidade foi realizado pelo teste Shapiro-Wilk. As variáveis motilidade, vigor e morfologia (total e cauda) foram analisadas pelo teste estatístico Kruskal-Wallis, enquanto a variável aglutinação foi realizada pelo teste McNemar (*chi-square*).

### Resultados e discussão

A motilidade espermática foi afetada negativamente pela presença do lenço ( $p < 0,05$ ), conforme Tabela 1. Observou-se uma queda de aproximadamente 40% de espermatozoides móveis já no primeiro contato do lenço com a dose inseminante, e agrava-se ao longo do tempo de incubação, demonstrando efeito negativo do lenço e seus componentes. E como era esperado, a amostra controle não sofreu modificações bruscas mantendo-se com motilidade por mais de duas horas de incubação. Em relação ao vigor (*score*), o lenço umedecido apresentou padrão semelhante à motilidade, sofrendo redução do vigor ao longo do tempo de incubação ( $p < 0,05$ ) e o controle mostrando-se mais estável. Da mesma forma que as variáveis anteriores, a vitalidade espermática no tratamento lenço também

apresentou queda ao longo do tempo de incubação, sendo em todos os tempos de incubação menor do que o tratamento controle.

Quanto à morfologia espermática, não houve diferença estatística entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), ou seja, não houve alterações na morfologia em função da presença do lenço umedecido no meio. Um fator que poderia ser considerado seria a presença de cauda dobrada/enrolada, sendo um indício de choque osmótico causado por

algum componente do lenço, no entanto esta patologia não apresentou diferença entre os tratamentos. Por último, a presença de aglutinação espermática no tratamento contendo lenço ( $p = 0,04$ ) demonstra que algum componente da fórmula altera o meio, proporcionando a aglutinação dos espermatozoides, o que prejudica a motilidade e viabilidade e é uma reação irreversível. Não foram observadas aglutinações em nenhum tempo de incubação do tratamento controle.

**Tabela 1** - Média e desvio padrão da motilidade nos tempos 0h, 15min, 30min, 1h e 2h de incubação, morfologia e vitalidade nos tempos 0h, 1h e 2h de incubação para tratamento controle e lenço.

Variáveis	Motilidade (%)		Morfologia (%)		Vitalidade (%)	
	Controle	Lenço	Controle	Lenço	Controle	Lenço
0h	77,89 ± 9,76 <sup>a</sup>	37,89 ± 12,72 <sup>b</sup>	78,84 ± 16,46 <sup>a</sup>	81,89 ± 14,04 <sup>a</sup>	93,68 ± 3,57 <sup>a</sup>	80,42 ± 10,77 <sup>b</sup>
15min	73,15 ± 8,20 <sup>a</sup>	13,94 ± 13,49 <sup>b</sup>	-	-	-	-
30min	63,94 ± 10,35 <sup>a</sup>	6,57 ± 10,35 <sup>b</sup>	-	-	-	-
1h	57,89 ± 9,17 <sup>a</sup>	6,57 ± 10,54 <sup>b</sup>	80,47 ± 16,27 <sup>a</sup>	81,26 ± 13,98 <sup>a</sup>	90,94 ± 4,88 <sup>a</sup>	56,36 ± 19,72 <sup>b</sup>
2h	51,57 ± 12,13 <sup>a</sup>	0,78 ± 2,33 <sup>b</sup>	79,78 ± 18,90 <sup>a</sup>	80,26 ± 16,02 <sup>a</sup>	89,42 ± 6,30 <sup>a</sup>	50,42 ± 20,33 <sup>b</sup>

Nota: Letras diferentes na linha diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

## Conclusão

De acordo com os resultados apresentados, os lenços umedecidos utilizados no experimento demonstraram toxicidade aos espermatozoides, visto que reduzem a motilidade ao entrar em contato com o lenço e causam aglutinação.

## Referências

- HENRY, M., et al. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), 2013.
- PRADIEE, J. et al. Spermotoxicity of commercial condoms made from polyurethane, polyisoprene and latex, using domestic ruminants as an experimental animal model. *Andrologia*, v.48, p.475-480, 2016.

# Avaliação da limpeza e desinfecção das borrachas de coleta de sêmen em sistema semiautomático

Camila Musskoff<sup>1\*</sup>  
Letícia Cantele<sup>2</sup>  
Carine Casagrande<sup>2</sup>  
Lucas Bevilacqua<sup>2</sup>  
Kerlin Calderan<sup>2</sup>  
Jorgea Pradieé<sup>2</sup>

## *Evaluation of cleaning and disinfection of semen collection rubbers in a semi-automatic system*

<sup>1</sup> Bretanha Importação e Exportação Ltda, Caibi, Brasil

<sup>2</sup> Bretanha Importação e Exportação Ltda, Passo Fundo, Brasil

\*Correspondência: [camila@bretanhasuinos.com.br](mailto:camila@bretanhasuinos.com.br)

**Palavras-chave:** Coleta de sêmen. Suíno. Swab.

### Introdução

As borrachas de coleta, ou “borrachões” como são usualmente chamadas, tem função de auxiliar na fixação do pênis na coleta de sêmen em manequim semiautomático. As borrachas são materiais resilientes e duráveis, porém um desafio é a correta limpeza e desinfecção do material. Um dos motivos é o desgaste da borracha devido ao uso e as lavagens, proporcionando discreta porosidade no material, o que poderia dificultar a limpeza. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a limpeza e a desinfecção das borrachas através da coleta de swab para identificação de crescimento de microrganismos.

### Material e métodos

Borrachas novas foram colocadas em uso (n = 15, medida 18 x 8 cm). As mesmas foram usadas diariamente na produção e passavam por processo de limpeza e

desinfecção. Após coletar o macho, retirava-se o papel toalha (usado para envolver a borracha) e mergulhava-se a borracha em solução contendo água, 1% de detergente e 10% de álcool (90%v/v). Ao terminar a coleta, a solução era desprezada e as borrachas seguiam para lavagem com água e sabão neutro, onde eram esfregadas com esponja. Em seguida, eram enxaguadas e deixadas secar para o próximo uso. Uma vez por semana antes do uso eram realizados swabs das 15 borrachas novas e enviadas para o laboratório de microbiologia (CDSA/UPF). As avaliações foram realizadas a cada semana de maio a julho de 2022, totalizando 10 análises. Estima-se que as borrachas novas até a última avaliação tenham tido pouco mais de 50 usos. Para fins de comparação, foram realizados swabs de cinco borrachas antigas (já usadas há mais tempo na produção) nas últimas três coletas.

### Resultados e discussão

De acordo com os resultados demonstrados na Figura 1, pode-se dizer que o protocolo de lavagem, limpeza e desinfecção das borrachas, usadas para auxílio na fixação do pênis ao manequim semiautomático foi efetiva, demonstrando que os protocolos estão sendo devidamente executados. Shulze et al. (2015) enfatizam a importância do treinamento da equipe de laboratório no monitoramento de pontos críticos de controle na produção de sêmen de rotina e auditorias em centros de inseminação artificial para o controle externo dos parâmetros de higiene. Isto porque em estudo realizado pelos autores foram encontrados números elevados ( $>10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>) de contagem bacteriana nos gabinetes de aquecimento, na transferência de ejacu-

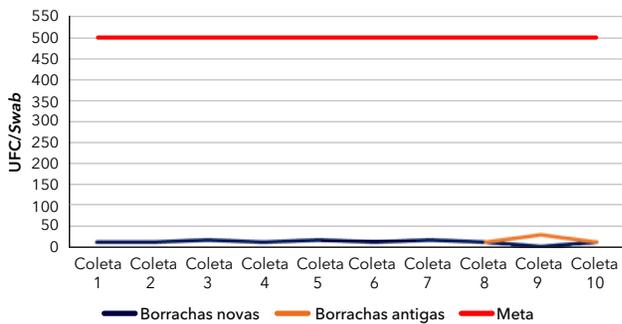
lados, elementos de operação manual e superfícies de laboratório. Das 15 borrachas novas avaliadas, somente três apresentaram contaminação, sendo uma em cada repetição: na semana 3 (15 usos), na semana 5 (25 usos) e na semana 7 (35 usos), apresentando  $1,0 \times 10^2$  est (UFC/swab) cada borracha. Se considerarmos a conformidade até 500 UFC dentro do processo, então 100% das amostras estavam dentro da conformidade. Das borrachas antigas, foram realizados swab de cinco borrachas nas últimas três avaliações como parâmetro de comparação, já que as borrachas novas se apresentavam dentro da conformidade. E das três repetições, somente uma borracha das cinco analisadas apresentou contaminação na repetição 3 ( $1,0 \times 10^2$  est (UFC/swab)). Outro tema que poderia ser levado em consideração em relação às borrachas é o desgaste e a porosidade que dificultam a limpeza. No entanto, os swabs das borrachas antigas demonstraram que com os cuidados na limpeza e desinfecção, ou seja, com a limpeza efetiva do material, elas podem ser usadas por bastante tempo.

## Conclusão

Conclui-se que o protocolo de limpeza e desinfecção das borrachas usadas para auxílio da fixação do pênis no manequim semiautomático é um processo eficiente, tanto nas borrachas novas quanto nas borrachas antigas utilizadas na produção.

## Referências

SCHULZE, M. et al. Analysis of hygienic critical control points in boar semen production. *Theriogenology*, v.83, p.430-437, 2015.



**Figura 1** - Média (UFC/swab) das coletas realizadas nas borrachas novas (15) e antigas (5), usadas para auxílio na fixação do pênis no manequim semiautomático de coleta de sêmen de suínos.

# Estresse térmico na dose inseminante de suínos

## *Thermal stress in the insemination dose of boars*

Carine Dahl Corcini<sup>1\*</sup>  
Antonio Sergio Varela Junior<sup>2</sup>  
Adeel Ahmad<sup>3</sup>  
Marc Yeste<sup>3-5</sup>

<sup>1</sup> Reprodução Animal Comparada, Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil

<sup>3</sup> Biotechnology of Animal and Human Reproduction (Techno Sperm), Institute of Food and Agricultural Technology, University of Girona, Girona, Espanha

<sup>4</sup> Unit of Cell Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Girona, Girona, Espanha

<sup>5</sup> Catalan Institution for Research and Advanced Studies (ICREA), Barcelona, Espanha

\*Correspondência: corcinicd@gmail.com

**Palavras-chave:** Andrologia. Aumento temperatura. Biotécnicas.

### Introdução

A qualidade das doses inseminantes tem grande importância na indústria suinícola, principalmente pela utilização da inseminação artificial (Yeste, 2017). Ainda existem muitos pontos que devem ser melhores explorados pela característica da célula espermática, pela contaminação das doses ou até mesmo pela logística de transporte das doses, e esses todos podem influenciar a taxa de parição ou nascidos vivos (Lopez Rodriguez et al., 2017). Nas variações de temperatura na conservação dos espermatozoides suínos há um aumento do nível de Ca<sup>2+</sup> extracelular, podendo levar a uma intoxicação por cálcio durante o resfriamento e aquecimento (Yeste, 2017). A purmorphamine é uma pequena molécula agonista do canal de sinalização do Hedgehog, que diminui a entrada de cálcio nas células

mesenquimais (Liu et al., 2018). Este estudo teve como objetivo determinar a qualidade cinética da célula espermática durante o processo de estresse térmico.

### Material e métodos

Foram utilizados dez ejaculados de diferentes machos sexualmente maduros da raça Pietran (Grup Gepork S.L., Masies de Roda, Spain). As amostras eram transportadas a 17 °C até duas horas após coleta, diluídas em diluente comercial. No laboratório TechnoSperm as amostras eram divididas em três grupos: grupo controle, somente BTS; grupo 1, com 1 µm Purmorphamine; e grupo 2, com 10 µm Purmorphamine. As doses inseminantes armazenadas por 24 horas a 17 °C apresentaram motilidade total de 83% no grupo controle, 85% no grupo 1 e 81% no grupo 2, não tendo diferença entre os tratamentos. Após a diluição, as amostras foram armazenadas a 17 °C por 24 horas. Após esse período as amostras foram armazenadas em estufa a 37 °C por até 48 horas.

A cinética espermática foi avaliada no período de 24 e 48 horas após a incubação a 37 °C, usando o sistema computadorizado de análise seminal (Integrated Sperm Analysis System V1.0; Proiser S.L., Valencia, Espanha). Cinco µL da amostra foram colocados na câmara Makler 10 µm previamente aquecida. Foram analisados 1000 espermatozoides na objetiva de 100 X (Olympus BX41; Olympus, Tokyo, Japão). Foram considerados espermatozoides com motilidade progressiva os que apresentavam VAP ≥10 µm/s e STR ≥70%.

A análise estatística utilizou o teste de ANOVA com comparação das médias por LSD através do software Statistix 8®.

## Resultados e discussão

A utilização da purmopharine na concentração de 5 µM fez com que a motilidade total permanecesse superior a 70% em temperatura de 37 °C por 48 horas (Tabela 1). Segundo Esteras e Abramov (2020), as mitocôndrias são fundamentais para a função de homeostase no espermatóide, em particular a geração de ATP e cálcio no citosol, que são fatores importantes na motilidade espermática. Pode-se verificar que a utilização do purmophamine (Liu et al., 2018) estabilizou a questão de ATP e cálcio intracelular, permitindo uma maior longevidade à célula mantida em

condições de estresse térmico. Outro ponto importante a ser observado é que após o armazenamento a 17 °C, a dose-controle, quando submetida a uma temperatura de 37 °C próximo ao fisiológico da fêmea perde muita motilidade, pois a dose apresentava 83%, e após 24 horas está abaixo de 35%. Desta forma, cabe destacar a importância de manter a temperatura controlada, pois esse aumento de temperatura pode afetar negativamente a taxa de parição (Yeste, 2017).

Ainda são necessários mais estudos para entender a rota de atuação da purmophamine na célula espermática, principalmente porque a concentração de 10 µM afetou negativamente a qualidade da motilidade, talvez por ter inibido por completo os canais de Hedgehog (Liu et al., 2018), uma vez que sem o cálcio intracelular não é possível a motilidade espermática.

**Tabela 1** - Motilidade espermática total e progressiva das amostras armazenadas a 37 °C (estresse térmico) por um período de 48 horas após um tempo de estabilização a 17 °C

Tratamentos	Motilidade total		Motilidade Progressiva	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
BTS	32,9 ± 6,5 <sup>b</sup>	40,5 ± 6,0 <sup>b</sup>	26,0 ± 5,7 <sup>b</sup>	25,4 ± 6,0 <sup>b</sup>
5 µM Purmophamine	72,7 ± 2,4 <sup>a</sup>	72,5 ± 0,57 <sup>a</sup>	45,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	54,6 ± 9,7 <sup>a</sup>
10 µM Purmophamine	9,0 ± 2,0 <sup>c</sup>	8,8 ± 0,4 <sup>c</sup>	6,3 ± 1,9 <sup>c</sup>	6,6 ± 0,2 <sup>c</sup>

Nota: Os resultados são expressos em média e erro padrão da média das 10 amostras avaliadas em cada tratamento. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste LSD ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos.

## Conclusão

A purmophamine 5 µM conserva a motilidade total das células espermáticas mantidas em estresse térmico.

## Referências

- ESTERAS, N., ABRAMOV, A. Y. Mitochondrial calcium deregulation in the mechanism of beta-amyloid and tau pathology. *Cells* v.9, p. 2135, 2020.
- LIU, F. et al. Sonic hedgehog signaling pathway mediates proliferation and migration of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis via MAPK/ERK signaling pathway. *Front. Immunol.* v. 9, pp.2847, 2018.
- LOPEZ RODRIGUEZ, A. et al. Boar management and semen handling factors affect the quality of boar extended semen. *Porc Health Manag* v.3, 2017.
- YESTE, M. State-of-the-art of boar sperm preservation in liquid and frozen state. *Anim. Reprod.*, v.14, n.1, p.69-81, 2017.

# Case report: Assisted Reproduction Program (ARP) and the monitoring the quality of semen dose, results at a pig farm in Brazil

Luciano Sales Santiago Caputo<sup>1\*</sup>  
Diogo B. Gonçalves<sup>2</sup>  
Kerlin Calderan<sup>1</sup>  
Jorgea Pradieé<sup>1</sup>

*Relato de caso: Programa de Reprodução Assistida (PRA) e o monitoramento da qualidade de doses de sêmen, resultados de uma granja de suínos no Brasil*

<sup>1</sup> Bretanha Suínos, Passo Fundo, Brazil

<sup>2</sup> DataSwine, Castro, Brazil

\*Correspondence: luciano@bretanhasuinos.com.br

Keywords: Artificial insemination. Boar. Semen.

## Introduction

Analysis of artificial insemination doses is important to evaluate the quality of the product. That needs to have minimum guarantee in microbiological quality, sperm concentration and morphology to be effective, that is to promote the fertilization. The Assisted Reproduction Program (ARP) aims to monitor the quality of the semen dose that arrives at the farm and is used to artificial insemination. These abstract aims to present a year (2021) of monitoring data of a farm located southeastern Brazil.

## Material and methods

At least 5 randomly chosen doses were sent weekly to a reference laboratory for analysis of microbiological quality (mesophilic count - CFU/mL), sperm concentration and morphology. It is used as quality parameters up to 500 CFU/mL, maximum of 30% of pathologies and the sperm concentration of the dose depends on boar stud. Data from a year of 2021 PigChamp ProEuropa Software (litter size) and ARP database (mesophilic count, morphology and sperm concentration) are used.

## Results and discussion

Average and standard deviation of total births by month: January (15.21 ± 3.84); February (15.47 ± 3.94); March (15.58 ± 4.07); April (15.84 ± 3.74); May (15.53 ± 3.9); June (15.59 ± 4.16); July (15.76 ± 3.96); August (16.16 ± 3.9); September (15.71 ± 3.9); October (16.20 ± 3.73); November (15.8 ± 3.89) and December (16.2 ± 3.78). Month (CFU/mL) (week average): January (<10); February (<10); March (<10); April (<10); May (1900); June (2950); July (290); August (1230); September (5000); October (944); November (2240) and December (16). In September there was a difference of 0.45 piglets compared to August, this reduction is probably due to due to the high contamination in the dose in the months of August and September. Soon after, in September, with a reduction in the bacterial count, but still with a high count (944 CFU/mL), there was an increase of 0.49 piglets

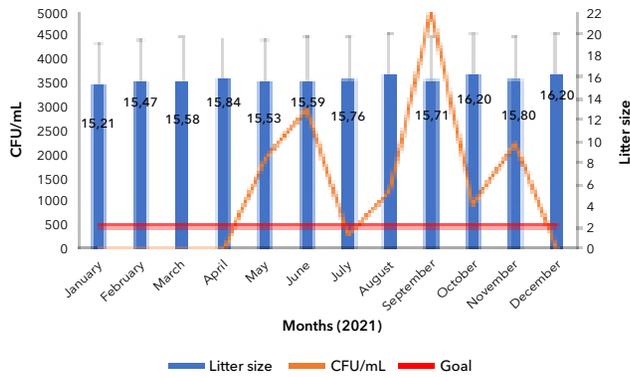
in October production. And in November, there was a return of contamination, an increase in bacterial count (2240 CFU/mL), causing a loss of 0.4 piglets in November production. Finally, in December with controlled contamination, there was an increase of 0.4 piglets in production. The spermatic concentration and morphology did not presented variations that offers risk to production, and because of that they weren't presented. These results corroborate with authors who describe a reduction in the size of the litter due to contamination in the doses (Maroto Martín et. al, 2010).

## Conclusion

The quality of the insemination dose is extremely important since it represents 50% of the fertilization success. However, even though the results for successful insemination are multifactorial, when it is possible to evaluate most of the variables that influence insemination, greater are the chances of finding the causes of failures, in this case reproductive ones.

## References

MAROTO MARTÍN, L.O. et al. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. *Animal Reproduction Science*, v. 120, p. 95-104, 2010.



**Figure 1** - Average and standard deviation of litter size and CFU/mL by month during 2021.

# Sows from the crossing of a commercial strain with the Moura breed have higher expression of lipogenic genes in the mammary tissue compared to the pure breed

Rayllana Larsen  
Daniella Thaís de Castro Bessani  
Rafaella Horstman  
Charline Godinho Padilha  
José Cristani  
Dimas Estrasulas de Oliveira\*

*Porcas cruzas de uma linhagem comercial com a raça Moura têm maior expressão de genes lipogênicos no tecido mamário comparadas com a raça pura*

Departamento de Produção Animal e Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Brazil

\*Correspondence: [dimas.oliveira@udesc.br](mailto:dimas.oliveira@udesc.br)

**Keywords:** Fat synthesis. Milk composition. Milk fat.

## Introduction

Milk yield and composition of highly prolific sows is insufficient to achieve maximum growth of current litter sizes (Noble et al., 2002). However, there is a breed effect that could be investigated. We hypothesized that genes encoding enzymes for milk fat synthesis were more expressed in crossbreeding (commercial line x purebred) compared to purebred sows. The objective was to compare the expression of genes involved in milk

fat synthesis in mammary explants of Moura breed and a crossbreeding commercial line x Moura.

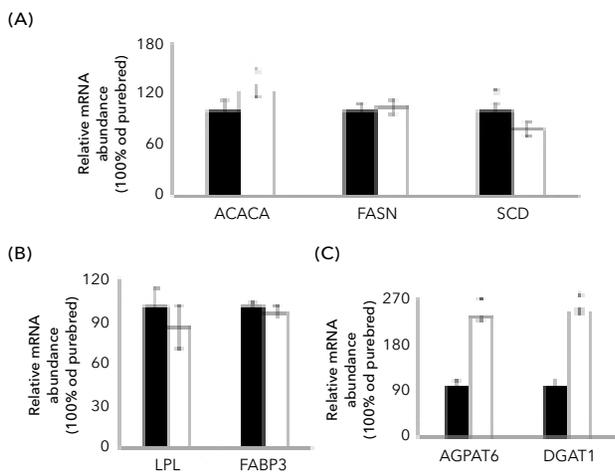
## Material and methods

Mammary gland explants were collected by biopsy from two purebred (Moura) and two crossbred (commercial line x Moura) multiparous sows (BW 200 ± 10 kg) on the 25th day of lactation under the same diet and management. The explants were cultured for 24 h in 6-well plates at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub> and saturated humidity. After 24 hours, total RNA was extracted, complementary DNA (cDNA) was synthesized and RT-qPCR carried out. The expression of genes acetyl-CoA carboxylase alpha (ACACA $\alpha$ ), fatty acid synthase (FASN), stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1), lipoprotein lipase (LPL), fatty acid binding protein 3 (FABP3), acylglycerol phosphate acyltransferase 6 (AGPAT6), diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) was measured.

Data were analysed by PROC MIXED (SAS, 2017) using the genetics as a fixed and the sample within the genetics as a random effect and the geometric mean of the housekeeping genes ribosomal protein S18 (RPS18) and actin-beta (Actin- $\beta$ ) was used as a covariate in the model. A significant difference was considered when  $p < 0.05$ .

## Results and discussion

The crossbred showed, respectively, 22, 131 and 142% higher expression of genes codifying ACACA $\alpha$  ( $p = 0.03$ ), AGPAT6 ( $p = < 0.0001$ ) and DGAT1 ( $p = < 0.0001$ ). These genes are responsible for the de novo milk fat and triglyceride synthesis, respectively. The greater expression of lipogenic genes reflect a higher concentration of fat in the milk of crossbred sows, which has already been reported by other authors (Sinclair et al., 1999; Bondoc et al., 2022). The SCD1 gene, responsible for the enzyme delta-9-desaturase was 22% lower ( $p = 0.03$ ) in crossbred, suggesting that more saturated fatty acids could be found in the milk fat. This result agrees with Óvilo et al. (2014) that reported an upregulation of SCD and a higher concentration of monounsaturated fatty acids (MUFA) in the muscle of a purebred compared to a crossbred. FASN, LPL and FABP3 that are related to elongation to sixteen carbon chain, plasma uptake and fatty acid intracellular transport, respectively, were not different ( $p > 0.05$ ).



**Figure 1** - Gene expression of acetyl-CoA carboxylase- $\alpha$  (ACACA $\alpha$ ), fatty acid synthase (FASN), stearyl-CoA desaturase 1 (SCD1), lipoprotein lipase (LPL), fatty acid binding protein 3 (FABP3), acyl glycerol phosphate acyltransferase 6 (AGPAT6) and diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) in mammary tissue of sows Crossbred (□), compared with Purebred (■).

Note: Values are means  $\pm$  SEM. Significant differences ( $p < 0.05$ ).

## Conclusion

Crossbred sows have higher expression of genes responsible for milk fat synthesis compared to purebred sows.

## References

- BONDOC, O. L. et al. Fatty acid profiles and nutritional indices/ratios of colostrum and transient milk from Landrace, Large White, and Landrace  $\times$  Large White Crossbred sows. *Tropical Animal Science Journal*. v. 46. p. 112-121, 2022.
- NOBLE, M. S. et al. Lactational performance of first-parity transgenic gilts expressing bovine alpha-lactalbumin in their milk, *Journal of Animal Science*, v. 80, n. 4. 2002.
- ÓVILO, C. et al. Longissimus dorsi transcriptome analysis of purebred and crossbred Iberian pigs differing in muscle characteristics. *BMC Genomics*. v.15, p. 413, 2014.
- SAS, 2017. SAS<sup>®</sup> University Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SINCLAIR, A. G. et al. The effect of dietary protein level on milk yield and composition and piglet growth and composition of the Meishan synthetic and European White breeds of sow. *Animal Science*, v. 68, n. 4, p. 701-708, 1999.



# Regiões genômicas potencialmente associadas ao anestro em leitoas

*Genomic regions potentially associated with anestrus in gilts*

Cleverson Hebbel<sup>1,2</sup>  
Monike Quirino<sup>1</sup>  
Pricila Basselar<sup>1,2</sup>  
Adriana Mércia Guaratini Ibelli<sup>3,4</sup>  
Mônica Corrêa Ledur<sup>3,5</sup>  
Marcos Antonio Zanella Mores<sup>3</sup>  
Rafael Keith Ono<sup>6</sup>  
Maurício Egídio Cantão<sup>3</sup>  
Jane de Oliveira Peixoto<sup>3,4</sup>  
Mariana Groke Marques<sup>1,3</sup>  
Rafael da Rosa Ulguim<sup>7</sup>  
Bernardo Garziera Gasperin<sup>8</sup>  
Ivan Bianchi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal, Instituto Federal Catarinense, Araquari, Brasil

<sup>2</sup> Pamplona Alimentos S.A., Rio do Sul, Brasil

<sup>3</sup> Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

<sup>4</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Brasil

<sup>5</sup> Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Santa Catarina, Chapecó, Brasil

<sup>6</sup> Agroceres PIC, Rio Claro, Brasil

<sup>7</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

<sup>8</sup> Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil

\*Correspondência: [ivan.bianchi@ifc.edu.br](mailto:ivan.bianchi@ifc.edu.br)

**Palavras-chave:** Falhas reprodutivas. Marcadores genéticos. Suínos.

## Introdução

Leitoas representam o maior percentual de fêmeas em um sistema de produção de suínos, cujas taxas de reposição anual são em torno de 45% (Lucia et al., 2000). As falhas reprodutivas estão entre as principais razões de descarte, sendo o anestro responsável por aproximadamente 20% destes descartes (Ulguim et al., 2014). Falhas hormonais, metabólicas e genéticas são consideradas como principais fatores, no entanto, a etiologia desta condição ainda não é totalmente compreendida. O objetivo deste trabalho foi identificar regiões genômicas associadas com anestro em leitoas por meio do estudo de associação global do genoma (GWAS). A descoberta destas regiões poderá auxiliar a identificação de genótipos mais precoces, incluindo

aqueles com potencial problema reprodutivo, e seu uso na seleção possibilitará mitigar este problema nos plantéis de suínos.

## Material e métodos

Foram coletadas amostras de tecido de orelha de 300 leitoas com aproximadamente 230 dias de idade, em delineamento caso-controle (1:1), sendo 150 em anestro e 150 cíclicas, provenientes de uma agroindústria de Santa Catarina. Leitoas foram identificadas em anestro quando houve ausência dos sinais de estro, como reflexo de tolerância à pressão lombar exercida pelo homem na presença de um macho sexualmente maduro, edema e hiperemia da vulva. A confirmação do anestro ocorreu ao abate através de inspeção do trato reprodutivo, observando a ausência de corpos lúteos. A genotipagem foi realizada com o painel PorcineSNP50 BeadChip (Neogen). O controle de qualidade (QC) das amostras e polimorfismos de base única (SNPs) foi realizado com o programa PLINK 1.9 (Purcell et al., 2007), removendo animais com *call rate* <0,9, heterozigosidade >3,0 desvios padrão e SNPs com frequência do alelo menor (MAF) <2%, *call rate* <0,98 e os que falharam no teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) <1x10<sup>-6</sup>. O GWAS foi realizado com o PLINK utilizando a opção *-logistic* com os componentes principais do MDS *plot* como covariáveis. Os limiares de significância seguiram os critérios de Bonferroni. As análises funcionais foram

realizadas no VEP do Ensembl (versão 109) e PigQTLdb (versão 50), considerando uma janela de 0,5 Mb da distância dos SNPs identificados.

## Resultados e discussão

Após o QC, 47.753 SNPs e 242 animais (121 leitões cíclicas e 121 leitões em anestro) foram utilizados para o GWAS. Três SNPs sugestivamente associados com anestro em suínos, nos cromossomos SSC7, SSC3 e SSC9, foram encontrados (Figura 1). No SSC3, um SNP em região intergênica foi localizado em uma região de QTL para número de tetas. Na janela de 0,5 Mb deste SNP estão localizados cinco genes (MTA3, KCNG3, COX7A2L, EML4 e PKDCC), sendo que MTA3 (Alawadhi et al., 2022), PKDCC (Klein et al., 2010) e COX7A2L (Arao et al., 2011) já foram associados a características reprodutivas em diferentes espécies. Já o SNP do SSC7 encontra-se em um íntron do gene da distonina (DST), com função de ligante de proteínas e cálcio. Baixos níveis de cálcio sérico já foram verificados em búfalas em anestro, sendo um importante fator que afeta a eficiência reprodutiva (Devkota et al., 2014). Por fim, o SNP do SSC9 está localizado em um íntron do gene MAGI2. Embora este gene nunca tenha sido associado a características reprodutivas em suínos, está em uma região de QTL para idade à puberdade (Nonneman et al., 2014).

## Conclusão

Regiões genômicas nos cromossomos 3, 7 e 9 foram potencialmente associadas com anestro em suínos.

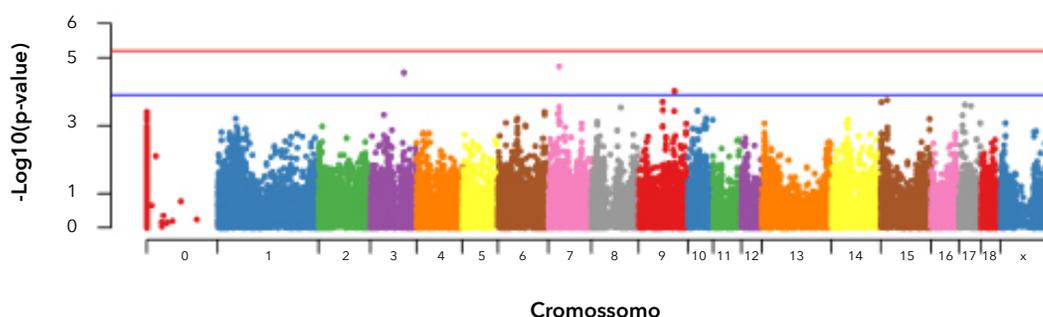
## Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina (FAPESC); Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); PAMPLONA Alimentos S.A.

## Referências

- ALAWADHI, MM. et al. The effect of progesterone administration on the expression of metastasis tumor antigens (MTA1 and MTA3) in placentas of normal and dexamethasone-treated rats. *Molecular Biology Reports*, v. 49, p. 1935-1943, 2022.
- ARAO, Y. et al. Estrogen receptor  $\alpha$  AF-2 mutation results in antagonist reversal and reveals tissue selective function of estrogen receptor modulators. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 108, p. 14986-14991, 2011.
- KLEIN, C. et al. Transcriptional profiling of equine endometrium during the time of maternal recognition of pregnancy. *Biology of Reproduction*, v. 83, p. 102-113, 2010.
- DEVKOTA, B. Et al. Effects of treatment for anestrus in water buffaloes with PGF2 $\alpha$  and GnRH in comparison with vitamin-mineral supplement, and some factors influencing treatment effects. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v. 75, p. 1623-1627, 2013.
- LUCIA, T. et al. Lifetime reproductive performance in female pigs having distinct reasons for removal. *Livestock Production Science*, v. 63, p. 213-222, 2000.
- NONNEMAN, D. et al. Genome-wide association with delayed puberty in swine. *Animal Genetics*, v. 45, p. 130-132, 2014.
- PURCELL, S. et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, v. 81, p. 556-575, 2007.
- ULGUIM, R.R. et al. Female lifetime productivity in a swine integration system using segregated gilt development units. *Tropical Animal Health and Production*, v. 46, p. 697-700, 2014.



**Figura 1** - Gráfico de Manhattan da análise de associação genômica ampla entre o  $-\log_{10}(p\text{-valor})$  e o loci do SNP, em ordem sequencial por cromossomo para o anestro em leitões. Linha superior: limiar de significância de 5% no genoma, com escore de probabilidade de 5,1950. Linha inferior: limiar de significância sugestiva, com escore de probabilidade de 3,8940.

# Lavar o prepúcio com solução fisiológica pode ser uma estratégia para reduzir a contaminação bacteriana de ejaculados suínos?

Alisson Leandro Ansolin<sup>1,2\*</sup>  
Amanda Pimenta Siqueira<sup>1</sup>  
Rosiel Moreira Cavalcante Filho<sup>1</sup>  
Monike Quirino<sup>3</sup>  
Jalusa Deon Kich<sup>4</sup>  
Jean Carlo Volpato Faccin<sup>2</sup>  
Ricardo Zanella<sup>5</sup>  
Mariana Groke Marques<sup>4</sup>  
Ivan Bianchi<sup>3</sup>

*Can the preputial washing with saline solution be a strategy to reduce bacterial contamination in boar ejaculates?*

<sup>1</sup> Departamento de Serviços Técnicos, Agroceres PIC, Rio Claro, Brasil

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Instituto Federal Catarinense, Araquari, Brasil

<sup>3</sup> Instituto Federal Catarinense, Araquari, Brasil

<sup>4</sup> Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

<sup>5</sup> Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Brasil

\*Correspondência: [alisson.ansolin@agroceres.com](mailto:alisson.ansolin@agroceres.com)

**Palavras-chave:** Análise bacteriológica. Líquido prepucial. Sêmen suíno.

## Introdução

O crescimento bacteriano no ejaculado suíno compromete a qualidade e a vida útil das doses inseminantes (Kuster e Althouse, 2016). Desta forma, ações focadas em procedimentos higiênicos antes, durante e após a coleta de sêmen são capazes de reduzir a carga bacteriana do ejaculado e, conseqüentemente, das doses inseminantes (Bennemann et al., 2018). A lavagem do

canal prepucial é uma medida realizada rotineiramente em centrais de coleta e processamento de sêmen de bovino (Kumar et al., 2019) visando a diminuição da contaminação. Essa estratégia, porém, não tem sido aplicada nas centrais de coleta e processamento de sêmen suíno. Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do uso de solução fisiológica para lavagem do canal prepucial de machos suínos, durante a etapa de higienização pré-coleta, sobre a contaminação bacteriana da fração pré-espermática do ejaculado *in natura* e do ejaculado diluído e armazenado a 15 - 18 °C por até 120h.

## Material e métodos

O estudo utilizou 201 ejaculados de 144 machos da mesma linhagem genética (8 - 17 meses de idade). Do total de ejaculados, 81 foram obtidos a partir de coletas de machos que durante o processo de higienização pré-coleta passaram apenas pela limpeza a seco do óstio e região externa do prepúcio, utilizando-se papel toalha descartável (grupo controle; sem lavado). Os demais ejaculados (n = 120; com lavado) foram obtidos a partir de coletas de machos que passaram pelo procedimento de limpeza a seco e também pelo processo de lavagem do divertículo e canal prepucial com solução fisiológica (0,9% de cloreto de sódio - 120 ml). Para a realização da lavagem, utilizou-se uma bainha de

inseminação artificial (IMV-Technologies) e uma seringa. Durante o processo de lavagem, os primeiros 60 ml de solução fisiológica foram aplicados diretamente no divertículo prepucial e os 60 ml restantes foram aplicados na extensão do canal prepucial. Após, realizou-se o esgotamento de todo o canal do prepúcio para remoção da solução fisiológica, seguido de secagem do ósteo prepucial com papel toalha. Os ejaculados foram coletados de forma semiautomática e a fração pré-espermática foi coletada e separada. As demais frações do ejaculado foram coletadas em bolsa de coleta contendo um filtro, para reter a fração gelatinosa e impurezas (US Bag®; Minitube), e compuseram o ejaculado *in natura*. Ao final da coleta, uma amostra da fração pré-espermática e do ejaculado *in natura* foi obtida, utilizando-se tubo cônico estéril, e refrigerada (2 - 8 °C) para posterior análise bacteriológica. Uma amostra do ejaculado também foi obtida para a avaliação em sistema CASA (AndroVision®, Minitube) e, após a diluição do ejaculado, duas amostras do ejaculado diluído foram coletadas em tubos cônicos estéreis e armazenadas por 120 h (15 - 18 °C). Todas as amostras coletadas foram submetidas à quantificação de mesófilos aeróbios totais. Cada amostra foi submetida a diluições seriadas (1 - 7 log<sub>10</sub>), com posterior plaqueamento em ágar padrão para contagem (PCA) através da técnica de *pour plate*. As placas foram incubadas a 37 °C em aerobiose e após 24h foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) por ml. As variáveis com distribuição normal foram submetidas

à análise de variância *one-way* com posterior comparação de médias pelo teste de Tukey-Kramer. Os parâmetros com distribuição não normal tiveram a variância analisada através do teste de Kruskal-Wallis, comparando-se os grupos a partir do teste de Dunn. Realizou-se ainda a análise de correlação entre a contaminação bacteriana da fração pré-espermática e do ejaculado *in natura* utilizando o teste de correlação de Pearson. As diferenças foram consideradas significantes ao nível de  $p \leq 0,05$ .

## Resultados e discussão

A idade dos machos utilizados para a coleta de sêmen foi semelhante em ambos os grupos (com lavado: 373 ± 6,4 d; sem lavado: 389 ± 9,9 d,  $p > 0,05$ ). Observou-se menor quantidade de UFC/mL (Log<sub>10</sub>) nos ejaculados *in natura* dos machos do grupo com lavado (1,72 ± 0,11) em relação aos ejaculados *in natura* obtidos dos animais do grupo sem lavado (2,47 ± 0,11;  $p < 0,01$ ; Tabela 1). Em touros, a realização da lavagem prepucial com solução salina também diminuiu a carga bacteriana do ejaculado *in natura* (Meena et al., 2015), assim como o uso de soluções antissépticas como a clorexidina (Romano et al., 2022). A redução da contaminação bacteriana ocasionada pela lavagem prepucial tanto em bovinos como em suínos deve ser associada principalmente à redução da sujidade tanto na cavidade prepucial como no ventre do animal, diminuindo-se o risco de contaminação do ejaculado.

**Tabela 1** - Contaminação bacteriana e motilidade total de amostras de ejaculados suínos obtidos a partir de machos submetidos ou não ao processo de lavagem prepucial antes da coleta de sêmen

Parâmetro	Com lavado* (n = 120)	Sem Lavado (n = 81)	EPM	Valor-p
<b>Ejaculado <i>in natura</i></b>				
UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	1,72 <sup>a</sup>	2,47 <sup>b</sup>	0,11	< 0,01
Motilidade total (%)	89,70	90,70	0,35	0,07
<b>Ejaculado diluído e armazenado por 120h**</b>				
UFC/mL (Log <sub>10</sub> )	0,15	0,14	0,09	0,63
Motilidade total (%)	86,20	86,30	0,59	0,72

Nota: <sup>a,b</sup>Letras diferentes representam diferença significativa entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). \*Lavagem do divertículo e prepucial com 120 ml de solução fisiológica (0,9%). \*\*Por 120 h a 15 - 18 °C. UFC = unidades formadoras de colônia. EPM = erro padrão da média.

Não observou-se diferença entre os grupos com lavado e sem lavado quanto à motilidade total dos ejaculados *in natura* e quanto à contaminação bacteriana e motilidade total dos ejaculados diluídos e armazenados por 120h ( $p > 0,05$ ; Tabela 1). Nesse sentido, deve-se considerar que a contaminação do ejaculado *in natura* possivelmente não ocasiona efeitos negativos imediatos às células

espermáticas devido ao curto período de interação entre os espermatozoides e as bactérias (Úbeda et al., 2013). No caso do ejaculado diluído e armazenado por 120h, provavelmente a presença de antibiótico no diluente foi responsável por restringir o crescimento bacteriano e seus efeitos negativos. Em relação à contaminação da fração pré-espermática, Dias et al. (2000) verificaram que a carga

bacteriana foi 38,5 vezes menor nos animais que tiveram os primeiros jatos descartados em comparação ao ejaculado total. De fato, observou-se nesse estudo uma maior quantidade de UFC/mL ( $\text{Log}_{10}$ ) na fração pré-espermática ( $2,85 \pm 0,16$ ) em comparação ao ejaculado *in natura* ( $2,02 \pm 0,07$ ;  $p < 0,01$ ; Tabela 2), independentemente da realização da lavagem prepucial, observando-se também uma correlação positiva moderada entre esses parâmetros ( $r = 0,49$ ;  $p < 0,01$ ).

## Conclusão

A lavagem do canal prepucial de machos suínos reduz a contaminação bacteriana do ejaculado *in natura*, podendo ser considerada uma estratégia para reduzir a contaminação das doses inseminantes suínas.

Além disso, reforça-se a necessidade de descartar a fração pré-espermática do ejaculado suíno devido à sua alta carga bacteriana.

**Tabela 2** - Contaminação bacteriana de ejaculados suínos de acordo com a fração coletada

Parâmetro	Fração pré-espermática	Ejaculado <i>in natura</i>	EPM	Valor-p
Ejaculados (n)	47	201	-	-
UFC/mL ( $\text{Log}_{10}$ )	2,85 <sup>a</sup>	2,02 <sup>b</sup>	0,12	< 0,01

Nota: <sup>a,b</sup>Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ( $p \leq 0,05$ ). UFC = unidades formadoras de colônia. EPM = erro padrão da média.

## Referências

- ALAWADHI, MM. et al. The effect of progesterone administration on the expression of metastasis tumor antigens (MTA1 and MTA3) in placentas of normal and dexamethasone-treated rats. *Molecular Biology Reports*, v. 49, p. 1935-1943, 2022.
- ARAO, Y. et al. Estrogen receptor  $\alpha$  AF-2 mutation results in antagonist reversal and reveals tissue selective function of estrogen receptor modulators. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 108, p. 14986-14991, 2011.
- KLEIN, C. et al. Transcriptional profiling of equine endometrium during the time of maternal recognition of pregnancy. *Biology of Reproduction*, v. 83, p. 102-113, 2010.
- DEVKOTA, B. Et al. Effects of treatment for anestrus in water buffaloes with PGF2 $\alpha$  and GnRH in comparison with vitamin-mineral supplement, and some factors influencing treatment effects. *The Journal of Veterinary Medical Science*, v. 75, p. 1623-1627, 2013.
- LUCIA, T. et al. Lifetime reproductive performance in female pigs having distinct reasons for removal. *Livestock Production Science*, v. 63, p. 213-222, 2000.
- NONNEMAN, D. et al. Genome-wide association with delayed puberty in swine. *Animal Genetics*, v. 45, p. 130-132, 2014.
- PURCELL, S. et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, v. 81, p. 556-575, 2007.
- ULGUIM, R.R. et al. Female lifetime productivity in a swine integration system using segregated gilt development units. *Tropical Animal Health and Production*, v. 46, p. 697-700, 2014.

# Produtividade espermática de reprodutores suínos suplementados com L-glutamina+ácido glutâmico em unidade de disseminação de gene do Oeste Catarinense

Fábio José Ribeiro Simas<sup>1\*</sup>  
Amanda Lara Fonseca<sup>2</sup>  
Hélio Cordeiro Manso Filho<sup>1</sup>  
Helena Emília C. C. C. Manso<sup>1</sup>  
Jorgea Pradieé<sup>2</sup>

*Sperm productivity of swine supplemented with L-glutamine+glutamic acid in a gene dissemination unit in Western Santa Catarina*

<sup>1</sup> Departamento de Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil

<sup>2</sup> Bretanha Importação e Exportação LTDA, Passo Fundo, Brasil

\*Correspondência: fabio\_rsimas@hotmail.com

Palavras-chave: Cachaço. Produtividade. Sêmen.

## Introdução

A produção de doses de sêmen com alta capacidade de fecundação é um grande desafio na suinocultura moderna (Waberski et al., 2019). Desta forma, com o aumento da utilização de inseminação artificial (IA) serão necessárias estratégias de manejo e nutrição para acrescentar fertilidade e qualidade ao sêmen (Estiene et al., 2009). A glutamina é um aminoácido condicionalmente essencial, que exerce efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (Hamed et al., 2022), melhora

a homeostase da glicose e diminui a necessidade de uso de insulina exógena (Jegatheesan et al., 2016). Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a produtividade de sêmen de reprodutores suínos que receberam dietas contendo diferente níveis de L-glutamina + L-ácido glutâmico na dieta.

## Material e métodos

O estudo foi desenvolvido durante 135 dias, em uma Unidade de Disseminação Genética (UDG), no oeste do estado de Santa Catarina. Foram utilizados 24 reprodutores suínos com idade média 1,8 anos, distribuídos em delineamento de blocos casualizados (DBC), com três tratamentos, quatro repetições e cada repetição com dois reprodutores. Os tratamentos foram os seguintes: T1 = ração padrão da central; T2 = ração padrão da central + 0,5% de L-glutamina + ácido glutâmico; T3 = ração padrão da central + 1,0% de L-glutamina + ácido glutâmico. O fornecimento foi feito sempre às 6h da manhã na quantidade de 2,5 kg em único trato. As dietas foram formuladas para atender às exigências de suínos machos inteiros de alto potencial genético, conforme Rostagno et al. (2017).

Para a avaliação de produtividade, foram coletados 34 ejaculados de cada animal pelo método de coleta em manequim semiautomático. O sêmen foi coletado

e imediatamente encaminhado para avaliação em sistema computadorizado de análise de sêmen (Magavision, Magapor, Espanha), sendo avaliados: volume, motilidade, patologia, concentração bilhões de espermatozoides por coleta e espermatozoides viáveis por dose produzida. Os dados foram analisados no software R Core Team (2021). As variáveis volume, motilidade, patologia, concentração bilhões de espermatozoides por coleta e espermatozoides viáveis por dose produzida foram analisadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis.

## Resultados e discussão

Os resultados obtidos (Tabela 1) de média e desvio padrão da produtividade espermática de reprodutores suínos que receberam níveis crescente de L-glutamina + ácido glutâmico na dieta mostram que no parâmetro volume do ejaculado (ml) houve diferença significativa entre o tratamento controle (160,12 ± 69,42) e os tratamentos GLUT 0,5% (182,18 ± 69,49) e GLUT 1,0% (199,73 ± 92,39), mostrando que possivelmente a inclusão da L-glutamina + ácido glutâmico tenha favorecido os grupos tratados. No entanto não houve diferença significativa entre os grupos GLUT 0,5% e GLUT 1,0%. Nos parâmetros concentração de espermatozoides e concentração de espermatozoides

viáveis por dose não houve diferença significativa. Em relação à motilidade, houve diferença significativa entre o controle (4,35 ± 1,13 a) e GLUT 1,0% (4,64 ± 1,08). A conversão de glutamina em glutamato contribui para a geração de NAD<sup>+</sup> pela ação da NAD sintetase (Sadaf, 2020), o que pode ter contribuído para o aumento da motilidade. Recentemente, evidenciou-se a importância da fosforilação oxidativa mitocondrial para a motilidade total e progressiva rápida de espermatozoides suínos, o que demonstra a necessidade de estudos mais aprofundados para se aumentar a compreensão sobre a real influência das mitocôndrias na função espermática (Nesci et al., 2020). No parâmetro bilhões de espermatozoides por coleta, houve diferença significativa entre o tratamento controle (36182,24 ± 18816,49) e os tratamentos 0,5% e 1,0% (45535,65 ± 24718,21, 42789,73 ± 19771,39, respectivamente). O maior número de espermatozoide por coleta pode ser um indicativo do efeito da ação da L-glutamina + ácido glutâmico no processo de espermatogênese. A proliferação e desenvolvimento de células, em especial do sistema imune, o balanço acidobásico, o transporte da amônia entre os tecidos, a doação de esqueletos de carbono para a gliconeogênese, entre outros, são algumas das funções em que a glutamina está envolvida (Newsholme et al.; 2003; Rogero e Tirapegui, 2003).

**Tabela 1** - Média e desvio padrão da produtividade espermática de reprodutores suínos que receberam níveis crescente de L-glutamina + ácido glutâmico na dieta.

Variável	Tratamentos		
	Controle (0%)	Glut (0,5%)	Glut (1,0%)
Volume (ml)	160,12 ± 69,42 <sup>a</sup>	182,18 ± 69,49 <sup>b</sup>	199,73 ± 92,39 <sup>b</sup>
Concentração (ml)	240,24 ± 119,86 <sup>a</sup>	269,12 ± 160,35 <sup>a</sup>	246,82 ± 135,96 <sup>a</sup>
Concentrações viáveis (ml)	193,60 ± 100,70 <sup>a</sup>	220,09 ± 132,06 <sup>a</sup>	198,65 ± 112,28 <sup>a</sup>
Motilidade	4,35 ± 1,13 <sup>a</sup>	4,45 ± 1,6 <sup>ab</sup>	4,64 ± 1,08 <sup>b</sup>
Patologia (%)	19,6 ± 11,99 <sup>a</sup>	18,60 ± 8,12 <sup>a</sup>	20,40 ± 10,21 <sup>a</sup>
Bilhões/coleta	36182,24 ± 18816,49 <sup>a</sup>	45535,65 ± 24718,21 <sup>b</sup>	42789,73 ± 19771,39 <sup>b</sup>

Nota: Letras diferentes na mesma linha diferem pelo menos  $p < 0,05$ .

## Conclusão

A inclusão de 0,5% e 1,0% de L-glutamina + ácido glutâmico na dieta de reprodutores suínos proporcionou efeito superior em três dos seis parâmetros da produtividade do sêmen em relação aos animais não tratados, evidenciando que a inclusão deste aditivo pode promover alterações metabólicas importantes no organismo animal, favorecendo melhorias no sêmen suíno.

## Referências

SADAF, A.; QUINN, C.T. L-glutamine for sickle cell disease: knight or pawn? *Exp. Biol. Med.* 1-9, 2020.  
 CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3. ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2013.  
 ESTEINE, M. J. et al. Enhanced fertility in boars fed diets supplemented with Sel-Plex® selenium. 2009. [Link](#)

HAMED, M.A. et al. Glutamine restaura a defesa antioxidante testicular dependente de glutatona e aumenta a sinalização de NO/cGMP na disfunção reprodutiva induzida por privação de sono em ratos, *Biomed. Farmacêutico*. 148, 112765, 2022.

JEGATHEESAN, P. et al. Effect of specific amino acids on hepatic lipid metabolism in fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease, *Clin. Nutr.* 36 175-182, 2016.

NESCI, S. et al. Sperm function and mitochondrial activity: An insight on boar sperm metabolism. *Theriogenology*, 144. p.82-88, 2020.

NEWSHOLME, P. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res.* 36:153-63, 2003.

ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J.O. Considerações nutricionais e bioquímicas da suplementação de glutamina em atletas: controvérsias e aspectos atuais. *J Metab Nutr.* 7:106-17, 2003.

ROSTAGNO, H S. et al. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de alimentos e exigências nutricionais. 4 ed. Universidade Federal de Viçosa; 2017.

WABERSKI, D. et al. Application of preserved boar semen for artificial insemination: past, present, and future challenges. *Theriogenology* 137, 2-7, 2019.

# Imunização contra o hormônio liberador de gonadotrofina nos ovários de marrãs de terminação

Isadora M. S. de Oliveira\*

Lucas C. Cardoso

Fernanda R. C. L. de Almeida

## *Immunization against gonadotropin-releasing hormone in the ovaries of finishing gilts*

Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

\*Correspondência: isadorasatiro@vetufmg.edu.br

**Palavras-chave:** Desempenho produtivo. Imunocastração. Reprodução.

### Introdução

O abate de animais com peso acima de 100 kg é uma prática cada vez mais comum na suinocultura. Este fato, associado à possibilidade de se atingir a puberdade precocemente, culminou em um aumento na proporção de marrãs que apresentam sinais de estro durante a terminação (Bidanel et al., 1996). Perante este cenário, a criação de animais com peso de mercado (acima de 120 kg) se tornou um desafio, uma vez que fêmeas em fase de estro diminuem o consumo de água e ingesta neste período (Hinson et al., 2012). A imunização contra o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) surgiu como um possível aliado para a resolução da problemática, auxiliando na melhoria do desempenho do crescimento ao suprimir a atividade reprodutiva (Rodrigues et al., 2019). O protocolo consiste em duas vacinações utilizando um produto imunológico contendo um análogo do GnRH, que incita a produção

de anticorpos contra o GnRH endógeno (Claus et al., 2007). Esse sistema de imunização já é uma prática comum no mercado, utilizada para a castração de machos inteiros devido à produção de escatol e androsterona, que diminuem os atributos sensoriais da carcaça (Nautrup et al., 2018). Com a eliminação do GnRH ocorre a supressão da liberação hipofisária de hormônio luteinizante (LH) e folículo estimulantes (FSH), afetando negativamente a função ovariana e impedindo, assim, a função reprodutiva (Zeng et al., 2002). O impacto da imunização contra este hormônio e seus benefícios no consumo de ração e crescimento (Daza et al., 2014; Nautrup et al., 2020), características comportamentais (Rodrigues et al., 2018), características de carcaça (Bohrer et al., 2014) e qualidade da carne (Van den Broeke et al., 2016) de animais de terminação já vêm sendo estudados. Com isso, este estudo visa avaliar o impacto do protocolo de imunocastração no desenvolvimento ovariano e folicular em marrãs após a administração de cada dose do imunizante.

### Material e métodos

Quarenta e oito marrãs pré-púberes em fase de terminação (DanBred x Choice linha terminal), com peso corporal de  $63,50 \pm 0,40$  kg, foram selecionadas aleatoriamente e alojadas em baias de crescimento e terminação de acordo com o seu peso corporal. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: G1 (n = 12), que receberam uma dose de 2 ml do imunizante aos 91 dias de vida; G2 (n = 12), que receberam uma dose de soro fisiológico aos 91 dias de idade; G3 (n = 12), receberam duas doses do imunizantes, a primeira aos 91 dias e a segunda aos 120 dias;

G4 (n = 12), receberam duas doses de soro fisiológico sob o mesmo protocolo do grupo G3. Os grupos 1 e 2 foram abatidos aos 120 dias de idade e os grupos 3 e 4 aos 175. Após o abate foram coletados os ovários das marrãs de cada grupo experimental. Após a coleta, os ovários foram dissecados e seu comprimento, largura e espessura foram registrados com um paquímetro digital e os pesos foram avaliados por meio de uma balança digital. Os diâmetros dos folículos macroscopicamente visíveis na superfície ovariana foram medidos com paquímetro digital e agrupados em quatro diferentes categorias, com base em seus diâmetros: C1 ( $\leq 2$  mm), C2 ( $> 2$  mm -  $\leq 4$  mm), C3 ( $> 4$  mm -  $\leq 6$  mm) e C4 ( $> 6$  mm). Todas as variáveis medidas foram testadas quanto à normalidade antes das análises, usando o procedimento univariado do Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, 2001). Os dados foram analisados como um projeto randomizado e os efeitos do tratamento nas medições ovarianas foram analisados usando o procedimento de modelo linear geral (GLM) do SAS. As médias dos mínimos quadrados foram comparadas pelo teste t de Student, sendo  $p < 0,05$  considerado significativo.

## Resultados e discussão

Os ovários de maior peso foram os dos do grupo G2, enquanto os animais do grupo G1 apresentaram o menor peso. O valor do peso dos ovários dos grupos G3 e G4 foram semelhantes entre si e ao valor do peso dos animais do grupo G1, o que demonstra que as duas doses da imunização são capazes de alterar este parâmetro. Em relação ao comprimento e à largura, os animais do grupo G2 apresentaram o maior valor para ambos os parâmetros, sendo estatisticamente diferentes de todos os outros grupos ( $p < 0,05$ ) que foram semelhantes entre si ( $p > 0,05$ ). Por fim, os ovários do grupo G1 apresentaram o menor valor de espessura do ovário, sendo estatisticamente diferentes de todos os outros grupos ( $p < 0,05$ ). Considerando que os animais do grupo G1, que receberam as duas doses da vacina, apresentaram o menor valor para os parâmetros mencionados, pode-se inferir que a imunização com duas doses seria eficaz em reduzir a atividade ovariana ao promover a regressão do próprio órgão. Com relação aos folículos macroscópicos, observou-se maior número de folículos menores (C1 e C2) em ambos os grupos de animais de 120 dias em comparação aos grupos de 175 dias ( $p < 0,05$ ). Entretanto a quantidade de folículos C1 e C2 foi semelhante entre os os grupos de 120 dias, assim como entre os grupos de 175 dias ( $p > 0,05$ ). O número de folículos C3 foi maior nos grupos G3 e G4 ( $p < 0,05$ ), seguidos do grupo G2 e por fim do grupo G1, que obteve o menor número de folículos nessa classe ( $p < 0,05$ ). Por fim, para

os folículos C4, o grupo que apresentou maior quantidade na contagem foi o grupo G2 ( $p < 0,05$ ), não ocorrendo diferença entre os demais grupos. Conjuntamente, os resultados demonstraram que a administração de duas doses do imunizante é eficaz ao impedir o desenvolvimento do ovário e de folículos acima de 4 mm.

## Conclusão

Os resultados encontrados no presente trabalho demonstram que o protocolo de duas doses de imunocastração possui um efeito satisfatório em reduzir a atividade ovariana destes animais, reduzindo a contagem de folículos e o próprio órgão, consequentemente impedindo sua função reprodutiva, efeitos desejáveis para a obtenção de melhora no desempenho produtivo destas fêmeas.

## Referências

- BIDANEL, J. et al. Genetic variability of age and weight at puberty, ovulation rate and embryo survival in gilts and relations with production traits. *Genet. Sel. Evol. GSE* 28, 103-115, 1996.
- BOHRER, B.M. et al. Effect of gonadotropin releasing factor suppression with an immunological on growth performance, estrus activity, carcass characteristics, and meat quality of market gilts. *J. Anim. Sci.* 92, 4719-4724, 2014.
- CLAUS, R. et al. Short-term endocrine and metabolic reactions before and after second immunization against GnRH in boars. *Vaccine* 25, 4689-4696, 2007.
- DAZA, A. et al. The effect of immunocastration and a diet based on granulated barley on growth performance and carcass, meat and fat quality in heavy gilts. *Animal* 8, 484-493, 2014.
- HINSON, R.B. et al. Effects of feeding ractopamine (Paylean) on growth and carcass traits in finishing pigs marketed at equal slaughter weights. *Prof. Anim. Sci.* 28, 657-663, 2012.
- NAUTRUP, B.P. et al. The effect of immunization against gonadotropin-releasing factor on growth performance, carcass characteristics and boar taint relevant to pig producers and the pork packing industry: a meta-analysis. *Res. Vet. Sci.* 119, 182-195, 2018.
- NAUTRUP, B.P. et al. The effect of immunization against gonadotropin-releasing factor in market gilts: meta-analyses of parameters relevant for pig producers, pork packers and retailers/consumers. *Res. Vet. Sci.* 131, 159-172, 2020.
- RODRIGUES, L.A. et al. Assessment of ractopamine supplementation and immunization against GnRH effects on behavioral traits and human-pig interaction in heavy weight market gilts. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 207, 20-25, 2018.

RODRIGUES, L.A. et al. The effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone on growth performance, reproductive activity and carcass traits of heavy weight gilts. *Animal* 13, 1326-1331, 2019.

VAN DEN BROEKE, A. et al. The effect of GnRH vaccination on performance, carcass, and meat quality and hormonal regulation in boars, barrows, and gilts. *J. Anim. Sci.* 94, 2811-2820, 2016.

ZENG, X.Y. et al. Effects of active immunization against GnRH on serum LH, inhibin A, sexual development and growth rate in Chinese female pigs. *Theriogenology* 58, 1315-1326, 2022.

# Pontos críticos de controle na limpeza pré-coleta de sêmen de suínos

*Critical control points in the pre-cleaning of swine semen collection*

Leticia Cantele\*  
Carine Casagrande  
Camila Musskopf  
Lucas Bevilacqua  
Kerlin Calderan  
Jorgea Pradieé

Bretanha Suínos, Passo Fundo, Brasil

\*Correspondência: leticia@bretanhasuinos.com.br

Palavras-chave: Cachaço. Contaminação. Ejaculado.

## Introdução

A coleta do sêmen suíno se trata de um procedimento simples de ser executado, mas que apresenta uma série de etapas que devem ser realizadas com atenção e cuidado para evitar a contaminação microbiana do ejaculado (Bortolozzo e Wentz, 2005). O passo a passo para a coleta deve consistir basicamente em: corte dos pelos existentes ao redor do prepúcio, limpeza da abertura prepucial e área circundante com papel toalha, eliminação manual dos fluídos prepuciais antes da manipulação peniana; utilização pelo coletador de luvas descartáveis para minimizar a contaminação do ejaculado e reduzir o risco de transmissão microbiana entre machos (Oberlender, et al., 2013). Estes seriam os pontos-chave de controle que interferem diretamente na contaminação do sêmen suíno e que podem ser controlados, adaptados e corrigidos durante o processo de coleta. Desta forma, o objetivo do presente resumo foi avaliar a frequência de execução das etapas que envolvem o processo de limpeza pré-coleta.

## Material e métodos

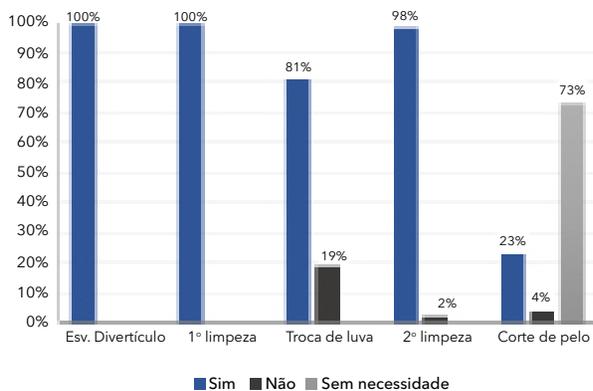
A coleta de dados ocorreu no período de duas semanas, uma no mês de julho e outra em setembro

de 2022, em Unidade de Disseminação Genética (UDG) localizada no oeste de Santa Catarina. As avaliações do manejo de limpeza foram feitas através do acompanhamento das coletas através de planilha contendo as variáveis: esvaziamento do prepúcio, primeira limpeza, troca de luvas, corte dos pelos do prepúcio e segunda limpeza. Na primeira semana foram acompanhadas 123 coletas e na segunda 115, totalizando 238 coletas. Todos os animais pertenciam à mesma linhagem genética, com idade entre seis meses e 24 meses. O processo de limpeza pré-coleta consistiu na entrada do animal em uma baía antes da baía de coleta. O responsável fazia a higienização do prepúcio a partir do esvaziamento, exercendo pressão no sentido dorso-cranial. Em seguida, com o auxílio de papel toalha, luva e sobreluva descartáveis, realizava-se a primeira limpeza. Posteriormente, efetuava-se o corte de pelos com o auxílio de uma tesoura, a troca da sobreluva e realizava-se uma segunda limpeza com papel toalha. Ao finalizar esse manejo, o reprodutor era encaminhado para o manequim de coleta. Os dados foram tabulados e uma análise descritiva com as frequências de ocorrência estão demonstradas na Figura 1.

## Resultados e discussão

Na Figura 1 estão apresentados os resultados das limpezas pré-coletas avaliadas. O esvaziamento do

divertículo e a primeira limpeza foram realizados em todos os animais. Em 45 animais (19%), não realizou-se a etapa de troca de luvas para a segunda limpeza e, nessa etapa, cinco animais (2%) prosseguiram para a coleta de sêmen somente com uma limpeza. O manejo de corte de pelo foi uma etapa importante que não foi executada em todos os animais, sendo que 9 (4%) foram para a coleta com excesso de pelos (>1cm). Pelos prepuciais compridos aumentam a chance de ejaculados contaminados (Goldenberg, 2009). Os resultados revelaram que essas etapas apresentam oportunidades na rotina de produção, uma vez que não estavam sendo realizadas em sua totalidade. Um ponto a ser considerado é o efeito do coletador, sendo todos os manejos de limpeza pré-coleta operador-dependente. No entanto Goldenberg (2009) relata que duas ou mais falhas associadas ao manejo de coleta aumentam o grau de contaminação bacteriana. As etapas que compõem o manejo de limpeza pré-coleta devem ser realizadas de maneira correta com o objetivo de reduzir as falhas ao longo do processo de coleta de sêmen, contribuindo de forma direta sobre a qualidade final do ejaculado.



**Figura 1** - Porcentagem de ocorrência dos pontos de controle da limpeza pré-coleta: esvaziamento do divertículo, primeira limpeza, troca de luvas, segunda limpeza e corte de pelos, para monitoramento do processo.

## Conclusão

O processo de pré-limpeza necessita de atenção e boas práticas, do mesmo modo que a coleta de sêmen. Conclui-se que existem oportunidades de melhoria em pontos críticos do processo de limpeza pré-coleta, como a troca de luvas e corte de pelos prepuciais. Ressalta-se, ainda, que esses resultados são monitorados, ou seja, os números tendem a ser mais expressivos na rotina do dia a dia, sem o acompanhamento dos funcionários.

## Referências

- BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Suinocultura em ação 2 - Inseminação Artificial na Suinocultura Tecnificada. Porto Alegre: Pallotti, 185 p., 2005.
- GOLDBERG, A. Fatores de risco para a contaminação bacteriana para a coleta do ejaculado suíno e suas consequências sobre a qualidade das doses inseminantes [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.
- OBERLENDER, G. et al. Bacteriologia do sêmen suíno - Aspectos relacionados: Revisão de Literatura. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária. Ano XI - Número 20 - Janeiro de 2013.



# Efeito da suplementação de taurina em doses de sêmen suíno armazenadas a 5 °C

*Effect of taurine  
supplementation on boar  
semen doses stored at 5 °C*

Leonardo Abreu Leal  
Lucas Michel Wolf  
Gabriel Antônio Bona  
Monike Quirino  
Thaís Spohr Christ  
Rafael da Rosa Ulguim  
Fernando Pandolfo Bortolozzo  
Ana Paula Gonçalves Mellagi\*

Setor de Suínos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

\*Correspondência: ana.mellagi@ufrgs.br

**Palavras-chave:** Andrologia suína. Antioxidantes. Armazenamento hipotérmico.

## Introdução

A peroxidação lipídica, causada por espécies reativas de oxigênio (EROs), pode ser um fator prejudicial ao espermatozoide, devido ao alto teor de ácidos graxos insaturados presentes na membrana espermática. Adicionalmente, as células espermáticas apresentam baixos níveis de antioxidantes endógenos, agravando ainda mais os efeitos deletérios das EROs na viabilidade espermática (Jang et al., 2004). A adoção de temperaturas hipotérmicas ( $\leq 10\text{ °C}$ ) para a conservação de sêmen reduz o crescimento bacteriano (Menezes et al., 2020), mas apresenta efeitos indesejados como a redução da motilidade espermática e lesões de membrana plasmática e acrossoma. Para contornar esses efeitos prejudiciais, a suplementação das doses de sêmen com antioxidantes exógenos tem sido proposta como uma estratégia para prolongar a viabilidade espermática e reduzir os danos causados pelas EROs. A taurina é um aminoácido livre intracelular que desempenha funções fisiológicas cruciais, incluindo osmorregulação, proliferação celular, viabilidade e proteção contra

danos oxidativos (Redmond et al., 1996). Dessa forma, o presente estudo objetivou investigar os efeitos da adição de diferentes concentrações de taurina em doses de sêmen suíno armazenadas a 5 °C.

## Material e métodos

Os ejaculados de 22 machos suínos sexualmente maduros foram coletados em uma central de produção de sêmen localizada no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, pelo método semiautomático (BoarMatic, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Alemanha). Posteriormente à coleta, os ejaculados foram avaliados quanto ao volume, concentração e motilidade espermática com sistema CASA (AndroVision®, Minitube, Alemanha), diluídos em BTS (Beltsville Thawing Solution) a 34 °C e fracionados em doses de 45 ml contendo  $1,5 \times 10^9$  espermatozoides. As doses foram distribuídas em grupos: 17C (doses armazenadas a 17 °C sem adição de taurina) e 5C0T, 5C2.5T, 5C5T e 5C10T (armazenadas a 5 °C e suplementação de 0, 2,5, 5 e 10 mmol/L de taurina, respectivamente), alocadas em caixa com temperatura controlada (22-24 °C) e transportadas ao laboratório. Após a chegada, as doses do grupo 17C foram armazenadas em conservadora a 17 °C e os demais grupos foram armazenados em conservadora a 5 °C. Após 24, 72 e 120h de armazenamento, foram

avaliados os parâmetros de motilidades espermáticas, pH, estresse oxidativo (Protocolo adaptado de Menegat et al., 2017; SpectraMax ID3, Molecular Devices, San Jose, USA), potencial mitocondrial (protocolo adaptado de Gravance et al., 2004; SpectraMax ID3, San Jose, USA), avaliando-se a razão agregado/monômero, e integridade acrossomal (microscopia de contraste de fase; aumento de 1000x). Os dados foram analisados com o software SAS® 9.4, considerando o nível de significância de 5%. Todos os modelos foram analisados com medidas repetidas, considerando o tratamento, o tempo de armazenamento e a interação entre os fatores como efeitos fixos. O macho foi incluído como efeito aleatório. Os grupos de doses

armazenadas a 5 °C foram comparadas com 17 °C pelo teste de Dunnett. Os momentos foram comparados pelo teste de Tukey-Kramer.

## Resultados e discussão

O grupo 17C apresentou médias de motilidades total e progressiva superiores aos demais grupos armazenados a 5 °C ( $p < 0,05$ ) com ou sem suplementação de taurina durante o armazenamento, indicando que o efeito antioxidante do aminoácido não foi suficiente para equiparar as motilidades com o grupo 17C (Tabela 1).

**Tabela 1** - Qualidade de doses de sêmen suíno, de acordo com o tratamento (T) e tempo de armazenamento (TA)

Tratamento	Tempo de armazenamento			Média (T)	EPM	Valor-p		
	24h	72h	120h			T	TA	T × TA
<b>Motilidade total (%)</b>								
17C	85,45	86,55	82,62	84,95	1,06	<0,01	<0,01	0,17
5C0T	76,85	74,31	73,19	74,81*	1,56	-	-	-
5C2.5T	78,24	74,19	74,56	75,71*	1,52	-	-	-
5C5T	76,46	73,52	72,80	74,29*	1,58	-	-	-
5C10T	74,99	73,75	75,11	74,62*	1,57	-	-	-
Média (TA)	78,67 <sup>a</sup>	76,97 <sup>ab</sup>	75,87 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
<b>Motilidade progressiva (%)</b>								
17C	80,79	82,47	77,86	80,44	1,30	<0,01	<0,01	0,12
5C0T	71,61	68,59	66,90	69,07*	1,77	-	-	-
5C2.5T	72,85	68,34	68,34	69,89*	1,75	-	-	-
5C5T	71,02	67,18	66,16	68,16*	1,80	-	-	-
5C10T	68,90	67,82	69,14	68,62*	1,79	-	-	-
Média (TA)	73,26 <sup>a</sup>	71,34 <sup>ab</sup>	69,88 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
<b>Potencial mitocondrial (razão agregados/monômeros)</b>								
17C	5,01	5,66	5,66	5,44	0,33	<0,01	<0,01	0,65
5C0T	3,95	4,11	4,05	4,04*	0,33	-	-	-
5C2.5T	4,29	4,88	4,90	4,69*	0,33	-	-	-
5C5T	4,92	5,07	4,92	4,97*	0,33	-	-	-
5C10T	5,24	6,14	6,00	5,80	0,33	-	-	-
Média (TA)	4,68 <sup>a</sup>	5,17 <sup>b</sup>	5,11 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
<b>Estresse oxidativo (RFU/10<sup>6</sup>células)</b>								
17C	179002	187613	181042	182552	16180	0,14	<0,01	0,86
5C0T	180401	202559	189777	190912	13587	-	-	-
5C2.5T	153775	187298	168656	169910	10667	-	-	-
5C5T	168032	183242	169487	173587	13088	-	-	-
5C10T	172736	194642	173028	180135	10187	-	-	-
Média (TA)	170789 <sup>a</sup>	191071 <sup>b</sup>	176398 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-

Nota: 17C (doses a 17 °C sem adição de taurina) e 5C0T, 5C2.5T, 5C5T e 5C10T (doses a 5 °C com suplementação de 0, 2,5, 5 e 10 mmol/L de taurina, respectivamente). Os valores estão expressos em LSMmeans. <sup>ab</sup>Letras diferentes significam diferença estatística entre os momentos ( $p < 0,05$ ); \*Indica diferença estatística entre cada grupo e o controle (17C) ( $p < 0,05$ ). EPM = erro padrão da média.

O pH das doses foi influenciado pela interação T × TA ( $p < 0,01$ ), em que somente às 120h de armazenamento o pH foi inferior nos grupos a 5 °C quando comparado a 17C (7,27, 7,20, 7,20 e 7,19 para 17C, 5C0T, 5C2.5T, 5C5T e 5C10T, respectivamente). A porcentagem de defeitos de acrossoma foi menor ( $p < 0,05$ ) no grupo 17C em comparação aos demais (8,68%, 11,83%, 10,51% e 10,49% para 17C, 5C0T, 5C2.5T, 5C5T e 5C10T, respectivamente), sem interação T × TA significativa ( $p = 0,24$ ). O tratamento 5C10T apresentou potencial mitocondrial semelhante ao grupo 17C; no entanto, os demais grupos armazenados a 5 °C foram inferiores em relação ao 17C. Os dados sugerem um efeito positivo da suplementação com 10 mmol/L para este parâmetro. Já para a avaliação de estresse oxidativo, as doses armazenadas a 5 °C não diferiram de 17C ( $p = 0,14$ ).

### **Conclusão**

O presente estudo verificou que a suplementação taurina em doses armazenadas a 5 °C não foi suficiente para promover um efeito protetivo aos espermatozoides durante o armazenamento hipotérmico para a maioria dos parâmetros avaliados. Os grupos que receberam maiores quantidades do aminoácido, porém, tiveram uma melhora no parâmetro de potencial mitocondrial. Assim, é preciso investigar os mecanismos envolvidos na motilidade espermática de doses sob armazenamento hipotérmico, a fim de determinar novas concentrações ou outros constituintes que viabilizem o armazenamento a 5 °C.

### **Agradecimentos**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) - Edital 10/2021 ARD/ARC.

### **Referências**

- GRAVANCE, C. et al. Assessment of equine sperm mitochondrial function using JC-1. *Theriogenology*, v. 53, n. 9, p. 1691-1703, 2000.
- JANG, H. Y. et al. Expression of the antioxidant enzyme and apoptosis genes in in vitro maturation/in vitro fertilization porcine embryos. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 17:33-38, 2004.
- MENEGAT, M.B. et al., Sperm quality and oxidative status as affected by homogenization of liquid-stored boar semen diluted in short- and long-term extenders. *Animal Reproduction Science*, [s. l.], v. 179, p. 67-79, 2017.
- MENEZES, T. A; et al. Differential seminal plasma proteome signatures of boars with high and low resistance to hypothermic semen preservation at 5°C. *Andrology*, v. 8, n. 6, p. 1907-1922, 2020.
- REDMOND, H. P. et al. Taurine attenuates nitric oxide and reactive oxygen intermediate dependent hepatocyte injury. *Arch. Surg.* 131:1280-1287, 1996.



# O uso do Bactibag® evita o crescimento bacteriano influenciando a manutenção da integridade das membranas acrossomal e plasmática de espermatozoides suínos?

Janine de Camargo<sup>1\*</sup>  
Mariana Groke Marques<sup>2,3</sup>  
Jean Carlo Volpato Faccin<sup>3</sup>  
José Victor Braga<sup>4</sup>  
Pedro Nacib Jorge Neto<sup>5</sup>  
Jalusa Deon Kich<sup>2,3</sup>  
Ricardo Zanella<sup>1</sup>

*Does the use of Bactibag® prevent bacterial growth influencing the maintenance of the integrity of the acrossomal and plasmatic membranes of swine spermatozoa?*

## Introdução

A utilização de elevadas doses de antimicrobianos nos diluentes de sêmen suíno está sendo reavaliada, assim como o uso em outros manejos na produção animal, principalmente devido ao risco envolvido com o surgimento de bactérias multirresistentes (Silva et al., 2020). Além disso, os antimicrobianos podem prejudicar diretamente a viabilidade espermática e possivelmente são responsáveis pelo aparecimento de genes de resistência na vagina e cérvix de fêmeas suínas (Wiebke et al., 2021; Kellerman et al., 2022). Consequentemente, as biotecnologias da reprodução animal têm buscado produtos com tecnologias capazes de minimizar o uso dos antimicrobianos (Silva et al., 2020). O blister Bactibag® foi desenvolvido com plástico Bactiguard®, composto por moléculas de ação bacteriostática que agem na membrana plasmática bacteriana diminuindo a proliferação e facilitando a ação dos antimicrobianos (Camugli et al., 2019). Neste estudo, avaliou-se a eficácia do blister Bactibag® no controle da proliferação bacteriana e em manter a integridade do acrossomal e da membrana plasmática dos espermatozoides ao longo de 120 horas sob refrigeração.

<sup>1</sup> Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Brasil

<sup>2</sup> Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, Brasil

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Instituto Federal Catarinense, Araquari, Brasil

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil

<sup>5</sup> Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

\*Correspondência: janinedecamargo@gmail.com

**Palavras-chave:** Bactérias. Inseminação artificial. Qualidade do sêmen.

## Material e métodos

O ejaculado de seis cachacos foram coletados pela técnica da "mão enluvada", para a produção de doses inseminantes. Os ejaculados foram imediatamente avaliados quanto ao volume, motilidade e concentração espermática para a sua diluição. Os ejaculados foram então diluídos em BTS (*Beltsville Thawing Solution*) com e sem a adição de antimicrobianos (0,25 g/L de sulfato de gentamicina) a 37 °C para obter uma concentração de  $2,5 \times 10^9$  espermatozoides por dose com volume de 90 ml. As doses foram envasadas manualmente em dois tipos de *blisters*: *blister* Bactibag® (IMV Technologies, França) e *blister* convencional GTB (IMV Technologies, França), resultando assim em quatro grupos experimentais: sêmen diluído em BTS com antimicrobianos e adicionado ao Bactibag® (grupo BBA) e ao *blister* convencional (grupo GTA), sêmen diluído em BTS sem antimicrobianos e adicionado ao Bactibag® (grupo BBN), *blister* convencional (grupo GTN). As doses de sêmen foram emantidas a 16 °C por até 120 horas (5 dias). Às 72 e 120 horas foram coletadas amostras e submetidas à quantificação de mesófilos aeróbios totais. Para isso, foram submetidas a diluições seriadas ( $1 - 7 \log_{10}$ ), com posterior plaqueamento em ágar padrão para contagem (PCA) através da técnica de *pour plate*. As placas foram incubadas a 37 °C em aerobiose e após 24 horas realizou-se a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) por ml. As avaliações espermáticas foram realizadas às 72 e 120h por citometria de fluxo (Accuri C6, Becton & Dickson, Santiago, Chile), tendo sido avaliadas a integridade de membrana acrossomal, utilizando-se *fluorescein isothiocyanate* (FITC-PSA; Sigma-Aldrich Co., Saint Louis Missouri, USA; 1.25 µg/ml; BP: 530/30 nm), e da integridade da membrana plasmática, utilizando-se iodeto de propidium (PI; Sigma-Aldrich Co., Saint Louis Missouri, USA; 10 µg/ml; BP: 610/20 nm) no citômetro, tendo sido avaliados 10.000 eventos.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico R. As variáveis com distribuição normal foram submetidas ao teste de ANOVA com posterior comparação de médias pelo teste de Tukey. Os parâmetros com distribuição não normal tiveram a variância analisada através do teste de Kruskal-Wallis, comparando-se os grupos a partir do teste de Dunn. As diferenças foram consideradas significantes ao nível de  $p \leq 0,05$ .

## Resultados e discussão

O uso de gentamicina em ambos os tipos de *blister* inibiu efetivamente o crescimento bacteriano do dia 3 até o dia 5 ( $p < 0,05$ ). Após 72 e 120 horas de armazenamento, os resultados do grupo BBN foram comparáveis aos do grupo GTA, indicando a eficácia do Bactibag® sem antibiótico

na modulação da proliferação bacteriana até 5 dias de armazenamento. Não houve diferenças no crescimento bacteriano entre 72 e 120 horas de armazenamento no grupo BBA, demonstrando assim o efeito cumulativo entre o sistema de envase e o uso de sulfato de gentamicina. Ao examinar a proliferação bacteriana durante o período avaliado (de 72h a 120h), verificou-se que o *blister* de Bactibag® somente foi capaz de restringir o crescimento bacteriano. Os diferentes graus de contaminação e os diferentes tipos de microrganismos encontrados nos ejaculados podem limitar a atividade inibitória de antimicrobianos utilizados e favorecer o aparecimento de resistência bacteriana (Schulze et al., 2020; Jakop et al., 2021). Por isso algumas alternativas durante o armazenamento seminal vêm sendo estimuladas com o intuito de diminuir a utilização de antimicrobianos sem comprometer a qualidade seminal (Morrell, 2016; Camugli et al., 2019; Silva et al., 2020). Não observou-se interação entre a lesão de acrossoma, o tempo de avaliação com a presença ou não de antibiótico. A lesão acrossomal pode estar associada à presença de contaminação bacteriana no ejaculado suíno (Contreras et al., 2022). Observou-se uma tendência do Bactibag® em apresentar menores índices de lesão do acrossoma nos espermatozoides, sendo as seguintes médias e desvios padrões encontrados: BBA ( $54,4 \pm 21,9$ ), BBN ( $54,7 \pm 27,2$ ), GTA ( $71,4 \pm 33,7$ ), GTN ( $65,9 \pm 30,9$ ) ( $p = 0,10$ ). É necessário, portanto, um maior N amostral para avaliar efeitos funcionais na célula espermática. Em relação à lesão da membrana da célula espermática, não observou-se efeito do tempo, do antibiótico e do *blister* na mesma.

## Conclusão

Os resultados preliminares deste estudo sugerem a eficácia do *blister* Bactibag® como uma ferramenta na diminuição do uso de antimicrobianos e/ou como facilitador da ação de antimicrobianos para prevenir a proliferação bacteriana em doses inseminantes armazenadas a 16 °C por até 5 dias.

## Referências

- CAMUGLI, S. et al. Bactibag®: an opportunity to reduce the use of antibiotics in boar semen processing. *Theriogenology* 137, 128, 2019.
- CONTRERAS, M.J. et al. Bacteria and Boar semen storage: progress and challenges. *Antibiot. vol.* 11, p. 1796, 2022.
- JAKOP, U. et al. Development of a new antimicrobial concept for boar semen preservation based on bacteriocins. *Theriogenology* 173, 163-172, 2021.
- JM, M. Antimicrobials in Boar Semen Extenders A Risk/Benefit Analysis. *J. Antimicrob. Agents* 02, 1-2, 2016.

KELLERMAN, C. et al. Antibiotic resistance patterns in cervical microbes of gilts and sows. *Anim. an open access J. from MDPI* 12, 117, 2022.

SCHULZE, M. et al. Antibiotics and their alternatives in Artificial Breeding in livestock. *Anim. Reprod. Sci.* 220, 2020.

SANTOS, C.S.; Silva, A.R., Current and alternative trends in antibacterial agents used in mammalian semen technology. *Anim. Reprod.* 17, 1, 2020.

WIEBKE, M. ET AL. Cooled storage of semen from livestock animals (part I): boar, bull, and stallion. *Anim. Reprod. Sci.* 2021.

# Expressão relativa de genes pró-inflamatórios duodenais de suínos nascidos com restrição intrauterina de crescimento ao longo do desenvolvimento pós-natal

Saffir Dominique Fernandes<sup>1\*</sup>

Thaís Garcia Santos<sup>2</sup>

Fernanda Radicchi C. L. de Almeida<sup>1</sup>

*Relative expression of duodenal pro-inflammatory genes of pigs born with intrauterine growth restriction throughout postnatal development*

<sup>1</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

<sup>2</sup> Prefeitura de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Brasil

\*Correspondência: safirdf@gmail.com

Palavras-chave: BRIUC. Citocinas. Creche.

## Introdução

A alta seleção genética por fêmeas hiperprolíficas levou ao aumento das leitegadas, porém resultou em maior heterogeneidade de peso e maior incidência de Restrição Intrauterina de Crescimento (RIUC), segundo D’Inca et al. (2010) e Engelsmann et al. (2019). Essa condição, na qual o feto não atinge o seu potencial de crescimento e nasce com baixo peso, causa mortalidade

pré-desmame, baixo desempenho e pior qualidade de carcaça devido ao atraso no desenvolvimento (Alvarenga et al., 2013). O potencial de crescimento é expresso no sucesso do processo digestivo, definido em grande parte pela integridade do epitélio intestinal, local de absorção de nutrientes, identificação de antígenos e resposta imune (Li et al., 2018).

O intestino é o órgão com maior quantidade de células imunes, isoladas ou conjugadas, que sofrem exposição constante a vários antígenos; e mesmo células epiteliais produzem uma gama de citocinas e receptores que, além de regular e amplificarem a resposta inflamatória, também atuam na manutenção da homeostase e no crescimento e diferenciação do epitélio (Peterson e Artis, 2014; Sonnenberg e Hepworth, 2019). A RIUC compromete o desenvolvimento intestinal, que além de apresentar morfofuncionalidade alterada, possui sua maturação imunológica atrasada e maiores níveis de citocinas inflamatórias como IL-6 e receptores como o TLR2 (Zhang et al., 2018), causando dano tecidual e predisposição a doenças intestinais.

Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar a expressão relativa de genes inflamatórios em suínos nascidos com RIUC ao longo do seu desenvolvimento pós-natal.

## Material e métodos

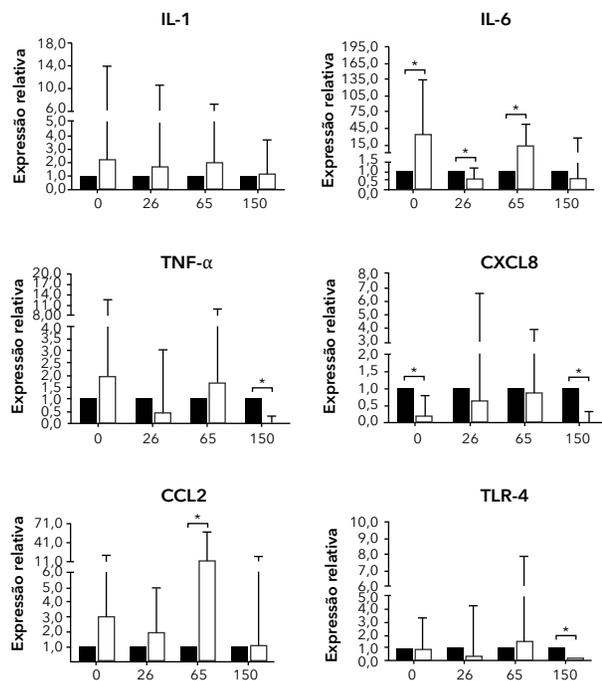
Cento e vinte pares de leitões, irmãos de leitegada, foram alocados em dois grupos experimentais, de acordo com o peso ao nascer: peso normal (PN: 1,6-1,9 kg) e RIUC (0,6-0,9 kg), sendo um irmão PN e um RIUC. Em quatro idades (nascimento, 26, 65, 150 dias) 10 pares foram aleatoriamente selecionados e eutanasiados. Um fragmento de 30 mg de duodeno foi coletado e dele foi purificado o RNA celular total, usando o kit SV Total RNA Isolation System, e sua concentração medida em espectrofotômetro NanoDrop. Por transcriptase reversa, o cDNA foi sintetizado no kit GoScript™ Reverse Transcriptase, a partir de *primers* aleatórios, retirados de outros trabalhos (Duvigneau et al., 2005; Acre et al., 2010; Frandoloso et al., 2013). Realizou-se PCR quantitativa em tempo real, com Fast SYBR Green Master Mix, com 20µL de amostra, em máquina PCR 7900. As reações foram feitas em duplicatas e a análise da expressão relativa foi calculada pelo método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  (Livak e Schmittgen, 2001). O teste de normalidade e a análise de variância ANOVA foram feitas por meio do SAS (Institute Inc, 2003) e o nível de significância considerado foi  $p < 0,05$ .

## Resultados e discussão

Suínos RIUC apresentaram maior expressão de IL-6 ao nascimento e aos 65 dias, porém menor ao fim do desmame. Também apresentaram maior expressão de CCL2 aos 65 dias, porém menor expressão de TLR4, TNF- $\alpha$  e CXCL8 aos 150 dias; este último também ao nascimento, como mostra a Figura 1 ( $p < 0,05$ ). A cinética de expressão mostrou que o grupo RIUC apresentou crescimento na expressão de IL-6 e CXCL8 ao longo do período de creche, mas que decaiu na terminação, junto às outras moléculas. A rede de correlação entre os genes mostrou correlação positiva no grupo RIUC aos 65 dias entre IL-1, TLR4, CCL2, CXCL8 e TNF- $\alpha$ , o que é indicativo de via do inflamossoma ativada. Esse comportamento corrobora outros dados que mostram animais RIUC com resposta inflamatória no período de crescimento, o que pode indicar que o epitélio intestinal não está comportando o aumento da demanda digestiva, sofrendo mais inflamação. Além disso, a baixa expressão durante o desmame, no qual a dieta é trocada e há resposta inflamatória devido a estresse, sugere atraso no desenvolvimento, que só responde ao estímulo mais tarde.

## Conclusão

Os achados deste estudo indicam que a RIUC é capaz de retardar a maturação imunológica adequada de suínos, causando inflamação e prejudicando o desempenho na fase crucial do desenvolvimento pós-natal desses animais.



**Figura 1** - Expressão relativa de genes inflamatórios ( $p < 0,05$ ).

## Referências

- ALVARENGA, A. L. N. et al. Intra-uterine growth retardation affects birthweight and postnatal development in pigs, impairing muscle accretion, duodenal mucosa morphology and carcass traits. *Reproduction, Fertility and Development*, 25:387-395, 2013.
- ARCE, C. et al. Innate immune activation of swine intestinal epithelial cell lines (IPEC-J2 and IPI-2I) in response to LPS from *Salmonella typhimurium*. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33:161-174, 2010.
- D'INCA, R. et al. Intrauterine growth restriction modifies the developmental pattern of intestinal structure, transcriptomic profile, and bacterial colonization in neonatal pigs. *J Nutr*, 140:925-931, 2010.
- DUVIGNEAU, J. C. et al. ; Quantitative simultaneous multiplex real-time PCR for the detection of porcine cytokines. *Journal of Immunological*, 306: 16-27. 84, 2005.
- ENGELSMANN, M. N. et al. Glucose injections at birth, warmth and placing at a nurse sow improve the growth of IUGR piglets. *Animals*, 9:519, 2019..
- FRANDOLOSO, R. et al. *Haemophilus parasuis* subunit vaccines based on native proteins with affinity to porcine transferrin prevent the expression of proinflammatory chemokines and cytokines in pigs. *Clinical & Developmental Immunology*, 2013: 122432, 2013.

LI, N. et al. Differences in the gut microbiota establishment and metabolome characteristics between low- and normal-birth-weight piglets during early-life. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1798, 2018.

LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>( $\Delta\Delta C_T$ ) Method. *Methods*. 25:402-408, 2001.

PETERSON, L.; ARTIS, D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature Review Immunology*, 14:141-153, 2014.

SONNENBERG, G. F.; HEPWORTH, M. R. Functional interactions between innate lymphoid cells and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 19: 599-613, 2019.

WU, G. et al. Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 84: 2316-2337, 2006.

ZHANG, S. et al. Placental adaptations in growth restriction. *Nutrients*, 1:360-389, 2015.



# Ganho de peso diário até o primeiro estro e sua associação com *flushing* alimentar em leitoas

*Daily weight gain until the first estrus and its association with flush feeding in gilts*

Lóis Silva Machado  
Victoria Nunes Pereira  
Caroline Moreira da Silva  
Ana Paula Gonçalves Mellagi  
Fernando Pandolfo Bortolozzo  
Rafael da Rosa Ulguim\*

Departamento de Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

\*Correspondência: rafael.ulguim@ufrgs.br

**Palavras-chave:** Energia de manutenção. Longevidade. Taxa de retenção.

## Introdução

A composição corporal das matrizes suínas tem passado por mudanças, com uma constituição de massa magra mais robusta e reduzida deposição de gordura na carcaça (Beltranena et al., 1991; Kummer et al., 2009). Isso afeta a idade puberal, a taxa de ovulação e o desempenho reprodutivo das leitoas (Kirkwood e Aherne, 1985). O *flushing* alimentar, utilizado antes da inseminação artificial (IA), visa influenciar o desenvolvimento folicular tanto no período pré-cobertura quanto entre o desmame e o estro (Mallmann et al., 2020). A redução da oferta alimentar durante o *flushing* permite uma otimização no uso da ração, melhorando o custo-benefício. Além disso, estabelecer a quantidade adequada de ração durante o *flushing* pode trazer benefícios ao desenvolvimento corporal das matrizes, evitando o excesso de peso. O objetivo desse estudo, portanto, foi investigar a interação entre o ganho de peso diário até o primeiro estro de leitoas com o fornecimento de diferentes quantidades de ração durante o

*flushing* pré-cobertura e seu efeito no desenvolvimento corporal e desempenho reprodutivo.

## Material e métodos

O estudo foi realizado com 630 leitoas (185 dias de idade) da linhagem Camborough (Agrocere PIC®), com manejo de indução à puberdade uma vez ao dia. As leitoas foram alojadas em baias coletivas e receberam 2,1 kg/dia de ração à base de milho e soja com fornecimento de água *ad libitum*. Após a detecção do primeiro estro, foram transferidas para gaiolas individuais, onde no sexto dia (d6) foi iniciado o fornecimento de diferentes quantidades de ração para atender duas (2x), duas e meia (2,5x) e três vezes (3x) a necessidade diária de energia para manutenção. Para definir a necessidade de manutenção de cada tratamento, as fêmeas foram pesadas e distribuídas em dois intervalos de peso: 88,5 a 120 kg e 120,5 a 150,5 kg. Dessa forma, foram calculadas as quantidades de ração a ser ofertada conforme a média de peso desses intervalos.

Durante o experimento, as leitoas dos diferentes tratamentos consumiram: 2x - EM 7.358,91 Kcal/dia; 2,5x - EM 15.137,02 Kcal/dia; e 3x - EM 11.005,20 Kcal/dia. A ração foi pesada e individualmente fornecida seca duas vezes ao dia (às 7h30 e às 11h30) de forma manual até o segundo estro. Após o fornecimento, a ração ficou disponível

por duas horas e em seguida as sobras foram pesadas para avaliação do consumo individual. Após o 15º dia do ciclo estral (d15), as leitoas foram expostas diariamente a um macho sexualmente maduro para detecção do estro. A primeira IA ocorreu no momento da detecção do estro e as demais em intervalos de 24 horas. A IA foi produzida com doses heterospermicas (80 ml;  $2,5 \times 10^9$  espermatozoides). No dia da primeira IA, as fêmeas passaram a receber 1,8 kg/dia de ração, também em dois tratos (às 7h30 e às 11h30). Respostas de desempenho e longevidade até o terceiro parto foram coletados a partir do software de gerenciamento da granja. Os dados foram analisados com o software SAS (Statistical Analysis System), usando procedimento GLIMMIX e incluindo o ganho de peso diário (GPD), tratamento e interação como efeito fixo. Os resultados foram considerados significativos a uma probabilidade de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## Resultados e discussão

O tempo de fornecimento de *flushing* foi semelhante para todos os grupos avaliados ( $p = 0,14$ ). Não houve efeito da interação entre os níveis de manutenção e o GPD até o

primeiro estro no peso no momento da IA e o GP durante o *flushing* ( $p > 0,57$ ) (Tabela 1). Contudo os maiores níveis de alimentação no *flushing* frente ao uso de  $2\times$  a manutenção, aumentaram o ganho peso ( $2\times - 10,4 \text{ kga} \pm 0,4$ ;  $2,5\times - 13,5 \text{ kgb} \pm 0,5$ ;  $3\times - 15,1 \text{ kgb} \pm 0,6$ ) e, conseqüentemente, o peso na IA ( $2\times - 130,9 \text{ kga} \pm 0,8$ ;  $2,5\times - 135,5 \text{ kgb} \pm 0,9$ ;  $3\times - 134,6 \text{ kgb} \pm 1,0$ ). É interessante notar que leitoas com  $\text{GPD} \leq 630$  até o primeiro estro ganharam mais peso no *flushing* ( $13,7 \text{ kg} \pm 0,4$ ) em relação às de  $\text{GPD} \leq 630$  ( $12,4 \text{ kg} \pm 0,4$ ) ( $p = 0,04$ ). Como esperado, porém, leitoas com  $\text{GPD} \leq 630$  até o primeiro estro tiveram menor peso na inseminação ( $126,7 \text{ kg} \pm 0,8$ ) comparado com as de  $\text{GPD} > 630$  até o primeiro estro ( $140,7 \text{ kg} \pm 0,8$ ) ( $p < 0,01$ ). O número total de leitões nascidos ao primeiro parto (OP1), bem como nos partos subsequentes (OP2 e OP3), não foi influenciado pelas quantidades de ração, GPD ou interação dos fatores ( $p > 0,08$ ). Fêmeas com  $\text{GPD} < 630\text{g}$ , porém, permaneceram mais dias no rebanho ( $345,1\text{d} \pm 9,3$ ) comparadas àquelas com  $\text{GPD} \leq 630 \text{ g}$  ( $374,4\text{d} \pm 9,0$ ) ( $p = 0,02$ ). Para a taxa de remoção por ordem de parição, bem como para a taxa de retenção no rebanho, não observou-se efeito dos níveis de manutenção nem do GPD até o primeiro estro e suas interações.

**Tabela 1** - Características de desempenho de leitoas, nascidos totais e longevidade em leitoas com diferentes ganhos de peso até o primeiro estro e alimentadas com diferentes níveis de manutenção durante o *flushing* pré-cobertura

Variáveis	Níveis de manutenção						Valor-p		
	2x		2,5x		3x				
	Ganho de peso diário até o primeiro estro (g/d)						GPD	TRAT	INT
$\leq 630$	$> 630$	$\leq 630$	$> 630$	$\leq 630$	$> 630$				
N	61	66	50	47	43	36	-	-	-
<i>Flushing</i> (d)	$14,8 \pm 0,2$	$14,3 \pm 0,9$	$14,5 \pm 0,2$	$14,7 \pm 0,2$	$14,7 \pm 0,2$	$15,0 \pm 0,2$	1,00	0,48	0,14
Peso IA (kg)	$123 \pm 1,2$	$138,7 \pm 1,2$	$128,9 \pm 1,3$	$142,1 \pm 1,4$	$128 \pm 1,4$	$141,2 \pm 1,6$	$<0,01$	$<0,01$	0,56
GP (kg)	$10,9 \pm 0,7$	$9,81 \pm 0,7$	$14,1 \pm 0,8$	$12,9 \pm 0,8$	$15,9 \pm 0,8$	$14,3 \pm 0,9$	$\leq 0,05$	$<0,01$	0,98
<b>Nascidos totais</b>									
OP1	$14,8 \pm 0,3$	$14,4 \pm 0,3$	$14,0 \pm 0,4$	$14,8 \pm 0,4$	$15,0 \pm 0,4$	$14,6 \pm 0,4$	0,87	0,67	0,15
OP2	$15,1 \pm 0,5$	$15,9 \pm 0,5$	$15,2 \pm 0,6$	$15,6 \pm 0,6$	$15,4 \pm 0,6$	$14,6 \pm 0,7$	0,76	0,68	0,39
OP3	$17,2 \pm 0,5$	$16,3 \pm 0,6$	$16,2 \pm 0,6$	$16,2 \pm 0,7$	$16,3 \pm 0,6$	$15,5 \pm 0,7$	0,29	0,38	0,72
OP1 3	$37,7 \pm 1,9$	$36,3 \pm 1,8$	$38,5 \pm 2,1$	$35,5 \pm 2,16$	$39,0 \pm 2,2$	$34,3 \pm 2,4$	0,08	0,98	0,75
<b>Longevidade</b>									
D-rebanho (d)	$368,5 \pm 14,3$	$342,2 \pm 13,6$	$371,5 \pm 15,7$	$340,0 \pm 16,2$	$383,2 \pm 16,9$	$352,8 \pm 18,5$	0,02	0,69	0,98
<b>Remoção %</b>									
OP1	$11,4 \pm 4,1$	$13,6 \pm 4,2$	$12,0 \pm 4,6$	$17,0 \pm 5,5$	$69,7 \pm 3,9$	$83,3 \pm 4,6$	0,49	0,39	0,96
OP2	$16,6 \pm 5,1$	$17,5 \pm 5,0$	$18,1 \pm 5,8$	$23,0 \pm 6,8$	$15,0 \pm 5,6$	$27,2 \pm 7,7$	0,24	0,79	0,67
OP3	$17,7 \pm 5,7$	$25,5 \pm 6,4$	$55,5 \pm 3,8$	$13,3 \pm 6,2$	$18,1 \pm 6,7$	$12,5 \pm 6,7$	0,45	0,12	0,46
Retenção (%)	$60,6 \pm 6,2$	$53,0 \pm 6,1$	$68,0 \pm 6,6$	$55,3 \pm 2,2$	$65,1 \pm 7,3$	$58,3 \pm 8,2$	0,12	0,69	0,90

Nota: GPD = ganho diário de peso; TRAT = tratamento; INT = interação; OP = ordem de parição.

## **Conclusão**

Os diferentes níveis de manutenção durante o *flushing* ou o GPD até o primeiro estro não influenciaram o número de nascidos totais no primeiro parto e no segundo e terceiro partos. As taxas de remoção e retenção também não foram influenciadas. Observou-se maior peso na inseminação e ganho de peso para leitoas que consumiram quantidades superiores a 2× a manutenção durante o *flushing*. Os efeitos da interação entre o GPD até o primeiro estro e as quantidades de ração durante o *flushing* não foram observados.

## **Agradecimentos**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Edital ARD/ARC 10/2021

## **Referências**

BELTRANENA, E. et al. Effects of pre- and post-pubertal feeding on production traits at first and second estrus in gilts. *Journal of animal science*, v. 69, n. 3, p. 886-893, 1991.

DIAZ, J. A. C. et al. Age at puberty, ovulation rate, and uterine length of developing gilts fed two lysine and three metabolizable energy concentrations from 100 to 260 d of age. *Journal of Animal Science*, v. 93, n. 7, p. 3521-3527, 2015.

KIRKWOOD, R. N.; AHERNE, F. X. Energy intake, body composition and reproductive performance of the gilt. *Journal of animal science*, v. 60, n. 6, p. 1518-1529, 1985.

KUMMER, R. et al. Reproductive performance of gilts with similar age but with different growth rate at the onset of puberty stimulation. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 44, n. 2, p. 255-259, 2009.

MALLMANN, A. L. et al. Effects of flush feeding strategy before breeding on reproductive performance of modern replacement gilts: impacts on ovulation rate and litter traits. *11 American Society of Animal Science*, p. 1-10, 2020.