

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO - *CAMPUS* RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CORRELAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DO
MOVIMENTO ESPERMÁTICO DE SÊMEN DE CACHAÇOS
E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS

Mestranda: Emanuelle Maria Gottardi

Orientadora: Dr.^a Karen Martins Leão

RIO VERDE - GO

Setembro – 2014

CORRELAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DO
MOVIMENTO ESPERMÁTICO DE SÊMEN DE CACHAÇOS
E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS

Mestranda: Emanuelle Maria Gottardi

Orientadora: Dr.^a Karen Martins Leão

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde – Área de concentração Zootecnia.

RIO VERDE - GO

Setembro – 2014

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CORRELAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DO
MOVIMENTO ESPERMÁTICO DE SÊMEN DE
CACHAÇOS E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE
FÊMEAS SUÍNAS**

Mestranda: Emanuelle Maria Gottardi
Orientadora: Dr.^a Karen Martins Leão

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração
Zootecnia – Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

APROVADA em 22 de setembro de 2014.

Dr. Marco Antônio Pereira da Silva
Avaliador interno
IF Goiano/RV

Dr.^a Cely Marini Melo e Oña
Avaliadora externa
UFG/ GO

Dr.^a Karen Martins Leão
Presidente da banca/ orientadora
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus, dedico o meu agradecimento maior, porque têm sido tudo em minha vida.

Aos meus pais: Wilson e Marta, pelas orações e pelo amor incondicional.

Ao meu esposo Marcelo, pelo apoio nesta jornada que foi muito difícil. Com todo meu amor dedico esta conquista.

A minha orientadora, Professora Karen Martins Leão, pela confiança em mim depositada, pelo tempo sempre dispensado em me ajudar, pelo exemplo de ética, profissionalismo e competência.

A BRF SA, por todo apoio, suporte e credibilidade, por disponibilizar as instalações para que este sonho acontecesse, em especial ao Nilo Chaves de Sá, com quem sempre pude contar muito. A toda a equipe da Central de Difusão Genética, em especial Gérssia Cleide de Medeiros, Keles Silva Pinheiro e Ademar dos Santos, pelo apoio na execução do experimento. Também a Granja Fetz 1, que disponibilizou as fêmeas e os funcionários para que este trabalho se completasse.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste sonho.

“ DA VIDA NÃO QUERO MUITO. QUERO APENAS SABER QUE TENTEI TUDO O QUE QUIS, TIVE TUDO O QUE PUDE, AMEI TUDO O QUE VALIA E PERDI APENAS O QUE, NO FUNDO, NUNCA FOI MEU”. CARLA DE PAULA

BIOGRAFIA DO AUTOR

EMANUELLE MARIA GOTTARDI, filha de Wilson Gottardi e Marta Genoveva Gottardi, nasceu em Caxambu do Sul – SC, em 23 de março de 1981. Em agosto de 2002, iniciou no curso de Medicina Veterinária no CAV – Centro de Ciências Agroveterinárias – UDESC – Universidade do Estado de Santa Catarina, graduando-se em julho de 2007. Em novembro de 2008, iniciou no curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* MBA em Gestão Empresarial, em nível de Especialização pela Fundação Getúlio Vargas, concluindo em setembro de 2010. Em abril de 2011, iniciou no curso de pós-graduação, em nível de especialização em Produção de Suínos pela Universidade Federal de Goiás, concluindo em abril de 2013. Em agosto de 2012, ingressou no programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, na área de Produção Animal, no Instituto Federal Goiano, concluindo em setembro de 2014.

ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	Vi
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	Viii
RESUMO.....	Ix
ABSTRACT.....	X
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1. Revisão de literatura.....	3
1.1.1. Inseminação artificial	3
1.1.2. Motilidade espermática	4
1.1.3. Sistemas Computadorizados de Avaliação de sêmen.....	5
1.1.4. Avaliação da Fertilidade <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	7
1.2. Justificativa e relevância.....	9
1.3. Referências Bibliográficas.....	9
2. OBJETIVOS GERAIS.....	13
3. TRABALHO CIENTÍFICO.....	
CORRELAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DO MOVIMENTO ESPERMÁTICO DE SÊMEN DE CACHAÇOS E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS.....	14
RESUMO.....	14
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
Local, animais, habitação e alimentação.....	16
Colheita e processamento de sêmen.....	17
Análise de sêmen.....	18
Teste de fertilidade.....	18

Análise de dados.....	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

ÍNDICE DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Correlação entre os parâmetros de motilidade total (MT) e motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) e batimento flagelar cruzado (BCF), com a taxa de parição (TP) e o número de leitões nascidos totais (NT) avaliados logo após a diluição, 24 horas, 48 horas e 72 horas de refrigeração da dose inseminante a 15°C.....	20
Tabela 2.	Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaço, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), Linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH), batimento flagelar cruzado (BCB), nascidos totais (NT) e taxa de parição de cachaços logo após a diluição.....	24
Tabela 3.	Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaço, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), Linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) e batimento flagelar cruzado (BCF), após 24 horas de refrigeração.....	25
Tabela 4.	Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de	

sêmen de cachaco, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), Linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) e batimento flagelar cruzado (BCF) de cachacos, após 48 horas de refrigeração..... 27

Tabela 5. Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaco, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), Linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) e batimento flagelar cruzado (BCF) de cachacos, após 72 horas de refrigeração..... 28

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

ALH	Amplitude de Deslocamento Lateral de Cabeça
BCF	Frequência de Batimento Flagelar Cruzado
BTS	Diluyente de refrigeração suíno
CASA	Sistema Computadorizado de Análise de Sêmen
CIA	Central de Inseminação Artificial
DI	Dose Inseminante
°C	Graus Celsius
IA	Inseminação Artificial
LIN	Linearidade
mL	Mililitro
MP	Motilidade Progressiva
MT	Motilidade Total
PIC	Genética dos animais
SPL	Sistema Produtor de Leitões
STR	Retilinearidade
T0	Tempo de refrigeração zero
T24	24 horas de refrigeração
T48	48 horas de refrigeração
T72	72 horas de refrigeração
VAP	Velocidade Média da Trajetória
VCL	Velocidade Curvilínea
VSL	Velocidade Linear Progressiva
USA	Estados Unidos
%	Porcentagem
®	Marca registrada
µm/s	Micrômetro por segundo
DP	Desvio Padrão

RESUMO

A suinocultura teve grande desenvolvimento, e a cada ano surgem novas tecnologias no intuito de melhorar os índices zootécnicos tornando a atividade mais eficiente. Os sistemas de avaliação computadorizada de sêmen (CASA) têm mostrado ser uma ferramenta útil na avaliação cinética dos espermatozoides, mostrando grande potencial para prever a fertilidade do macho. Objetivou-se estimar a correlação entre as características de movimento espermático que foram avaliadas por sistema computadorizado (CASA) durante 72 horas de refrigeração, com a taxa de parição e número total de leitões nascidos de porcas inseminadas com as amostras de sêmen avaliadas. Foram utilizados sete machos, sendo 19,6 ejaculados por macho e para o teste de fertilidade foram utilizadas 464 fêmeas de segundo ao sexto parto. Foram avaliados os seguintes parâmetros de movimento espermático logo após a diluição e após 24, 48 e 72 horas de refrigeração: motilidade total (MT-%), motilidade progressiva (MP-%), velocidade curvilínea (VCL- $\mu\text{m/s}$), velocidade linear progressiva (VSL- $\mu\text{m/s}$), velocidade média da trajetória (VAP- $\mu\text{m/s}$), amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH- μm), frequência de batimento flagelar cruzado (BCF-Hz), retilinearidade (STR-%) e linearidade (LIN-%). Para análise dos dados foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson e as médias das características entre os cachaços foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os parâmetros de motilidade total e progressiva no momento zero (T0) foram altamente significativos e tiveram correlação moderada a alta, tanto com a taxa de parição, como com o número de leitões nascidos totais. No entanto, nos momentos T24, T48 e T72 horas, não foi observado correlação de nenhum dos parâmetros avaliados com a taxa de parição e número total de leitões nascidos. O cachaço que apresentou menor valor de motilidade total e progressiva no T0 obteve menor taxa de parição e número total de leitões nascidos. Conclui-se que a análise computadorizada de sêmen logo após a diluição é eficiente para prever a fertilidade de cachaços.

Palavras-chave: fertilidade, leitões nascidos totais, movimento espermático, taxa de parição.

ABSTRACT

The swine livestock had a great development, and every year there are new technologies in order to improve production indices making the activity more efficient. Systems of computerized assessment of semen (CASA) have been shown to be a useful tool in the evaluation of sperm kinetics, showing great potential for predicting male fertility. The aim of this experiment is to determine the correlation between the characteristics of sperm movement evaluated by a computerized system (CASA) for 72 hours of cooling, with the birth rate and total number of piglets born from sows inseminated with the evaluated semen samples. A total of 7 males were used, being 19.6 ejaculated per male and for the fertility test, 464 females from second to sixth delivery were used. The following parameters were evaluated for sperm movement immediately after the dilution and after 24, 48 and 72 hours of cooling: total motility (% MT), progressive motility (% MP-), curvilinear velocity (VCL-mM / s) Speed progressive linear (VSL-mM / s), average path velocity (VAP-mM / s), amplitude of lateral head displacement (ALH-mM), beat cross frequency (BCF, Hz), straightness (Str-%) and linearity (Lin%). For data analysis, it was used the Pearson correlation coefficient and average characteristics among boars was compared by Tukey test at 5% probability. The parameters of total and progressive motility at time zero (T0) were highly significant and had a moderate correlation with both the high birth rate as the total number of piglets born. However, at times T24, T48 and T72 hours, correlation was not observed in any of the parameters evaluated with farrowing rate and total number of piglets born. The boar that showed the lowest total and progressive motility in T0 had lower farrowing rate and total number of piglets born. We conclude that computerized semen analysis after dilution is effective for predicting the fertility of boars.

Key words: fertility, total born piglets, sperm movement, farrowing rate.

INTRODUÇÃO GERAL

A suinocultura brasileira é bastante desenvolvida e a cada ano surgem novas técnicas de produção e de manejo sanitário, nutricional e reprodutivo, que têm como objetivo a melhoria dos índices zootécnicos do setor, tornando-o ainda mais eficiente.

Na suinocultura moderna e tecnificada cada vez mais se utiliza a inseminação artificial (IA) como componente do manejo reprodutivo. A grande difusão da técnica ocorreu em função do surgimento de linhagens genéticas de machos terminais que agregaram às carcaças dos descendentes as qualidades exigidas pela tipificação instituída na indústria de carnes. A necessidade de atender as exigências do mercado consumidor no que diz respeito a qualidade da carne e teor de gordura na carcaça foi a principal responsável pelo progresso genético nessa área, na espécie suína (BORTOLOZZO et al., 2005).

As características do ejaculado ou sêmen *in natura* constituem o primeiro passo no controle da qualidade do processo de IA (SILVEIRA & SCHIED, 2003). A motilidade espermática é comumente apontada como uma das mais importantes características associadas com a habilidade fertilizante dos espermatozoides (COX et al., 2006). Porém, quando mensurada microscopicamente não é bem correlacionada com a capacidade fertilizante dos espermatozoides, pois além da subjetividade da avaliação, existe ainda a limitação do método para avaliar detalhadamente as características do movimento espermático (LIU et al., 1991).

A fertilidade do reprodutor pode ser afetada por diversas causas, como fatores inerentes a produção espermática, ao processamento do ejaculado no laboratório, fatores genéticos e fatores relacionados a qualidade da matriz e do processo de inseminação (KUMMER et al., 2013).

A utilização de reprodutores subférteis e ejaculados de baixa qualidade diminui a eficiência reprodutiva e conseqüentemente, a margem de lucro do produtor (BORTOLOZZO et al., 2008a). No entanto, a necessidade de melhorar continuamente a

eficiência da produção de carne suína, sugere que a prática comercial de IA deverá envolver maior uso de reprodutores com elevado mérito genético, a fim de permitir a disseminação de características importantes de produção (FOXCROFT et al., 2008).

Estima-se que 15% a 20% dos reprodutores apresentam subfertilidade, mesmo apresentando padrões estabelecidos de qualidade do ejaculado, com motilidade total maior que 70% e menos de 30% de defeitos morfológicos dos espermatozoides (ALM et al., 2006).

A avaliação rotineira dos ejaculados utilizados para a preparação das doses inseminantes (DI), como motilidade e morfologia espermática, têm possibilitado o descarte de ejaculados de baixa qualidade e reduzida capacidade fecundante. No entanto, estas avaliações não têm sido capazes de identificar os reprodutores cuja fertilidade está subotimizada (POPWELL & FLOWERS, 2004). A dificuldade em identificar este grupo de reprodutores é pela grande similaridade dos resultados de testes *in vitro* entre os reprodutores férteis e aqueles considerados subférteis, não havendo ainda métodos simples e rápidos que sejam adequados para o uso rotineiro (BORTOLOZZO et al., 2008a).

A redução do número de espermatozoides por dose ou por fêmea inseminada associado ao uso de IA homospérmica pode evidenciar tanto machos com baixa fertilidade, como aqueles com fertilidade superior, que passariam despercebidos empregando IA heterospérmica e doses com o número tradicional de espermatozoides (DYCK et al., 2011).

Ao se avaliar a taxa de parto e o tamanho da leitegada proveniente de IA homospérmica é possível analisar retrospectivamente o desempenho reprodutivo do cachão (FOXCROFT et al., 2010). Porém, o alto custo para testar a fertilidade *in vivo* e a demora em obter a informação a respeito da fertilidade dos machos tem impulsionado estudos que buscam métodos de avaliação *in vitro* (KUMMER et al., 2013).

Os sistemas de avaliação computadorizada do sêmen (CASA) têm mostrado ser ferramenta útil na avaliação cinética dos espermatozoides, mostrando grande potencial para prever a fertilidade do macho, por meio da correlação da velocidade de movimentação das células com a capacidade de fertilizar oócitos (COX et al., 2006).

De acordo com FOXCROFT et al. (2010) dificilmente um único teste será capaz de prever o potencial reprodutivo de um cachão. Um dos principais objetivos da andrologia tem sido desenvolver métodos para detectar correlação entre as

características espermáticas com a fertilidade e tentar simplificar o processo de avaliação e seleção dos reprodutores (RUIZ-SÁNCHEZ et al., 2006).

1.1 Revisão de Literatura

1.1.1. Inseminação Artificial

Técnicas que otimizam os resultados reprodutivos vêm sendo cada vez mais empregadas. A inseminação artificial (IA) é um recurso bastante utilizado, porém, para que seja eficiente, o macho deve produzir um bom número de espermatozoides com elevada capacidade de fertilização. A IA potencializa o uso de machos geneticamente superiores, permite o uso de um número menor de cachaços, promove maior segurança sanitária e permite a eliminação de ejaculados de baixa qualidade, evitando assim a obtenção de baixas taxas de concepção e tamanho de leitegadas reduzido (BORTOLOZZO et al., 2005).

Segundo BROEKHUIJSE et al. (2011) a IA é uma ferramenta para a distribuição eficiente de alta qualidade e bom funcionamento de um programa genético. Centros de IA devem sempre visar minimizar seu efeito sobre a variação na fertilidade dos suínos e ao mesmo tempo conhecer qual o papel que desempenham no programa de melhoramento genético, entre outros, a avaliação da qualidade do sêmen. É essencial para os centros de IA garantir que apenas ejaculados de alta qualidade serão processados.

O alto número de células espermáticas utilizadas por fêmea coberta (9 bilhões de espermatozoides/estro) e o uso de *pool* de sêmen (mistura de dois ou mais ejaculados) de machos que apresentam diferentes graus de fertilidade tem mascarado o real problema por causa do efeito compensatório do número excessivo de células espermáticas na dose inseminante (BRAUNDMEIER & MILLER, 2001) e o desconhecimento da paternidade da leitegada (STAHLBERG et al., 2000).

No entanto, a redução do número de espermatozoides por dose ou por fêmea inseminada, associado ao uso de IA homospérmica pode evidenciar tanto machos com baixa fertilidade, como aqueles com fertilidade superior, que passariam despercebidos empregando IA heterospérmica e doses com o número tradicional de espermatozoides (DYCK et al., 2011).

FERREIRA et al. (2011) relataram que a taxa de parto e o número de leitões nascidos totais não diferiram entre o uso de inseminação homospérmica ou heterospérmica, entretanto, a utilização da inseminação homospérmica permitiu identificar variações individuais dos cachacos testados. Além disso, o uso de um macho de fertilidade inferior em um *pool* de sêmen resultaria em nenhum ou poucos leitões produzidos a partir desse ejaculado (FOXCROFT et al., 2010).

A identificação de reprodutores tanto de baixa, como aqueles de fertilidade superior, que passariam despercebidos empregando doses com o número tradicional de espermatozoides (MARCHETTI et al., 2001), é evidenciada com o uso reduzido do número de espermatozoides por dose associado a homospermia (MEZALIRA et al., 2005).

Experimentos usando reduzido número de espermatozoides por dose geraram melhor discriminação da variação na qualidade espermática de diferentes ejaculados e clarearam as relações entre avaliações *in vitro* e fertilidade *in vivo* (RUIZ-SÁNCHEZ et al., 2006).

É verificado que alguns machos atingem a taxa de fertilidade alvo com 2 bilhões de espermatozoides (ou menos) enquanto outros necessitam de 3 bilhões, sendo que um número maior de espermatozoides por dose não reflete obrigatoriamente em um aumento da fertilidade quando o platô é alcançado (FLOWERS, 2002).

A seleção de reprodutores para centrais de IA, em geral, é baseada na capacidade do seu potencial genético em transmitir a progênie características de desempenho de interesse econômico (ROBINSON & BUHR, 2005). Entretanto, mesmo com ótimo desempenho reprodutivo, estes reprodutores apresentam diferenças em desempenho individual, que se refletem nas taxas de fecundação (MEZALIRA et al., 2005).

1.1.2. Motilidade espermática

Para preparação das doses inseminantes (DI) são utilizadas avaliações rotineiras do sêmen como motilidade e morfologia espermática, que permite o descarte de ejaculados de baixa qualidade, entretanto, estas avaliações não têm sido capazes de identificar os reprodutores subférteis, com baixa capacidade de fecundação. (POPWELL & FLOWERS, 2004).

Considerando que a motilidade espermática é um dos mais importantes aspectos relacionados a qualidade do ejaculado, torna-se crucial a acurácia e a precisão desta

avaliação, no entanto, tradicionalmente em Centrais de Inseminação Artificial (CIA), a avaliação da motilidade é realizada microscopicamente pelo técnico que estima, pela avaliação visual, o percentual de células móveis do ejaculado (BROEKHUIJSE et al., 2011). Porém, essa prática se torna subjetiva e não padronizada, dependendo do grau de instrução e treinamento do avaliador (FOXCROFT et al., 2008).

A avaliação rotineira do ejaculado *in natura* corresponde a uma bateria de testes de fácil execução e baixo custo e que garantem a produção de doses inseminantes (DI) de alta qualidade (BERNARDI, 2008).

As técnicas de avaliação de sêmen usadas na maioria dos centros comerciais de IA, que incluem volume do ejaculado, motilidade progressiva, morfologia e concentração dos espermatozoides, fornecem uma estimativa muito conservadora da fertilidade individual de cada animal. Portanto, pequenas diferenças no potencial fecundante dos machos doadores são mascaradas pelo uso generalizado de sêmen heterospérmico para IA comerciais em muitos países (DYCK et al, 2011). No entanto, os parâmetros de qualidade espermática avaliados na rotina de uma CIA, uma vez alcançados os valores mínimos desejáveis, passam a ter fraca correlação com a fertilidade (WABERSKI et al., 2011b).

A redução do número de espermatozoides por DI pode evidenciar tanto machos com baixa fertilidade, como aqueles com fertilidade superior, que passariam despercebidos empregando doses com o número tradicional de espermatozoides (BORTOLOZZO et al., 2008b). Para tal, métodos eficazes para prever a fertilidade dos machos seriam essenciais para excluir animais subfêrteis e, assim, otimizar o uso de animais com comprovado potencial fecundante e geneticamente superiores com menor número de espermatozoides por dose na IA (DYCK et al, 2011).

A motilidade é considerada um indicador de funcionalidade (GIL et al., 2009), entretanto as correlações com a fertilidade têm sido baixas e contraditórias, atribuídas, principalmente, à subjetividade do teste (BROEKHUIJSE et al., 2012b). Sabe-se que ejaculados *in natura* que apresentam motilidade superior a 60% não produzem variações no tamanho da leitegada (FLOWERS, 1997).

1.1.3. Sistemas Computadorizados de Avaliação de Sêmen

Para reduzir a subjetividade, nos últimos 15 anos, sistemas automáticos para análise computadorizada de sêmen (CASA) vêm sendo desenvolvidos com o objetivo

de fornecer dados acurados da motilidade de cada espermatozoide e resumo estatístico das subpopulações (VERSTEGEN et al., 2002). Este equipamento pode ainda ser utilizado para mensurar o número de células por unidade de volume e ser modificado para capturar dados aproximados para classificação morfométrica de cada célula examinada (AMANN & KATZ, 2004).

O Sistema de Análise Computadorizada (CASA) tem sido uma ferramenta disponível para aplicação comercial, devido a sua capacidade de realizar a avaliação espermática objetiva e automatizada, incluindo diversas características de deslocamento, morfologia e concentração espermática, por captação de imagens digitalizadas (BROEKHUIJSE et al., 2011), sendo que essas características poderão ser correlacionadas com a fertilidade individual de um reprodutor (DIDION, 2008).

A avaliação de subpopulações de espermatozoides é mais importante do que a análise da população total de espermatozoides móveis por si só (MAREE & VAN DER HORST, 2013).

No método de análise computadorizada, a avaliação de motilidade em seus diversos parâmetros é realizada rigorosamente por um sistema estroboscópico de alta precisão totalmente controlado por computador. Utiliza-se videomicrografia que faz o monitoramento constante e análise sequencial do movimento do espermatozoide (MORTIMER, 2000).

Embora seja o flagelo a parte do espermatozoide que origina a motilidade, os sistemas automáticos avaliam o movimento da cabeça, porque é tecnicamente mais fácil acompanhar esse movimento do que o do flagelo (AMANN & KATZ, 2004).

O tamanho mínimo e máximo aceitável para a cabeça do espermatozoide de cada espécie é padronizado pelo sistema, e o computador irá reconhecer um objeto que se encontrar dentro da faixa de tamanho de cabeça espermática pré-estabelecida, ou seja, o *software* reconhece as células e desenha para cada espermatozoide uma sequência completa do movimento para constituir sua trajetória, classificando-a conforme os padrões definidos como móvel não progressivo, linear lento, linear rápido e imóvel (MORTIMER, 2000).

Em seguida, uma série de outras características de movimento espermático é calculada, fornecendo parâmetros de motilidade como porcentagem de móveis, velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR) e linearidade (LIN), e estes valores são usados para diferenciar os padrões de movimento espermático (MORTIMER, 2000).

A velocidade curvilínea (VCL) é a velocidade da trajetória real do espermatozoide. A velocidade linear progressiva (VSL) é a velocidade média em função da linha reta estabelecida entre o primeiro e o último ponto da trajetória do espermatozoide e a velocidade média da trajetória (VAP) é a velocidade média da trajetória do espermatozoide (VERSTEGEN et al., 2002).

A amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) é a amplitude do deslocamento médio da cabeça do espermatozoide em sua trajetória real. A mensuração desse parâmetro está relacionada com a capacidade de penetração na zona pelúcida do óvulo, assim, a ALH é um dos parâmetros que tem efeito sobre a fertilização (VERSTEGEN et al., 2002).

A frequência de batimento flagelar cruzado (BCF) é o número de vezes que a cabeça do espermatozoide cruza a direção do movimento, a retilinearidade (STR) é a relação percentual entre VSL e VAP e a linearidade (LIN) é a relação percentual entre VSL e VCL (VERSTEGEN et al., 2002).

Os valores de velocidade são determinados como percurso relevante percorrido em um período de tempo e são representados em $\mu\text{m/s}$, enquanto os valores de LIN e STR são determinados como raio dos valores de velocidade (AMANN & KATZ, 2004).

No entanto, pouco é conhecido se alguns destes parâmetros estão envolvidos com o processo de fecundação (DIDION, 2008). Sabe-se que BCF, juntamente com ALH e VCL são parâmetros indicativos do vigor espermático (GIL et al., 2009) e são mais proeminentes em espermatozoides já capacitados e hiperativos. Entretanto, as correlações entre ALH e VCL e os espermatozoides capacitados não foram significativas em um estudo conduzido por OH et al.,(2010).

1.1.4. Avaliação da Fertilidade *in vivo* e *in vitro*

O armazenamento do sêmen *in vitro* afeta o potencial reprodutivo do mesmo (WABERSKI et al., 2011a) em consequência do acúmulo de toxinas e metabólitos, podendo reduzir a taxa de parto em 5% a 10% e o tamanho da leitegada em um leitão quando utilizado para IA após os três dias (REED, 1991). Além disso, a variação na viabilidade espermática *in vitro* entre reprodutores pode refletir em diferenças no período de viabilidade *in vivo* (WABERSKI et al., 2011a).

De acordo com BORTOLOZZO et al. (2005) o sêmen colhido e a dose produzida podem ser de excelente qualidade, mas erros de processamento,

armazenamento ou transporte reduzem ou comprometem o potencial fecundante dos espermatozoides.

Um dos principais objetivos da espermatologia tem sido desenvolver métodos para detectar correlação entre as características espermáticas com fertilidade e tentar simplificar o processo de avaliação e seleção dos reprodutores (DYCK et al., 2011). Entretanto, grande parte das correlações tem sido de baixa repetibilidade e aplicabilidade, atribuído ao fato de que a maioria dos testes não permite a análise simultânea de todas as características espermáticas essenciais para a fecundação (KUMMER et al., 2013).

Além disto, as relações entre as características seminais e a fertilidade podem variar entre os machos, mostrando que determinado aspecto seminal que é bom preditor da fertilidade para um determinado macho, pode não ser para outros (KUMMER et al., 2013). Por isso, a inclusão de diversas variáveis espermáticas tem sido considerada mais adequada para a discriminação do potencial de fertilidade dos machos (CORCINI et al., 2011).

Em relação à metodologia de avaliação *in vitro*, não há ainda métodos simples e rápidos que sejam adequados para uso rotineiro na CIA para a identificação dos machos ou ejaculados subférteis (FOXCROFT et al., 2010). A dificuldade tem sido atribuída às diferenças no procedimento aplicado, como o pequeno número de fêmeas inseminadas por macho ou de ejaculados avaliados, o método de avaliação da motilidade espermática, protocolos de IA (KUMMER et al., 2013).

A forma mais adequada de determinar o potencial reprodutivo de um cachão é através da avaliação da taxa de parto e o tamanho das leitegadas provenientes das inseminações realizadas com o ejaculado do mesmo, porém, este teste de fertilidade *in vivo* possui alto custo e demanda tempo prolongado, e tem impulsionado o desenvolvimento de pesquisas que buscam métodos de avaliação *in vitro*, capazes de prever a fertilidade dos machos (KUMMER et al., 2013). Os resultados encontrados têm sido controversos e poucos trabalhos relatam altos valores de correlação entre as características de movimento espermático e morfologia espermática com a fertilidade *in vivo* (BROEKHUIJSE et al., 2012a).

No entanto, uma vez comprovada a fertilidade e conhecido o valor genético de um reprodutor a disseminação de genes de grande interesse econômico no plantel, através do uso intensificado e direcionado desses reprodutores, é o ponto-chave para a eficiência do sistema de produção (FOXCROFT et al., 2010).

O impacto econômico da utilização de machos geneticamente superiores deve ser objetivado pela indústria produtora de carne suína, através do maior número de fêmeas inseminadas/reprodutor. Isto pode ser alcançado através da remoção de machos subférteis e da melhor utilização de reprodutores de alto potencial fecundante e geneticamente superiores, através das técnicas convencionais de avaliação da qualidade seminal e de seu uso em doses homospermicas reduzindo o número de espermatozoides por dose inseminante (FOXCROFT et al., 2010). O aumento da eficiência produtiva de carne suína deve envolver o uso intensivo de machos com alto desempenho reprodutivo e o mais alto mérito genético para características de produção (DYCK et al., 2011).

1.2 Justificativa e Relevância

A forma mais adequada de determinar o potencial reprodutivo de um cachaço é através da avaliação da taxa de parto e o tamanho das leitegadas provenientes das inseminações realizadas com o ejaculado do mesmo, porém, este teste de fertilidade *in vivo* possui alto custo e demanda tempo prolongado, e tem impulsionado o desenvolvimento de pesquisas que buscam métodos de avaliação *in vitro*, capazes de prever a fertilidade dos machos (KUMMER et al., 2013). Porém, os resultados encontrados têm sido controversos e poucos trabalhos relatam altos valores de correlação entre as características de movimento espermático e morfologia espermática com a fertilidade *in vivo* (BROENKHUIJSE et al., 2012a).

Por isso, estabelecer critérios de avaliação de sêmen *in vitro* que possam estar relacionados com a fertilidade *in vivo* de cachaços é de extrema importância, pois possibilitará o descarte de ejaculados e até mesmo reprodutores de baixa fertilidade com maior agilidade.

1.3 Referências Bibliográficas

ALM, K., PELTONIEMI, O. A., KOSKINEN, E., ANDERSSON, M. Porcine field fertility with two different inseminations doses and the effect of sperm morphology. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 41, p. 210-213, 2006.

AMANN, R.; KATZ, D. F. Reflections on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**, v.25, p.317-325, 2004.

BERNARDI, M. L.. Tecnologias aplicadas no exame do ejaculado suíno para a produção de doses de sêmen de alta qualidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, p.5-16, 2008.

BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; FERREIRA, F. M.; BENNEMAMM, P. E.; BERNARDI, M. L. Exame do ejaculado. In: Bortolozzo, F. P; Wentz, I.; Bennemamm, P. E.; Bernardi, M. L.; Wollmann, E. B.; Ferreira, F. M.; Borhardt Neto, G. **Suinocultura em ação**. Inseminação artificial na suinocultura tecnificada. Ed. Palloti, Porto Alegre, 2005, cap. 7. p. 69-87.

BORTOLOZZO, F. P.; BERNARDI, M. L.; BENNEMANN, P. E. et al. Inseminação Artificial em Suínos. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Roca, 2008a. Cap. 4, p. 125-144.

BORTOLOZZO, F. P., GOLDBERG, A. M. G., WENTZ, I. Até onde é possível reduzir o número de espermatozoides empregados na inseminação artificial intra-cervical em suínos sem comprometer a fertilidade? **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. s17-s26, 2008b.

BRAUNDMEIER, A. G. & MILLER, D. J. The search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. **Journal Dairy Science**, v. 84, p. 1915-1925, 2001.

BROEKHUIJSE, M. L. W. J., FEITSMA, H., GADELLA, B. M. Additional value of computer assisted semen analysis (CASA) compared to conventional motility assessments in pig artificial insemination. **Theriogenology**, v. 76, p. 1473-1486, 2011.

BROEKHUIJSE, M. L. W. J., SOSTARIC, E., FEITSMA, H., GADELLA, B. M. Application of computer-assisted semen analysis to explain variations in pig fertility. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 779-789, 2012a.

BROEKHUIJSE, M. L. W. J., SOSTARIC, E., FEITSMA, H., GADELLA, B. M. The value of microscopic semen motility assessment at collection for a commercial artificial insemination center, a retrospective study on factors explaining variation in pig fertility. **Theriogenology**, v. 77, p. 1466 – 1479, 2012b.

CORCINI, C. D., FERREIRA, C. E. R., GOULARTE, K. L., MADEIRA, E. M., BIANCHI, I., LUCIA, T. JR., VARELA JUNIOR, A. S. Inovações tecnológicas na avaliação de sêmen suíno. **Anais do XV Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos**. Fortaleza, CE, Brasil, 2011, p. 161-175.

COX, J. F.; ALFARO, V.; MONTENEGRO, V.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Computer-assisted analysis of sperm motion in goats and its relationship with sperm migration in cervical mucus. **Theriogenology**, v.66, p.860-867, 2006.

DIDION, B. A. Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. **Theriogenology**, v. 70, p. 1374-1376, 2008.

DYCK, M. K., FOXCROFT, G. R., NOVAK, S., RUIZ-SÁNCHEZ, A., PATTERSON, J., DIXON, W. T. Biological markers of boar fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 55-58, 2011.

FERREIRA, C. E. R.; SAVIO, D. B.; GUARISE, A. C.; FLACH, M. J.; BIANCHI, I.; CORCINI, C. D.; LUCIA, T. J. Desempenho reprodutivo com inseminações artificiais homospérmicas e heterospérmicas. **Anais do XV Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos**. Fortaleza, CE, Brasil. 2011.

FLOWERS, W. L. Management of boards for efficient semen production. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 52, p. 67-78, 1997.

FLOWERS, W. L. Increasing fertilization rate of boars : Influence of number and quality of spermatozoa inseminated. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. E47-E53, 2002.

FOXCROFT, G. R., DYCK, M. K., RUIZ-SÁNCHEZ, A., NOVAK, S., DIXON, W. T. Identifying usable semen. **Theriogenology**, v. 70, p. 1324-1336, 2008.

FOXCROFT, G. R.; PATTERSON, J.; CAMERON, A.; DYCK, M. K.; Application of advanced AI Technologies to improve the competitiveness of the pork industry. In: **Proceeding of the 21TH IPVS Congress**, Vancouver, Canada. 2010, p.25-29.

GIL, M. C., GARCÍA-HERREROS, M., BARÓN, F. J., APARICIO, I. M., SANTOS, A. J., GARCÍA-MARÍN, L. J. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. **Theriogenology**, v. 71, p. 254-263, 2009.

KUMMER, A., GAGGINI, T., BERNARDI, M., McMANUS, C. GONÇALES, E., WENTZ, I., BORTOLOZZO, F. Multivariate Analyses for Determining the Association of Field Porcine Fertility With Sperm Motion Traits Analysed by Computer-Assisted Semen Analysis and With Sperm Morphology. **Reproduction in Domestic Animals**, [Epub ahead of print], 2013.

LIU, D. Y.; CLARKE, G. N.; BAKER, W. G. Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn motility analyzer and fertilization rates *in vitro*. **Journal Andrology**, v.12, p.231-239, 1991.

MARCHETTI, A. N., BORTOLOZZO, F. P., WENTZ, I., BORCHARDT NETO, G. Efeito da utilização de 2, 3 e 4 bilhões de espermatozoides na dose inseminante sobre a taxa de retorno ao estro, taxa de parto e tamanho das leitegadas de fêmeas suínas. **ARS Veterinária**, v. 17, p. 07-112, 2001.

MAREE, L. & VAN DER HORST, G. Quantification and identification of sperm subpopulations using computer-aided sperm analysis and species-specific cut-off values for swimming speed. **Department of Medical Bioscience**. [Epub ahead of print], 2013.

MEZALIRA, A., DALLANORA, D., BERNARDI, M. L., WENTZ, I., BORTOLOZZO, F. P. Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on

reproductive performance of intrauterine inseminated sows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 40, p. 1-5, 2005.

MORTMIER, S.T. Casa- Practical aspects. **Journal of Andrology**, p.515-524, 2000.

OH SA, PARK YJ, YOU YA, MOHAMED EA, PANG MG. Capacitation status of stored boar spermatozoa is related to litter size of sows. **Animal Reproduction Science** 2010;121:131-8.

POPWELL, J.M.; FLOWERS, L.W. Variability in relationships between semen quality and estimates of *in vivo* and *in vitro* fertility in boar. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p.92-113, 2004.

REED, H. C. B. Commercial requirements for an effective fresh semen diluent. **Reproduction in Domestic Animals**, Suppl, p. 225-270, 1991.

ROBINSON, J. A. B., BUHR, M. M. Impact of genetic selection on management of boar replacement. **Theriogenology**, v. 63, p. 668-678, 2005.

RUIZ-SÁNCHEZ, A. L.; O'DONOGHUE, R.; NOVAK, K. S.; DYCK, M. K.; COSGROVE, J. R.; DIXON, W. T.; FOXCROFT, G. R. The predictive value of routine sêmen evaluation and IVF technology for determining relative boar fertility. **Theriogenology**, v.66, p.736-748, 2006.

SILVEIRA, P. R.; SCHEID, I. R. Qualidade de sêmen no processo de inseminação artificial. **Suinocultura Industrial**, n.6, p. 33-38, 2003.

STAHLBERG, R., HARLIZIUS, B., WEITZE, K. F., WABERSKI, D. Identification of embryo paternity using polymorphic DNA markers to assess fertilizing capacity of spermatozoa after heterospermic insemination in boars. **Theriogenology**, v. 53, p. 1365-1373, 2000.

VERSTEGEN J, IGUER-OUADA M, ONELIN K. Computer-assisted semen analysers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, p.149-79, 2002

WABERSKI, D., HENNING, H., PETRUNKINA, A. M. Assessment of storage effects in liquid preserved boar semen. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 45-48, 2011a.

WABERSKI, D., SCHAPMANN, E., HENNING, H., RIESENBECK, A., BRANDT, H. Sperm chromatin structural integrity in normospermic boars is not related to semen storage and fertility after routine AI. **Theriogenology**, v. 75, p. 337-345, 2011b.

2. OBJETIVOS GERAIS

Estimar a correlação entre características de movimento espermático avaliadas através de Sistema de análise computadorizada de sêmen (CASA), determinadas em testes realizados *in vitro* durante o armazenamento do sêmen, com a fertilidade dos reprodutores, avaliada *in vivo*.

Objetivos específicos:

1. Avaliar a existência de correlação entre as características de movimento espermático, avaliadas por sistema computadorizado (CASA) durante 0, 24, 48 e 72 horas de refrigeração, com a taxa de parição e número total de leitões nascidos de porcas inseminadas com as amostras de sêmen avaliadas. Utilizando os seguintes parâmetros de movimento espermático: motilidade total (MT-%), motilidade progressiva (MP-%), velocidade curvilínea (VCL- $\mu\text{m/s}$), velocidade linear progressiva (VSL- $\mu\text{m/s}$), velocidade média da trajetória (VAP- $\mu\text{m/s}$), amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH- μm), frequência de batimento flagelar cruzado (BCF-Hz), retilinearidade (STR-%) e linearidade (LIN-%).
2. Estabelecer critérios de avaliação de sêmen *in vitro* que possam estar relacionados com a fertilidade *in vivo* de cachaaos, possibilitando o descarte de ejaculados e até mesmo reprodutores de baixa fertilidade.

3. ARTIGO CIENTÍFICO

CORRELAÇÃO ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DO MOVIMENTO ESPERMÁTICO DE SÊMEN DE CACHAÇOS E DESEMPENHO REPRODUTIVO DE FÊMEAS SUÍNAS

GOTTARDI, Emanuelle Maria¹, LEÃO, Karen Martins¹

¹ Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Rio Verde, Goiás, Brasil.

*Endereço para correspondência: emanuelle.gottardi@gmail.com.

RESUMO: Objetivou-se estimar a correlação entre as características de movimento espermático que foram avaliadas por sistema computadorizado (CASA) durante 72 horas de refrigeração, com a taxa de parição e número total de leitões nascidos de porcas inseminadas com as amostras de sêmen avaliadas. Foram utilizados sete machos, sendo 19,6 ejaculados por macho e para o teste de fertilidade foram utilizadas 464 fêmeas de segundo ao sexto parto. Foram avaliados os seguintes parâmetros de movimento espermático logo após a diluição e após 24, 48 e 72 horas de refrigeração: motilidade total (MT-%), motilidade progressiva (MP-%), velocidade curvilínea (VCL- $\mu\text{m/s}$), velocidade linear progressiva (VSL- $\mu\text{m/s}$), velocidade média da trajetória (VAP- $\mu\text{m/s}$), amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH- μm), frequência de batimento flagelar cruzado (BCF-Hz), retilinearidade (STR-%) e linearidade (LIN-%). Para análise dos dados foram utilizados o coeficiente de correlação de Pearson e as médias das características entre os cachaços e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os parâmetros de motilidade total e progressiva no momento zero (T0) foram altamente significativos e tiveram correlação moderada a alta tanto com a taxa de parição como com o número de leitões nascidos totais. No entanto, nos momentos T24, T48 e T72 horas, não foi observado correlação de nenhum dos parâmetros avaliados com a taxa de parição e número total de leitões nascidos. O cachaço que apresentou menor valor de motilidade total e progressiva no T0 obteve menor taxa de parição e número total de leitões nascidos. Conclui-se que a análise computadorizada de sêmen logo após a diluição é eficiente para prever a fertilidade de cachaços.

Palavras-chave: fertilidade, leitões nascidos totais, movimento espermático, taxa de parição.

INTRODUÇÃO

Na suinocultura moderna e tecnificada cada vez mais se utiliza a inseminação artificial (IA) como componente do manejo reprodutivo e a grande difusão da IA ocorreu em função do surgimento de linhagens genéticas de machos terminais que

agregaram às carcaças de seus descendentes as qualidades exigidas pela tipificação instituída na indústria de carnes. A necessidade de atender as exigências do mercado consumidor no que diz respeito a qualidade da carne e teor de gordura na carcaça foi a principal responsável pelo progresso genético nessa área, na espécie suína (BORTOLOZZO et al., 2005).

As características do ejaculado ou sêmen *in natura* constituem o primeiro passo no controle da qualidade do processo de IA (SILVEIRA & SCHIED, 2003). A motilidade espermática é comumente apontada como uma das mais importantes características associadas com a habilidade fertilizante dos espermatozoides (COX et al., 2006). Porém, quando mensurada microscopicamente não é bem correlacionada com a capacidade fertilizante dos espermatozoides, pois além da subjetividade durante a avaliação, existe ainda a limitação do método para avaliar detalhadamente as características do movimento espermático (LIU et al., 1991).

A fertilidade do reprodutor pode ser afetada por diversas causas, como fatores inerentes a produção espermática, ao processamento do ejaculado no laboratório, fatores genéticos e fatores relacionados a qualidade da matriz e do processo de inseminação (KUMMER et al., 2013).

A utilização de reprodutores subférteis e ejaculados de baixa qualidade diminui a eficiência reprodutiva e conseqüentemente, a margem de lucro do produtor (BORTOLOZZO et al., 2008). No entanto, a necessidade de melhorar continuamente a eficiência da produção de carne suína, sugere que a prática comercial de IA deverá envolver maior uso de reprodutores com elevado mérito genético, a fim de permitir a disseminação de características importantes de produção (FOXCRIFT et al., 2008).

Estima-se que 15% a 20% dos reprodutores apresentam subfertilidade, mesmo apresentando padrões estabelecidos de qualidade do ejaculado, com motilidade total maior que 70% e menos de 30% de defeitos morfológicos dos espermatozoides (ALM et al., 2006).

A avaliação rotineira dos ejaculados utilizados para a preparação das doses inseminantes (DI), como motilidade e morfologia espermática, têm possibilitado o descarte de ejaculados de baixa qualidade e reduzida capacidade fecundante. No entanto, estas avaliações não têm sido capazes de identificar os reprodutores cuja fertilidade está subotimizada (POPWELL & FLOWERS, 2004). A dificuldade em identificar este grupo de reprodutores é por causa da grande similaridade dos resultados de testes *in vitro* entre os reprodutores férteis e aqueles considerados subférteis, não

havendo ainda métodos simples e rápidos que sejam adequados para o uso rotineiro (BORTOLOZZO et al., 2008).

A redução do número de espermatozoides por dose ou por fêmea inseminada associada ao uso de IA homospérmica pode evidenciar tanto machos com baixa fertilidade, como aqueles com fertilidade superior, que passariam despercebidos empregando IA heterospérmica e doses com o número tradicional de espermatozoides (DYCK et al., 2011).

Ao se avaliar a taxa de parto e o tamanho da leitegada proveniente de IA homospérmica é possível analisar retrospectivamente o desempenho reprodutivo do cachão (FOXCROFT et al., 2010). Porém, o alto custo para testar a fertilidade *in vivo* e a demora em obter a informação a respeito da fertilidade dos machos têm impulsionado estudos que buscam métodos de avaliação *in vitro* (KUMMER et al., 2013).

Os sistemas de avaliação computadorizada do sêmen (CASA) têm mostrado ser ferramenta útil na avaliação cinética dos espermatozoides, mostrando grande potencial para prever a fertilidade do macho, por meio da correlação da velocidade de movimentação das células com a capacidade de fertilizar oócitos (COX et al., 2006).

De acordo com FOXCROFT et al. (2010) dificilmente um único teste será capaz de prever o potencial reprodutivo de um cachão. Um dos principais objetivos da andrologia tem sido desenvolver métodos para detectar correlação entre as características espermáticas com a fertilidade e tentar simplificar o processo de avaliação e seleção dos reprodutores (RUIZ-SÁNCHEZ et al., 2006).

Objetivou-se identificar a correlação entre características de movimento espermático avaliado por análise computadorizada de sêmen - Sistema CASA, determinado em testes realizados *in vitro* durante o armazenamento do sêmen, com a fertilidade dos reprodutores, avaliada *in vivo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local, Animais, Habitação e Alimentação

O experimento foi conduzido na Central de Inseminação Artificial (CIA) da empresa BRF S.A, na cidade de Rio Verde e em uma granja do sistema produtor de leitões (SPL) integrada da BRF S.A, com aproximadamente 2.500 fêmeas ± 100 , localizadas também na cidade de Rio Verde/GO, latitude $18^{\circ}17'04.11''S$ e longitude

51°05'45.47"O, localizada na região sudoeste do Estado de Goiás. O período experimental se deu nos meses de julho a novembro de 2013.

Foram utilizados sete cachacos da genética PIC[®] (PIC, Hendersonville, TN, USA), com 11 meses \pm 1 mês, com percentual de alterações de morfologia do sêmen normal (\leq 20 alterações) e foram identificados com brincos.

Os cachacos foram mantidos na CIA da BRF S.A, alojados em gaiolas individuais e em barracão com temperatura controlada, de 23°C \pm 5°C, recebendo água *ad libitum* e dieta milho-soja formulada para atender as necessidades nutricionais específicas para reprodução.

Para o teste de fertilidade *in vivo*, foram utilizadas 464 fêmeas também da genética PIC[®] (PIC, Hendersonville, TN, USA), de segundo ao sexto parto, que foram mantidas alojadas em gaiolas individuais durante a gestação e parto, na granja do Sistema Produtor de Leitões. O controle da temperatura foi feito com sistema ducto-fan e manejo de cortinas. As fêmeas tiveram acesso a água *ad libitum* e foram alimentadas com dieta milho-soja formuladas para atender as necessidades nutricionais específicas durante a reprodução, gestação e lactação.

Colheita e Processamento de sêmen

As colheitas de sêmen foram realizadas durante vinte e duas semanas nos meses de julho a novembro de 2013, sendo realizadas uma vez por semana, totalizando em 137 ejaculados no total de sete machos, sendo em média 19,6 colheitas de sêmen por cachaco.

O sêmen foi colhido através da técnica mão enluvada com exposição do pênis do animal que foi direcionado para um copo de plástico descartável pré-aquecido a 36°C, coberto por um filtro duplo para retirada da fração gel do ejaculado.

Logo após a colheita foi avaliado o peso do ejaculado para o cálculo do número de doses inseminantes (DI) a serem produzidas. O percentual de motilidade total (MT) e a concentração espermática foram obtidos pelo sistema CASA (Sperm Visio[®] 3.7, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Germany), sendo que a amostra de sêmen foi preparada em tubo eppendorf usando pipetadora eletrônica na diluição 1:9 (90 μ L do sêmen *in natura* e 810 μ L de diluente pré-aquecido). Após a mistura o sêmen foi agitado por 10 vezes e retirada a alíquota de 3 μ L para análise no Sistema CASA, utilizando câmaras de

contagem (Leja-4). Após, oito campos ao longo da linha de centro da lâmina foram analisados em aumento de 200 vezes.

O sêmen foi diluído em diluente Beltsville Thawing Solution (BTS[®], Minitüb GmbH, Tiefenbach, Germany), para o preparo das doses inseminantes com 1,5 bilhões de espermatozoides totais em 50 mL, que foram colocadas em bisnagas plásticas e enviadas para a granja SPL para a avaliação *in vivo* da fertilidade do sêmen. Essas doses foram armazenadas na granja em temperatura de 15°C a 17°C por até 72 horas.

Três amostras de sêmen armazenadas em tubo de microcentrífuga foram mantidas na central para análise das amostras após 24, 48 e 72 horas de refrigeração.

Análise do sêmen

As características de movimento espermático foram avaliadas logo após a diluição (T0), após 24 (T24), 48 (T48) e 72 (T72) horas de refrigeração a 15°C a 17°C.

Nos momentos T24, T48 e T72, as amostras armazenadas em tubos de microcentrífuga (2ml) foram aquecidas a 37°C em banho-maria, por 10 minutos antes das avaliações das características de movimento.

A análise das características de movimento espermático foi realizada através de análise computadorizada utilizando o equipamento Sperm Vision[®] (Sperm Vision[®] 3.7, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Germany). Foram analisados os seguintes parâmetros de motilidade espermática: motilidade total (MT-%), motilidade progressiva (MP-%), velocidade curvilínea (VCL- $\mu\text{m/s}$), velocidade linear progressiva (VSL- $\mu\text{m/s}$), velocidade média da trajetória (VAP- $\mu\text{m/s}$), amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH- μm), frequência de batimento flagelar cruzado (BCF-Hz), retilinearidade (STR-%) e linearidade (LIN-%).

Teste de fertilidade

O teste de fertilidade foi realizado em uma granja do SPL integrada da BRF SA. Foram utilizadas 464 fêmeas de segundo ao sexto parto, com intervalo de desmame estro de três a quatro dias.

Após o desmame, o estro foi avaliado diariamente, uma vez por dia através do reflexo de tolerância ao homem na presença do macho.

As fêmeas foram inseminadas intrauterinamente com sêmen de um único cachaco, utilizando doses produzidas do mesmo ejaculado, contendo 1,5 bilhões de espermatozoides em 50 mL. A primeira inseminação foi realizada 12 horas após a detecção do estro e as demais inseminações com intervalos de 24 horas. Foram consideradas apenas as fêmeas inseminadas duas ou três vezes durante o estro. Para as inseminações foram utilizadas doses de sêmen refrigeradas por 12, 24, 48 ou 72 horas, dependendo do número de doses utilizadas para cada fêmea, em consequência da duração do estro. O número médio de fêmeas inseminadas por cachaco foi de 66 ± 12 .

Foram avaliadas a taxa de parição e o total de leitões nascidos, e para captura dos dados foi utilizado o programa de dados Pig Champ Care[®] (PIC, Hendersonville, TN, USA).

Este trabalho foi aprovado na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Goiás sob o protocolo número 028/14.

Análise dos dados

Para o estudo da intensidade com que se manifesta a associação entre as características de movimento espermático analisadas, com a taxa de parição e o número de leitões nascidos totais, logo após a diluição e após 24, 48 e 72 horas de refrigeração foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

A comparação das médias das características de movimento espermático entre os cachacos, logo após a diluição e após 24, 48 e 72 horas de refrigeração foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para todas as análises, utilizou-se o programa R versão 3.0.1, 2013, sistema para análises estatísticas (R software, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, pode ser observado que no momento zero, os parâmetros de motilidade total e progressiva se apresentaram com moderada a alta correlação e altamente significativas tanto com a taxa de parição como com o número de leitões nascidos totais e nos momentos T24, T48 e T72 respectivamente, não foi observado correlação de nenhum dos parâmetros avaliados com a taxa de parição e número total de leitões nascidos.

Tabela 1 - Correlação entre os parâmetros de motilidade total (MT) e motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) e batimento flagelar cruzado (BCF) com a taxa de partição (TP) e o número de leitões nascidos totais (NT) avaliados logo após a diluição, 24 horas, 48 horas e 72 horas de refrigeração da dose inseminante a 15°C.

	Após a diluição		24 horas de refrigeração		48 horas de refrigeração		72 horas de refrigeração	
	TP	NT	TP	NT	TP	NT	TP	NT
MT	0,6906**	0,7143**	0,2834	0,3533	0,2555**	0,3489	0,1874*	0,2936**
MP	0,6515**	0,6620**	0,2432	0,31111	0,2602*	0,3159	0,2130*	0,2832**
VAP	0,2783**	0,3169	0,0521	0,0185	-0,0485	-0,1000	0,0106	0,0342
VCL	0,1654*	0,0227	-0,0644	-0,1000	-0,1180	-,1366	-0,0283	0,0086
VSL	0,3073**	0,2775	0,1470	0,1244	0,0469	-0,0199	0,0739	0,1034
STR	0,1197	0,0074	0,3723	0,3789	0,2795**	0,2350	0,1880*	0,2123*
LIN	0,1939*	0,0825	0,3312	0,3294	0,2311*	0,1554	0,1688*	0,1396
ALH	0,2212*	0,3221	-0,1968	-0,2551	0,2838**	0,0287**	-0,1765*	-0,0172*
BCF	0,0667	0,0229	0,1619	0,1291	0,0429	0,0478	0,0832	0,1274

*P<0,05; **P<0,01.

Resultado semelhante foi observado por LIMA (2014) que observou correlação entre a motilidade e o número total de fetos nascidos e o número de leitões nascidos vivos.

De acordo com o estudo realizado por BROEKHUIJSE et al. (2012) foi possível identificar parâmetros espermáticos avaliados pelo sistema CASA, relacionados com a fertilidade do reprodutor. Neste estudo foram observadas correlação positiva e significativa do percentual de motilidade progressiva e correlação negativa da velocidade curvilínea (VCL) e frequência do batimento flagelar cruzado (BCF) com a taxa de parto. Por outro lado, o número de leitões nascidos totais foi afetado positivamente pelo percentual da motilidade total e VAP e negativamente pelo VSL e o ALH.

Os resultados do presente estudo mostraram correlação não somente da MT, mas também da MP com o tamanho da leitegada. No entanto, VYT et al. (2008) encontraram efeito positivo somente no percentual de motilidade espermática total pelo sistema CASA, no tamanho da leitegada e no número de leitões nascidos vivos, entretanto nenhum outro parâmetro avaliado foi relacionado.

Segundo ALKIMIN (2010) doses de sêmen contendo altas taxas de espermatozoides móveis e maior vigor de deslocamento resultou em maior número de leitões nascidos totais.

GADEA et al. (2004) também encontraram correlação positiva entre a motilidade e o número total de fetos nascido. Da mesma forma, PÉREZ-LIANO et al. (2001) também encontraram correlação positiva entre motilidade e número total de fetos nascidos e também foram observados correlação positiva entre o número total de fetos nascidos e o percentual de espermatozoides com membrana íntegra.

No presente trabalho não foi observado relação de nenhum dos parâmetros avaliados com a taxa de parição nos momentos 24 horas, 48 horas e 72 horas de refrigeração da dose. No entanto, RUIZ-SÁNCHEZ et al. (2006) ao comparar a motilidade espermática aos três, sete e dez dias de armazenamento do sêmen e a fertilidade dos machos, observaram correlação significativa entre a motilidade dos dias sete a dez armazenamento, com a taxa de parto e o tamanho da leitegada, e observaram que varrões com alta motilidade neste período tiveram maiores taxas de prenhez e de parição quando comparados com de menor motilidade, portanto, observou-se que a motilidade dos varrões foi afetada significativamente pelo tempo de armazenamento.

Foi observado neste estudo, queda na qualidade do sêmen com o aumento no tempo de refrigeração. Porém, como não foram observados correlação dos parâmetros avaliados nos momentos T24, T48 e T72 horas de refrigeração com a taxa de partição e o número de leitões nascidos totais. Acredita-se que não há necessidade de vários momentos de avaliação de sêmen para prever a fertilidade do macho, como foi verificado no T0, que houve correlação positiva das características seminais (MT e MP) sobre a taxa de parto e número de leitões, quando comparados com os demais momentos.

HOFMO (1991) avaliou a fertilidade do sêmen suíno diluído com BTS e armazenado pelo período de 72 horas, e observou decréscimo de 5% na taxa de parto e 0,35 de leitões nascidos, quando o sêmen foi armazenado por 48 horas e HOLT et al. (1997) relataram que mudanças na velocidade espermática durante o período de incubação *in vitro* explicaram 20% da variação no tamanho da leitegada.

Neste trabalho não foi avaliado o efeito da morfologia espermática sobre os resultados, pois os cachaços utilizados foram pré-selecionados e apresentavam no máximo 4% de espermatozoides morfologicamente anormais. No entanto, a avaliação das características seminais é uma das principais formas de analisar a qualidade seminal, sendo a morfologia espermática um dos parâmetros para prever a fertilidade de um reprodutor.

TSAKMAKIDIS et al. (2010) observaram que machos que apresentam alto percentual de espermatozoides morfologicamente normais não obtiveram correlação significativa com o número total de leitões nascidos. Entretanto, o número de leitões vivos por parto não foi correlacionado com estas qualidades do ejaculado. XU et al. (1998) ao determinar a fertilidade de varrões por meio de avaliações seminais, observaram que a porcentagem de espermatozoides morfologicamente normais foi positivamente correlacionada com a taxa de parto.

FERNANDES & PIMENTEL (2002) ao avaliarem o efeito da qualidade seminal sobre a fertilidade de garanhões, também observaram que garanhões com total de espermatozoides viáveis acima de 60% e com ejaculados superiores a $1,8 \times 10^9$ espermatozoides, apresentaram melhor taxa de prenhez em relação aos garanhões com percentual inferior. E segundo os autores o percentual de espermatozoides normais teve correlação positiva com a taxa de prenhez. No entanto, SIQUEIRA et al. (2007) avaliaram a relação entre teste complementares e convencionais de sêmen bovino congelado/descongelado com índices de prenhez. Porém, não houve correlação dos

testes complementares e da motilidade pós-descongelamento com a taxa de gestação. Sendo que nenhum parâmetro considerado isoladamente serviu para avaliar a capacidade fertilizante do sêmen descongelado.

Conforme descrito na tabela 2, foi observado que o cachão (1409) apresentou menor MT e MP ($P < 0,05$) no momento zero (T0) e teve menor taxa de parição e número total de leitões nascidos. O que está de acordo com os resultados obtidos no teste de correlação, em que foi detectada a correlação entre MT e MP com estas características no momento zero.

Nos demais momentos (T24, T48 e T72), houve diferença dos parâmetros avaliados entre todos os machos, porém, não houve associação desses resultados com a taxa de parição e os leitões nascidos totais, alguns cachões tiveram baixa MT e MP nestes momentos sem interferência na taxa de parição e leitões nascidos totais, conforme descrito nas Tabelas 3, 4 e 5 respectivamente.

De acordo com ALKIMIN (2010), espera-se que menores resultados encontrados para motilidade interfiram nos valores de número total de fetos nascidos.

GADEA et al. (1998) avaliaram ejaculados de 4 machos conforme a taxa de parição, sendo estes machos divididos em 3 grupos, baixa (20%), intermediária (40%) e alta fertilidade (80%). A porcentagem de espermatozoides com membrana ativa foi menor no grupo de baixa fertilidade quando comparados com os demais grupos. E observaram que o animal com menor porcentagem de motilidade obteve menor número de leitões nascidos. Estes resultados corroboram com os do presente estudo em que o animal 1409 apresentou menor motilidade (86,89%) no momento T0 e teve menor número de nascidos totais e taxa de parição.

No presente estudo, foi avaliado a IA com doses homospérmicas com o intuito avaliar o verdadeiro potencial reprodutivo de cada reprodutor, com objetivo de identificar reprodutores subférteis. Segundo BRAUNDMEIER & MILLER (2001) a utilização de maior número de células espermáticas associados ao uso de *pool* de sêmen de machos que apresentam diferentes graus de fertilidade permite mascarar os reprodutores de boa fertilidade resultando em baixas taxas de nascidos totais.

FOXCROFT et al. (2010) observaram que os resultados de produtividade foram positivos ao inseminar as fêmeas tanto com doses heterospérmicas quanto com homospérmicas, porém, foi observada a diferença de 2,5 embriões totais no dia 30 de gestação, pela diferença de 10% na taxa de fecundação.

Tabela 2 – Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaço, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH), batimento flagelar cruzado (BCB), média de leitões nascidos totais (NT) e taxa de parição de cachaços logo após a diluição.

MACHO	1364	1377	1409	21483	21484	24514	24557
MT (%)	96,39±1,05a	96,31±1,19a	86,89±3,66b	95,13±1,61a	96,70±1,67a	95,15±2,18a	96,27±2,07a
MP (%)	91,75±2,32a	91,25±2,11a	77,57±5,34b	89,18±3,35a	91,54±2,80a	89,56±4,13a	90,76±3,08a
VAP (µm/s)	92,36±9,91a	93,47±10,86a	78,82±9,78c	95,00±7,95a	89,11±10,34ab	81,21±11,48bc	92,30±10,14a
VCL (µm/s)	157,70±22,38a	155,37±19,81ab	137,80±16,38bc	153,71±14,34ab	153,68±20,45ab	129,70±18,28c	159,44±20,37a
VSL (µm/s)	63,33±8,00a	61,05±7,50a	52,70±7,76b	64,72±6,23a	52,92±5,60b	59,05±8,64ab	60,79±8,20a
STR (%)	0,680±0,02b	0,647±0,02c	0,661±0,03bc	0,676±0,04bc	0,589±0,02d	0,722±0,02a	0,653±0,04bc
LIN (%)	0,400±0,03bc	0,388±0,02bc	0,378±0,04c	0,418±0,03b	0,341±0,02d	0,450±0,02a	0,377±0,03c
ALH (µm)	4,40±0,41b	4,42±0,28b	3,74±0,29c	4,55±0,61ab	4,97±0,51a	3,54±0,39c	4,73a±0,51b
BCF (Hz)	34,71±2,25ab	34,51±1,70ab	34,60±2,73ab	34,60±2,19ab	32,56±2,28b	35,59±2,54a	33,68±2,24ab
TP (%)	93,51±14,02a	89,55±14,49a	20,37±38,87b	92,59±13,48a	91,55±17,52a	94,44±9,60a	96,51±3,80a
NT	12,54±2,22a	12,68±2,10a	9,45±5,02b	13,26±2,14a	12,23±1,90a	12,38±2,59a	13,15±2,36a

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si a um nível de significância de 5% de probabilidade (P<0,05).

Tabela 3 – Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaço, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH), batimento flagelar cruzado (BCB), média de leitões nascidos totais (NT) e taxa de parição de cachaços após 24 horas de refrigeração a 15°C.

MACHO	1364	1377	1409	21483	21484	24514	24557
T(%)	88,63±3,80a	78,34±9,94b	64,37±7,52d	82,33±6,73ab	88,08±4,63a	68,03±13,72cd	73,68±11,46bc
MP (%)	79,56±6,57a	63,04±15,56bc	47,09±10,46d	68,5±9,93ab	77,67±8,05a	51,11±18,46cd	57,78±17,14bcd
VAP (µm/s)	59,28±13,10a	49,57±12,01ab	47,89±6,07b	49,83±10,45ab	53,98±12,52ab	43,91±11,38b	44,73±11,73b
VCL (µm/s)	91,95±17,86a	81,01±22,13ab	85,22±12,64ab	79,39±16,75ab	91,09±19,40a	72,58±22,08b	72,14±19,38b
VSL (µm/s)	45,52±10,99a	35,16±7,23b	33,07±5,68b	37,73±8,18ab	38,53±8,67ab	32,40±7,63b	33,85±8,77b
STR (%)	0,759±0,04a	0,713±0,07abc	0,684±0,05c	0,750±0,03ab	0,710±0,04bc	0,737±0,04ab	0,753±0,03ab
LIN (%)	0,490±0,07a	0,442±0,09abc	0,387±0,06c	0,472±0,04ab	0,419±0,05bc	0,453±0,06ab	0,465±0,03ab
ALH (µm)	2,85±0,49ab	2,74±0,77ab	2,97±0,39a	2,48±0,39ab	2,75±0,47ab	2,39±0,53b	2,34±0,54b
BCF (Hz)	30,62±3,38a	25,77±4,37bc	24,62±3,97bc	27,19±5,26abc	28,98±3,69ab	23,13±5,86c	24,47±5,14c
TP (%)	93,51±14,02a	89,55±14,49a	20,37±38,87b	92,59±13,48a	91,55±17,52a	94,44±9,60a	96,51±3,80a
NT (média)	12,54±2,22a	12,68±2,19a	9,45±5,02b	13,26±2,14a	12,23±1,90a	12,38±2,59a	13,15±2,36a

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si a um nível de significância de 5% de probabilidade (P<0,05).

Observando assim que o melhor desempenho reprodutivo de um macho foi mascarado ao misturar a dose de sêmen de um reprodutor ao outro, resultando em diferença de 10% na taxa de fecundação.

FERREIRA et al. (2011) indicam que o uso de inseminações com doses heterospérmicas resultam em variação na fertilidade dos machos, sendo que esta prática elimina alguns fatores conflitantes como a fertilidade da fêmea, estação do ano, nutrição e manejo. E de acordo com GADEA (2005) esse tipo de procedimento reduziria o número de fêmeas inseminadas e os índices de fertilidade dos cachos, como o tamanho da leitegada também seria limitado.

Em estudo realizado por ALM et al. (2006) foi avaliada a fertilidade de 50 machos utilizados em 10773 inseminações homospérmicas em doses contendo 2×10^9 espermatozoides e 96 machos usados para compor a DI (dose inseminante) com 3×10^9 espermatozoides em 34789 inseminações homospérmicas. De acordo com os resultados, os autores recomendam a utilização de 3×10^9 espermatozoides/DI de sêmen homospérmico. Observando que deficiências morfológicas podem ser compensadas pelo maior número de espermatozoides utilizados, e que doses com menos de 3×10^9 espermatozoides levam ao decréscimo das taxas de fertilidade e tamanho das leitegadas. A comprovação da fertilidade individual dos machos doadores é um fator determinante ao reduzir o número de espermatozoides e ao utilizar doses homospérmicas em inseminações (ALM et al., 2006).

Segundo FOXCROFT et al. (2010) o real desempenho reprodutivo de um cacho pode ser facilmente identificado quando fêmeas são inseminadas com doses homospérmicas e com menor número total de células espermáticas inseminadas por estro. Conforme observado neste estudo, em que as avaliações foram realizadas por meio de inseminação homospérmica e possibilitou a real predição da fertilidade de cada reprodutor, observando que houve correlação positiva em alguns parâmetros (MT e MP) em relação à taxa de parição.

No presente estudo foi observado, um macho (1409) subfértil, que apresentou menor motilidade (86,89%) no momento T0 e teve menor número de nascidos totais e taxa de parição e este resultado está de acordo com estudos de ALM et al, (2006), e observou que 15% a 20% dos reprodutores apresentam subfertilidade, mesmo apresentando padrões estabelecidos de qualidade do ejaculado, com motilidade total maior que 70% e menos de 30% de defeitos morfológicos dos espermatozoides.

Tabela 4 – Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaço, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH), batimento flagelar cruzado (BCB), média de leitões nascidos totais (NT) e taxa de parição de cachaços após 48 horas de refrigeração a 15°C.

MACHO	1364	1377	1409	21483	21484	24514	24557
MT (%)	86,06±5,60ab	78,71±11,18abc	62,74±8,04d	79,18±9,65ab	87,93±4,33a	68,54±13,90cd	75,99±12,16bc
MP (%)	74,58±8,93a	65,88±15,36ab	44,56±10,53c	64,13±13,58ab	74,98±6,35a	55,26±16,28bc	58,13±16,65bc
VAP $\mu\text{m/s}$	50,50±16,19a	50,17±13,61a	45,66±6,92a	48,31±14,25a	46,42±10,41a	45,61±12,48a	41,21±12,56a
VCL $\mu\text{m/s}$	83,63±25,88a	80,26±23,09a	80,05±16,83a	78,24±25,29a	79,06±13,43a	70,00±24,57a	69,85±24,86a
VSL $\mu\text{m/s}$	37,07±12,54a	36,35±9,06a	30,52±4,72a	35,21±8,92a	33,47±8,29a	34,47±9,66a	29,82±8,04a
STR (%)	0,7286±0,05ab	0,726±0,06ab	0,665±0,05b	0,732±0,06a	0,715±0,05ab	0,756±0,09a	0,725±0,05ab
LIN (%)	0,4393±0,07ab	0,4595±0,07ab	0,385±0,06b	0,460±0,08ab	0,415±0,06b	0,516±0,13a	0,434±0,06ab
ALH (μm)	2,65±0,65a	2,60±0,71a	3,00±0,43a	2,49±0,76a	2,54±0,61a	2,35±0,78a	2,31±0,74a
BCF (Hz)	28,31±4,98a	25,11±5,05abc	22,26±3,96bc	25,15±5,28abc	25,62±3,16ab	20,67±4,99c	22,94±4,90bc
TP (%)	93,51±14,02a	89,55±14,49a	20,37±38,87b	92,59±13,48a	91,55±17,52a	94,44±9,60a	96,51±3,80a
NT(média)	12,54±2,22a	12,68±2,19a	9,45±5,02b	13,26±2,14a	12,23±1,90a	12,38±2,59a	13,15±2,36a

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si a um nível de significância de 5% de probabilidade (P<0,05).

Tabela 5 – Valores médios dos parâmetros de movimento espermático de sêmen de cachaço, sendo motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH), batimento flagelar cruzado (BCB), média de leitões nascidos totais (NT) e taxa de parição de cachaços após 72 horas de refrigeração a 15°C.

MACHO	1364	1377	1409	21483	21484	24514	24557
MT (%)	84,68±7,51a	76,71±12,07abc	63,94±9,74d	81,00±7,67abc	83,87±13,66ab	69,47±15,71cd	72,05±16,06bcd
MP (%)	74,65±8,21a	60,57±16,42abc	45,79±11,55d	62,34±14,63abc	71,93±13,86ab	53,86±20,86cd	58,22±16,87bcd
VAP (µm/s)	51,51±13,96a	50,45±20,27a	45,48±10,33a	50,31±17,44a	48,22±14,75a	46,35±15,07a	48,62±15,14a
VCL (µm/s)	82,84±21,76a	84,62±37,63a	76,45±2,54a	82,40±24,64a	80,82±21,80a	73,43±28,40a	75,50±26,77a
VSL (µm/s)	38,41±10,18a	33,70±10,41a	31,12±4,79a	36,20±13,01a	34,69±10,22a	34,14±10,57a	36,60±11,97a
STR (%)	0,740±0,04ab	0,681±0,07b	0,688±0,06ab	0,714±0,03ab	0,716±0,04ab	0,739±0,06ab	0,749±0,08a
LIN (%)	0,460±0,06ab	0,413±0,07b	0,418±0,07ab	0,430±0,04ab	0,423±0,05ab	0,482±0,10ab	0,492±0,10a
ALH (µm)	2,63±0,56a	2,81±0,80a	2,97±0,43a	2,86±0,73a	2,62±0,56a	2,45±0,72a	2,44±0,74a
BCF (Hz)	27,82±3,88a	24,30±5,67ab	21,78±4,50b	25,27±4,91ab	25,94±4,30ab	22,22±6,99b	23,33±6,24ab
TP (%)	93,51±14,02a	89,55±14,49a	20,37±38,87b	92,59±13,48a	91,55±17,52a	94,44±9,60a	96,51±3,80a
NT (média)	12,54±2,22a	12,68±2,19a	9,45±5,02b	13,26±2,14a	12,23±1,90a	12,38±2,59a	13,15±2,36a

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si a um nível de significância de 5% de probabilidade (P<0,05).

Ainda há necessidade de mais estudos correlacionando as características seminais com a fertilidade, sendo que a qualidade do sêmen é imprescindível para a IA e também para predizer o potencial reprodutivo dos machos, visando a disseminação genética de reprodutores de alto valor genético, nas centrais de inseminação, resultando em adequada taxa de parição e número de leitões nascidos totais. Sendo que o uso de avaliações por sistemas computadorizados (CASA) tem como vantagem eliminar os efeitos subjetivos das análises resultando na melhor identificação de reprodutores com fertilidade subótima.

CONCLUSÃO

Conclui-se que as avaliações de motilidade total e motilidade progressiva realizadas no momento zero, por análise computadorizada de sêmen são eficientes para predizer a fertilidade de cachacos, pois estas características apresentam correlação positiva com a taxa de parição e número de leitões nascidos totais. Os demais parâmetros de cinética espermática avaliados não são eficazes para predizer a real fertilidade de machos suínos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALM, K; PELTONIEMI, O. A; KOSKINEN, E; ANDERSSON, M. Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. **Reproduction Domestic Animal**, 2006; 41:210-3.
- ALKIMIN, D. V. **Efeito da fração do ejaculado e do método de conservação sobre as características físicas do sêmen suíno e a fertilidade da fêmea**. Dissertação (Mestrado). UFMG: Escola de Veterinária. 228f., 2010.
- BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; FERREIRA, F. M.; BENNEMAMM, P. E.; BERNARDI, M. L. Exame do ejaculado. In: Bortolozzo, F. P; Wentz, I.; Bennemamm, P. E.; Bernardi, M. L.; Wollmann, E. B.; Ferreira, F. M.; Borchardt Neto, G. **Suinocultura em ação**. Inseminação artificial na suinocultura tecnificada. Ed. Palloti, Porto Alegre, 2005, cap. 7. p. 69-87.
- BORTOLOZZO, F. P.; BERNARDI, M. L.; BENNEMANN, P. E. et al. Inseminação Artificial em Suínos. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 4, p. 125-144.
- BRAUNDMEIER, A. G. & MILLER, D. J. The search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. **Journal Dairy Science**, v. 84, p. 1915-1925, 2001.

BROEKHUIJSE, M. L. W. J; SOSTARIC, E; FEITSMA, H; GADELLA, B. M. The value of microscopic semen motility assessment at collectio for a commercial artificial insemination center, a retrospective study on factors explaining variation in pig fertility. **Theriogenology**, 2012;77:1466-79.

COX, J. F.; ALFARO, V.; MONTENEGRO, V.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Computer-assisted analysis of sperm motion in goats and its relationship with sperm migration in cervical mucus. **Theriogenology**, v.66, p.860-867, 2006.

DYCK, M. K., FOXCROFT, G. R., NOVAK, S., RUIZ-SÁNCHEZ, A., PATTERSON, J., DIXON, W. T. Biological markers of boar fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 55-58, 2011.

DIDION, B. A. Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples. **Theriogenology**, 2008;70:1374-76.

FERNANDES, C. E; PIMENTEL, C. A. Características seminais e fertilidade em garanhões. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.5, p.829-834, 2002.

FERREIRA, C. E. R.; SAVIO, D. B.; GUARISE, A. C.; FLACH, M. J.; BIANCHI, I.; CORCINI, C. D.; LUCIA, T. J. **Desempenho reprodutivo com inseminações artificiais homospérmicas e heterospérmicas**. Anais do XV CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. Fortaleza, CE, Brasil. 2011.

FOXCROFT, G. R., DYCK, M. K., RUIZ-SÁNCHEZ, A., NOVAK, S., DIXON, W. T. Identifying usable semen. **Theriogenology**, v. 70, p. 1324-1336, 2008.

FOXCROFT, G. R., PATTERSON, J., CAMERON, A., DYCK, M. K. **Application of advanced AI technologies to improve the competitiveness of the pork industry**. In : Proceedings of the 21st IPVS CONGRESS, Vancouver, Canada. 2010, p. 25-29.

GADEA, J; MATAS, C; LUCAS, X. Prediction of porcine semen fertility by homologus *in vitro* penetration hIVP/assay. **Animal Reproduction Science**, 1998;56:95-108.

GADEA, J; SELLÉS, E; MARCO, M. A. The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions. **Reproduction Domestic Animal**, 2004;39:303-08.

GADEA, J. Sperm factors related to *in vitro* and *in vivo* porcine fertility. **Theriogenology**, 2005;63:431-44.

HOFMO, P. O. Commercial swine AI with liquid semen in Norway. In: International Conference on Boar Semen Preservation. Beltsville, Maryland USA. **Proceedings... Beltsville**, p.317-324. 1991.

HOLT, C; HOLT, W. V; MOORE, H. D. M; REED, H. C. B; CURNOCK, R. M. Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: results of two fertility trials. **Journal Andrology**, 1997;18:312-23.

KUMMER, A., GAGGINI, T., BERNARDI, M., McMANUS, C. GONÇALES, E., WENTZ, I., BORTOLOZZO, F. Multivariate Analyses for Determining the Association of Field Porcine Fertility With Sperm Motion Traits Analysed by Computer-Assisted Semen Analysis and With Sperm Morphology. **Reproduction in Domestic Animals**, [Epub ahead of print], 2013.

LIMA, D, M, A. **Correlação dos parâmetros espermáticos com a fertilidade de duas linhagens comerciais de suínos**. 2014. 48f. Dissertação – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre/ES, 2014.

LIU, D. Y.; CLARKE, G. N.; BAKER, W. G. Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton-Thorn motility analyzer and fertilization rates *in vitro*. **Journal Andrology**, v.12, p.231-239, 1991.

PÉREZ-LLANO, B; LORENZO, J. L; YENES, P; TREJO, A; GARCIA-CASADO, P. A short hypoosmotic swelling test for prediction of boar sperm fertility. **Theriogenology**, v. 56, p. 387-398, 2001.

POPWELL, J. M. & FLOWERS, L. W. Variability in relationships between semen quality and estimates of *in vivo* and *in vitro* fertility in boars. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 97-113, 2004.

R Software, versão 3.0.1. Sistema para análises estatísticas. 2013.

RUIZ-SÁNCHEZ AL, O'DONOGHUE R, NOVAK S, DYCK MK, COSGROVE JR, DIXON WT, FOXCROFT GR. The predictive value of routine semen evaluation and IVF technology for determining relative boar fertility. **Theriogenology**, 2006;66:736-48.

SILVEIRA, P. R.; SCHEID, I. R. Qualidade de sêmen no processo de inseminação artificial. **Suinocultura Industrial**, n.6, p. 33-38, 2003.

SIQUEIRA, J. B; GUIMARÃES, J. D; COSTA, E. P; HENRY, M; TORRES, C. A. A; SILVA, M. V. G. B; SILVEIRA, T. S. Relação da taxa de gestação com sêmen bovino congelado e testes de avaliação espermática *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.387-395, 2007.

TSAKMAKIDIS, I. A., LYMBEROPOULOS, A. G., KHALIFA, T. A. A. Relationship between sperm quality traits and field-fertility of porcine semen. **Journal of Veterinary Science**, v. 11, p. 151-154, 2010.

VYT, P., MAES, D., QUINTEN, C., RIJSSELAERE, T., DELEY, W., AERTS, M., DE KRUIF, A., VAN SOOM, A. Detailed motility examination of porcine semen and its predictive value towards reproductive performance in sows. **Flemic Veterinary**, v. 77, p. 291-298, 2008.

XU, X., POMMIER, S., ARBOV, T., HUTCHINGS, B., SOTTO, W., FOXCROFT, G. R. *In vitro* maturation and fertilization techniques for assessment of semen quality and boar fertility. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 3079-3089, 1998.