

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

EDUARDA NASCIMENTO PEDRETTI

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO: ÁREA DE
ANDROLOGIA E PROCESSAMENTO DE SÊMEN SUÍNO**

CAXIAS DO SUL – RS
2021

EDUARDA NASCIMENTO PEDRETTI

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO: ÁREA DE
ANDROLOGIA E PROCESSAMENTO DE SÊMEN SUÍNO**

Relatório de Estágio Curricular Obrigatório
apresentado para a obtenção do título de Médico
Veterinário da Universidade de Caxias do Sul na
área de Reprodução Animal.

Orientadora: Médica Veterinária Cátia Pinheiro
Barata

Supervisor: Médico Veterinário Luciano Bianco do
Amaral

CAXIAS DO SUL

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por todos os desafios e pela árdua caminhada até alcançar esta conquista. A todos familiares, em especial a minha mãe e meu pai por me permitirem realizar meus sonhos e por sempre me apoiarem. A meus fiéis companheiros Toby e Mel, por me alegrar nas horas difíceis. Meus irmãos Luana e João Pedro por todo amor e carinho de sempre. A meu namorado Marcos por todo apoio e compreensão durante estes anos e também agradeço imensamente a minhas amigas Camila, Carla e Ketlin pelo companheirismo, pelo apoio em todos os momentos difíceis e também por todas as alegrias compartilhadas. Em especial, agradeço a toda equipe da ACSURS, pela oportunidade concedida, principalmente a meu supervisor Luciano Bianco do Amaral, Médico Veterinário e gerente da central de produção de sêmen que me auxiliou durante este período. Aos funcionários da CPS pelo acolhimento. Ao Fernando Gimenez, diretor executivo da ACSURS pelo apoio recebido. Levarei sempre comigo todos os ensinamentos e os momentos passados durante o período de estágio. E por fim, agradeço a minha supervisora M.V. Cátia Pinheiro Barata pela dedicação e toda ajuda prestada durante a elaboração do meu trabalho.

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo descrever as atividades desenvolvidas durante o período de estágio curricular supervisionado obrigatório, bem como o local e a discussão destas atividades. O estágio foi realizado numa Central de Produção de Sêmen da Associação de Criadores de Suínos do Rio Grande do Sul, no município de Estrela, RS, durante o período de 04 de agosto de 2021 à 22 de outubro de 2021, totalizando em 450 horas, sob a supervisão do Médico Veterinário Luciano Bianco do Amaral e orientação da professora Cátia Pinheiro Barata. Os temas abordados incluem coleta e processamento de sêmen suíno, monitoramento andrológico e manejo dos suínos reprodutores.

Palavras-chave: Suínos, Reprodução Animal, Andrologia, Sêmen, Biotecnologias da Reprodução.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Entrada da propriedade	11
Figura 2 – Galpões e laboratório da CPS	12
Figura 3 – Silos de ração	13
Figura 4 – Manequim utilizado na monta	14
Figura 5 – Montagem do copo coletor	18
Figura 6 – Copo coletor no manequim	19
Figura 7 – Tanques de armazenamento do diluente	23
Gráfico 1 – Produção média de doses por semana	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Atividades desenvolvidas e frequência de realização durante o estágio.....	15
Tabela 2– Resumo de coletas de ejaculados e doses produzidas durante período de estágio	15
Tabela 3– Composição dos diluentes utilizados	22

LISTA DE SIGLAS

ABCS	Associação Brasileira dos Criadores de Suíno
ACSURS	Associação dos Criadores de Suínos do Rio Grande do Sul
CASA	<i>Computer Assisted Sperm Analyser</i>
CPS	Central de Produção de Sêmen
DI	Doses Inseminantes
EVAP	<i>Evaporative Cooling System</i>
IA	Inseminação Artificial
KG	Kilograma
L	Litros
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MI	Mililitros
PC	Pós-cervical
PNSS	Programa Nacional de Saúde Suínea
SEAPA	Secretária de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
T	Tradicional
TD	Taxa de Diluição
UI	Microlitros
VGM	Valor Genético do Macho

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	10
2.1 ESTRUTURA	12
2.1.1 Galpões	12
2.1.2 Silos de Armazenamento da Ração	13
2.1.3 Celas dos animais	14
2.1.4 Salas de Coleta do Sêmen	14
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	15
3.1 COLETA DE SÊMEN	17
3.1.1 Montagem do copo coletor e cérvix	18
3.1.2 Colheita do ejaculado	19
3.2 PROCESSAMENTO DO SÊMEN	20
3.2.1 Preparo da água para os diluentes	20
3.2.2 Preparação do diluente	21
3.2.3 Análise do sêmen	24
3.2.4 Diluição do sêmen	26
3.2.5 Envase	26
3.2.6 Armazenamento das doses	26
3.3 TREINAMENTO DE MACHOS INICIANTES	27
3.4 MANEJO SANITÁRIO DO REBANHO	28
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
4.1 MORFO ANORMALIDADES ENCONTRADAS NO SÊMEN SUÍNO	28
5. CONCLUSÃO	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXO 1 – CELA INDIVIDUAL	32
ANEXO 2 – ENVASADORA SEMIAUTOMÁTICA	32

1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) em suínos é uma biotecnologia muito utilizada na suinocultura, sendo ela uma técnica cujo objetivo é alcançar cada vez mais o melhoramento genético das linhagens criadas no sistema intensivo industrial. Na suinocultura, a inseminação artificial teve seus primeiros relatos no Japão e na Rússia em meados da década de trinta (BORTOLOZZO; WENTZ, 2005).

No Brasil, os primeiros relatos do uso da técnica de IA em rebanhos suínos foram no final da década de quarenta, sendo que somente na década de setenta foram implementados os primeiros programas de IA comerciais. O uso destes programas no país cresceu muito após a criação das 2 primeiras centrais de produção de sêmen (CPS), localizadas em Estrela/RS e Concórdia/SC (BORTOLOZZO; WENTZ, 2005).

Um das principais vantagens da utilização desta técnica é a redução e otimização do número de machos reprodutores presentes nas propriedades. Assim como promover um maior ganho genético, optar pelo uso de IA na produção de suínos também contribui com o aumento na segurança sanitária. Por isso, o uso de programas de IA juntamente com a necessidade de produção de sêmen suíno vem crescendo cada vez mais.

Toda e qualquer granja de suínos que são destinados à reprodução, que distribui ou mantêm esses reprodutores para uso de multiplicação animal, tem que se adequar ao Programa Nacional de Saúde Suídea (PNSS). Dentre as normativas impostas está inclusa a Instrução Normativa 19 de fevereiro de 2002 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que determina que somente granjas certificadas podem distribuir material genético, além de expor normas e exigências que são feitas às granjas que desejam obter certificação (GURNET, 2014).

A CPS (Central de Produção Suína) é considerada um posto de distribuição genética, que produz e distribui o material genético, o qual é obtido através de animais geneticamente superiores. Os animais são adquiridos por grandes empresas que trabalham em busca do melhoramento genético. Após obter esse material fornecido pela CPS, os produtores pagam pelo custo de produção e devem pagar também pelos royalties para as empresas detentoras da genética. Este valor varia de acordo com o

valor genético do macho (VGM), ou seja, quanto mais alto o valor genético, maior será o valor pago.

A busca pelo aprendizado, conhecimento e o meu interesse pela área da reprodução suinícola, foram pontos cruciais na minha decisão em realizar meu estágio curricular em Medicina Veterinária na Central de Produção de Sêmen (CPS) da Associação dos Criadores de Suínos do Rio Grande do SUL (ACSURS). Desenvolvendo atividades dentro da área de andrologia, manejo e reprodução de suínos, o presente relatório, tem como objetivo descrever todas as atividades desenvolvida durante este período.

2. APRESENTAÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O estágio curricular obrigatório em Medicina Veterinária foi realizado na Central de Produção de Sêmen da ACSURS, localizada na cidade de Estrela, estado do Rio Grande do Sul, durante o período de 04 de agosto à 22 de outubro de 2021, totalizando em 450 horas.

Durante este período foram desenvolvidas atividades de processamento do sêmen e manejo dos machos reprodutores. No laboratório o processamento incluía o sistema de diluição, envase e embalagem do produto. Nos galpões onde eram alojados os machos as atividades consistiam no manejo diário dos machos incluindo a coleta de sêmen.

A associação foi criada no ano de 1972, a partir de uma união de alguns criadores de suíno, que desejavam o crescimento e o desenvolvimento da suinocultura no estado do Rio Grande do Sul. A CPS foi inaugurada em 1979 com o apoio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA), Prefeitura de Estrela e ABCS. Com a formação de convênios com produtores, cooperativas, sindicatos e prefeituras das cidades da região, a CPS foi cada vez se desenvolvendo mais e mais, hoje tornou-se uma das mais conceituadas centrais de produção de sêmen suíno do país.

A central, no momento do estágio, contava com uma área de 7 hectares que tinham 4 galpões, sendo que no galpão 1 está anexado o laboratório da central,

escritório e alojamento. A propriedade contava também com um vestiário, cozinha e casa para funcionários, possuía também duas salas de coleta com 3 manequins cada, sendo que uma das salas se encontra nos galpões 1 e 2, já as outras estão anexadas nos galpões 3 e 4. Existem ainda 3 silos para armazenamento da ração, 2 esterqueiras e 1 composteira.

Quanto ao horário de funcionamento da central era de segunda à sexta, sendo que os dias de alta produção eram nas segundas e quintas começando às 06 horas da manhã até as 15h e 40min, nos demais dias a central funciona das 07 horas até as 16h e 50min.

No período de estágio a central contava com 240 animais sendo estes das linhagens, Landrace, Duroc, Large White, Db Avô e Híbridas. Os machos possuíam uma idade de 5 a 17 meses e com peso médio de 120 kg quando chegavam na propriedade e 250 kg na fase adulta.

A central da ACSURS trabalhava com três tipos de comercialização das doses do sêmen, as vendas individuais, onde o produtor podia encomendar as doses e buscar no local, vendas através da rodoviária, onde um responsável da central enviava todos os pedidos para os devidos endereços através de serviços das transportadoras rodoviárias e as vendas através de rotas, que eram feitas pelos motoristas da CPS, onde cada motorista tinha sua rota de entrega, sendo as rotas divididas em nordeste, noroeste, serra e regional.

Figura 1- Entrada da propriedade.



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

2.1 ESTRUTURA

2.1.1 Galpões

A central possuía 4 galpões, sendo que todos estavam sendo utilizados para alojar os animais. O galpão 1 (figura 2) estava anexado com a sala de coleta 1 e o laboratório onde eram feitas as análises de qualidade do sêmen e o processamento, no galpão 3 estava localizada a sala de coleta 2, onde o sêmen coletado era enviado para o laboratório através do sistema pneumático. Como método de climatização dos galpões é utilizado o sistema *evaporative cooling system* (EVAP), onde é utilizado placas evaporativas e exaustores.

Figura 2 – Galpão 1 e 2 junto ao laboratório da CPS



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

2.1.2 Silos de Armazenamento da Ração

A ração utilizada na alimentação dos animais era adquirida através da empresa parceira Mig Plus e armazenada em três silos, conforme mostrado na figura 3, sendo que o silo 1 abastece os galpões 1 e 2 e por isso se localiza próximo aos mesmos, este tem capacidade para 4.000 kg de ração. O segundo e o terceiro silo, ficam próximo aos pavilhões 3 e 4, abastecendo estes e tem capacidade para 6.000 kg. O consumo médio de ração por reprodutor variava entre 2 a 2,5 kg/dia.

Figura 3 – Silos de ração



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

2.1.3 Celas dos animais

Os machos reprodutores ficam alojados em celas de ferro, sendo elas individuais e com delimitações de grades ao redor, lateralmente no segmento horizontal e frontalmente no segmento vertical, possuindo uma abertura na frente e uma atrás para o deslocamento do macho da baia. A higienização das baias era feita entre 1 a 2 vezes por dia, conforme necessidade. A área total das celas é de 1,87 m² e os animais possuem apenas o contato olfativo e visual entre si (ANEXO 1).

2.1.4 Salas de Coleta do Sêmen

A CPS contava com duas salas de coleta, sendo a sala 1 localizada nos pavilhões 1 e 2 e a sala 2 fica nos pavilhões 3 e 4. A sala de coleta 1 possui 3 manequins e é anexada ao laboratório onde o sêmen é processado, neste local existia um sistema de fosso de coleta, onde o funcionário da coleta fica um nível abaixo do piso onde fica o macho reprodutor. Dentro do fosso fica uma estufa pré-aquecida para os copos coletores e as cérvix artificiais, uma pia para limpeza e desinfecção dos materiais, *dispenser* para papel toalha, caixas de luvas e borrifadores com álcool.

A sala 2 era similar à sala 1, possui também 3 manequins, conforme apresentado na figura 4, porém o ejaculado coletado nos animais é transportado para o laboratório através do sistema de transporte pneumático, esse sistema é caracterizado por uma rede de tubos, onde tem cápsulas que serão enviadas através do vácuo.

Figura 4 – Manequim utilizado na monta



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

As atividades desenvolvidas no decorrer do período de estágio curricular obrigatório foram: coleta e processamento do sêmen, manejo dos reprodutores, aplicação de vacinas e vitaminas, castração dos machos e controle sanitário das instalações, a tabela 1 mostra a frequência da realização das atividades.

O total de coletas realizadas na central durante o período de estágio, bem como o total de doses produzidas em cada mês está discriminado na tabela 2 e a produção média de doses de sêmen por dia da semana pode ser observada no gráfico 1.

Tabela 1 – Atividades desenvolvidas durante o período de estágio e frequência de realização

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	FREQUÊNCIA DE REALIZAÇÃO
Coletas, análise e processamento do sêmen	Segundas, Quintas e Sextas.
Treinamento dos machos iniciantes	Terças e Sextas
Teste de motilidade das amostras coletadas	Terças e Sextas.
Coleta de amostras para testes de morfologia espermática	Conforme necessidade
Coletas de amostras para teste de bacteriológico	Quinzenal
Castração de machos para descarte	1 castração (conforme necessário)

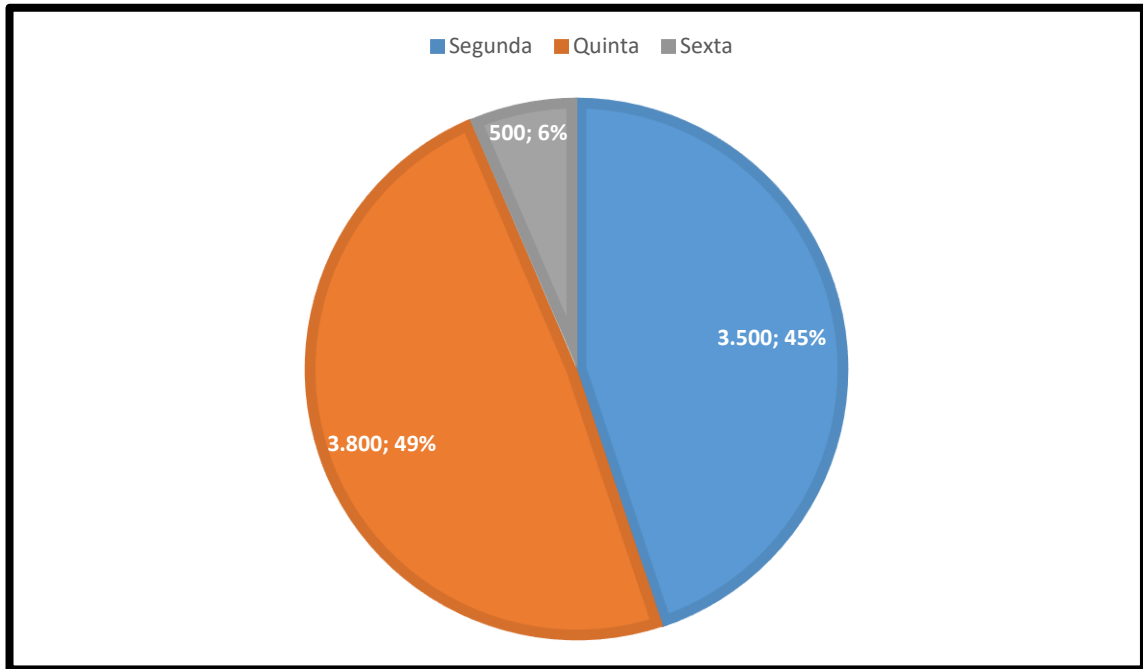
Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

Tabela 2 – Resumo do total de coletas de ejaculado e doses de sêmen produzidas durante o período de estágio.

	TOTAL DE COLETAS	TOTAL DE DOSES
AGOSTO	1.777	40.066
SETEMBRO	2.373	40.328
OUTUBRO	937	28.306

Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

Gráfico 1 – Produção média de doses de sêmen por dia da semana.



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

3.1 COLETA DE SÊMEN

O momento da coleta é uma das fases mais críticas da manipulação do sêmen, pois é nesta fase que pode ocorrer maior contaminação do ejaculado. É de extrema importância que haja medidas de higienização no processo da coleta, utilizando corretamente as luvas de limpeza e coleta, fazer a troca das mesmas a cada macho coletado e tomar cuidado durante a manipulação do sêmen. Os procedimentos de coleta realizados na CPS eram realizados de forma a diminuir ao máximo a contaminação do ejaculado.

No momento das coletas de sêmen, os machos reprodutores eram conduzidos calmamente da cela individual até a baia de coleta. Iniciava-se o processo com a higienização do animal, realizando uma limpeza externa no trato reprodutor do animal utilizando uma luva de limpeza e com o auxílio de papel toalha, logo era feito também uma limpeza no divertículo prepucial do animal, pois poderia haver acúmulo de urina. Após a higienização, o animal era conduzido até o manequim onde ocorria a coleta do ejaculado, o funcionário responsável possuía uma ficha de registro de coleta onde era anotado o número do macho, data, hora entrada na sala de coleta, hora do início e a hora da finalização da coleta.

A frequência de coleta dos animais na CPS era de no mínimo 1 a cada 7 dias, mas depende muito da demanda de doses. É muito importante que o intervalo (7 dias) de coletas seja respeitado, assim o esgotamento dos machos pode ser evitado, situação na qual os ejaculados apresentam baixas quantidades de espermatozoides e até mesmo podendo chegar à ausência deles (MARCHETTI; MELLAGI, 2014). Do mesmo modo, não é recomendado intervalos maiores que 10 dias entre as coletas, pois também podem afetar a qualidade do ejaculado, apresentando alto número de células mortas e aglutinações (MARCHETTI; MELLAGI, 2014).

3.1.1 Montagem do copo coletor e cérvix

A montagem do copo deverá ser feita antes do momento do início das coletas, em seguida os copos eram levados a estufa a 36°C para serem pré-aquecidos antes da utilização. O copo era montado colocando um saco coletor descartável (*bag*) dentro, este saco possuía um filtro com a função de fazer a separação da parte rica do ejaculado e da parte gelatinosa e filtrar as sujeiras. Este filtro era removido ao final da coleta.

A cérvix era montada de maneira que ficasse revestindo a base do saco plástico e se encaixasse no copo coletor. A coleta de sêmen somente iniciava depois de concluído a montagem desses equipamentos. A figura 5 demonstra como deve ser feita a montagem do copo coletor.

Figura 5 – Montagem do copo coletor e cérvix artificial.



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

Todos os equipamentos utilizados durante o processo da coleta, eram armazenados numa estufa localizada na sala de coleta, logo após a utilização eram desinfetados com álcool 70 (álcool etílico hidratado 70° INPM) dentro da pia e levados novamente a montagem.

3.1.2 Colheita do ejaculado

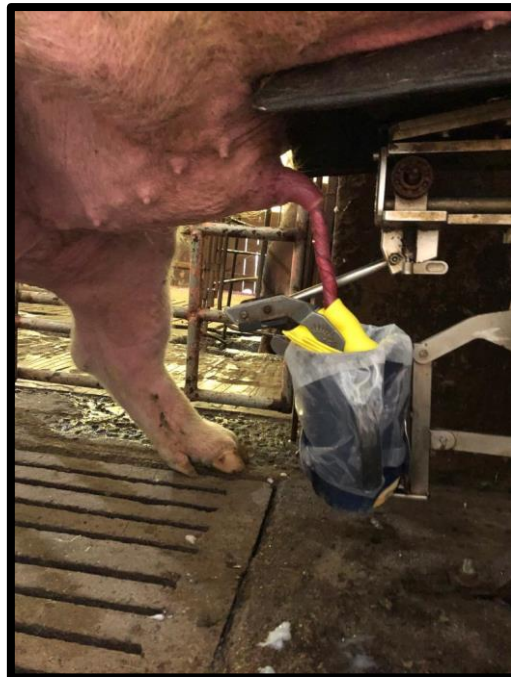
A partir do momento da chegada do animal no manequim, antes do início da coleta do ejaculado, era importante realizar a estimulação do divertículo prepucial do macho para que ocorresse a saída de urina e se necessário realizar outra higienização no trato reprodutor. A falta de higienização na pré-colheita e no método de colheita influenciam diretamente na contaminação bacteriológica do ejaculado (ALTHOUSE et al., 1998).

O ejaculado é dividido em 4 fases: fase das uretrais (que é composta por líquidos provenientes das glândulas uretrais e possui a função de fazer a limpeza da uretra para a passagem das demais fases); fase rica (contém o maior número de espermatozoides e é constituída de plasma seminal e 70% de espermatozoides); fase pobre (composta por secreção das vesículas seminais e pode ser intercalada com a fase rica); e a fase gelatinosa (é aquela secreção eliminada lentamente e ao longo do terço final da ejaculação). Para obtenção de um ejaculado de boa qualidade, a coleta deverá conter a fase rica e a fase pobre (BORTOLOZZO et al., 2005).

As glândulas vesicais têm a função de produzir a maior parte de volume líquido do ejaculado. Além de ser nas vesículas seminais que são produzidos e excretados substratos energéticos para os espermatozoides. A porção gelatinosa é característica do ejaculado suíno e é produzida pelas glândulas bulbo uretrais (FONTES; MACHADO; REIS, 2014).

Na CPS o método de colheita aplicada era a semiautomática, onde o macho faz a monta no manequim (simulando uma fêmea) e logo após a exposição do pênis, este era fixado na cérvix artificial e direcionado para dentro do copo coletor que é preso em uma estrutura móvel, conforme figura 6. Ao finalizar a ejaculação, o pênis fica flácido, se desprende da cérvix e o macho automaticamente desce do manequim. Este método permite a colheita seja simultânea, ou seja, um operador pode realizar 3 coletas ao mesmo tempo, tornando assim o processo de coleta mais rápida e ágil.

Figura 6 – Copo coletor fixado no manequim.



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

Existem machos, principalmente iniciantes que não se adaptam a este método de coleta, nestes casos é utilizado o método da mão enluvada, que consiste quando o macho expõe o pênis o funcionário utilizar a própria mão para fixar o órgão reprodutor do animal, mimetizando uma cervice. Este método é menos utilizado, pois demanda maior mão de obra e leva mais tempo comparado ao método semiautomático, além de expor o ejaculado a maior risco de contaminação. No método mão enluvada, logo que o cachaço desce do manequim, é retirado o copo coletor e o ejaculado é devidamente identificado, colocado na cápsula e encaminhado para o laboratório através do sistema pneumático.

3.2 PROCESSAMENTO DO SÊMEN

Durante o período de estágio foi possível acompanhar todas as etapas do processamento de sêmen para a preparação das doses que seriam vendidas aos produtores interessados.

3.2.1 Preparo da água para os diluentes

A qualidade da água é considerada um dos pontos mais críticos de controle do processamento do sêmen, é de extrema importância garantir a boa qualidade dela

para que não haja contaminação na preparação do diluente. Pois isto, influenciará diretamente na qualidade e preservação do ejaculado após a produção das doses inseminantes.

Se na água houver grandes quantidades de minerais e sais, pode acarretar um desequilíbrio osmótico entre sêmen e o diluente, podendo ocorrer lesões espermáticas irreversíveis e, com isso, levando a inviabilidade espermática. Também ocorre lesão física de membrana plasmática do acrossoma se houver contaminação bacteriana na água. Devido a estes motivos é necessário o uso de métodos purificadores de água, como destiladores ou deionizadores, sendo este último considerado mais eficiente e mais utilizado.

O método de purificação utilizado na CPS era a osmose reversa, processo que se aplica pressão na água com intuito de fazê-la passar por filtros semipermeáveis com poros microscópicos, que retêm qualquer tipo de impureza. O equipamento é composto por pré-filtros (5 microns, filtro de carvão *block*, filtro de 1 micron e 2 colunas de polimento), que consistiam em retirar minerais e o cloro da água. Os filtros de osmose reversa, tinham as seguintes funções: a membrana de osmose retirava sais, bactérias e sólidos; resinas iônicas ou colunas de polimento removiam os sais minerais; o filtro de ureia auxiliava na remoção do que ainda resistia na água e a lâmpada ultravioleta tinha uma função bactericida.

Após esta purificação, a água ficava armazenada dentro de um recipiente plástico com uma capacidade de 300 litros. Este recipiente era higienizado periodicamente com uma solução de 1 litro de água e 1 litro de água sanitária, logo era enxaguada com água deionizada.

3.2.2 Preparação do diluente

Existem vários tipos de diluentes com variadas composições, porém todos os produtos dessa categoria possuem determinadas funções, dentre elas: aumentar o volume total do ejaculado, suprir a necessidade de nutrientes para a produção de energia, possuir sais básicos, proteção de células espermáticas contra choque térmico, fornece solução tampão para controle de pH, proporcionar balanço osmótico e inibir crescimento bacteriano (COSTI, 2003).

Os diluentes utilizados na produção de doses inseminantes para os suínos são classificados conforme a manutenção de capacidade fecundante e viabilidade espermática. Estes podem ser classificados da seguinte forma: curta duração (1 a 2 dias); média duração (3 a 5 dias) e longa duração (mais de 6 dias). Os diluentes de curta duração apresentam um menor custo comparado com os de longa duração, entretanto o tempo e a distância de transporte das doses inseminantes produzidas são limitantes para seu uso (COSTI, 2003).

Os diluentes utilizados na CPS eram o Androstar Plus para diluir as linhagens híbridas e o Androstar Premium para as linhagens puras, com uso destes diluentes as doses inseminantes produzidas tinham uma validade de 6 a 9 dias, respectivamente, e eram considerados produtos de longa duração. O diluente era preparado, inserindo o pó para diluente de sêmen suíno na água deionizada, sendo importante que o pó se dissolva totalmente e para isso era utilizado um agitador que permitia homogeneizar a mistura, a tabela 3 contém a composição dos diluentes.

Tabela 3. Composição dos diluentes utilizados durante o estágio

	Androstar Plus	Androhhelp Premium
Glicose (g)	79,36	54,55
Citrato de sódio (g)	12,38	16
EDTA (g)	3,05	4,8
Bicarbonato de sódio (g)	2,66	-
Cloreto de potássio (g)	1,60	-
Sulfato de gentamicina (g)	0,53	0,65
HEPES (g)	-	19
BSA (g)	-	5

*Nota: composição dada a cada 100g do produto. Fonte: Minitube (2021).

A glicose presente no produto, tem a função de dar energia ao espermatozoide. Sendo está quebrada através da via glicolítica nas mitocôndrias espermáticas, a alta concentração de glicose pode causar uma grave redução do pH intracelular, que levará a morte espermática durante o período de armazenamento. Entretanto, o uso de outras fontes de energia como a frutose e galactose não demonstram vantagens à utilização da glicose. Os tampões (bicarbonato de sódio, citrato de sódio e HEPES),

utilizados na composição das doses inseminante, buscam diminuir as mudanças de pH que ocorrem naturalmente durante o processo de armazenamento do sêmen. Os eletrólitos (cloreto de sódio e de potássio) possuem a capacidade de balancear a pressão osmótica, evitando desidratação ou rompimento do espermatozoide (COSTI, 2003).

Para auxiliar na identificação do ejaculado, eram adicionados corantes ao sêmen, que variavam de acordo com a linhagem do reprodutor. O corante verde é utilizado em linhagens híbrida; o corante vermelho é usado em linhagens Z (Large White); o corante amarelo é utilizado em linhagens L (Landrace) e o corante azul é usado em linhagens de DB avô. Os corantes utilizados para a coloração e o diluente, são fornecidos pela empresa parceira Minitube.

Além de adicionar os corantes, era também adicionado ao diluente uma dose de antibiótico enrofloxacina a 10%. A dose usada era de 0,3 ml/L e o seu propósito era controlar o crescimento bacteriano no período de armazenamento do sêmen. Foi selecionado o uso da enrofloxacina por ser um quimioterápico bactericida, diferente da classe da gentamicina, proporcionando um maior efeito bactericida (BORTOLOZZO & WENTZ, 2005).

O diluente utilizado era armazenado em dois tanques de material inox, programados para manter uma temperatura interna de 36°C, sendo que dois deles tinham capacidade de 100 litros e um de 20 litros, a fim de reduzir a contaminação, os tanques eram revestidos de sacos plásticos específicos para o líquido não ter contato direto com o inox. A figura 7 mostra os tanques de armazenamento do diluente, sendo na esquerda os dois de 100 litros e na direita de 20 litros.

Figura 7 – Taques de armazenamento dos diluentes.



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

3.2.3 Análise do sêmen

A análise do sêmen era feita no próprio laboratório da central que se localizava ao lado da sala de coleta 2. O ejaculado era transferido ao laboratório através do sistema pneumático, dentro de um saco coletor pré-aquecido a 36°C e enviado por uma cápsula. Quando a capsula chegava no laboratório, o saco coletor era retirado e colocado dentro do copo de armazenamento que era pré-aquecido a 36°C, evitando ao máximo contato com objetos que vinham das salas de coleta para diminuir a contaminação ambiental.

O ejaculado passava por uma avaliação macroscópica onde era analisado características físicas, cor, odor, volume e aspecto; e avaliação microscópica, onde era visualizado a motilidade, vigor, aglutinação, viabilidade e concentração espermática.

Para medir o volume, era utilizado uma balança digital que permite obter o peso total do ejaculado. O teste do odor é feito pelo avaliador, podem ocorrer mudanças no odor quando houver contaminação de secreções prepuciais ou urina. A cor deve ser branca ou branco-acinzentado e é determinado visualmente. Quando o ejaculado apresentar cores rosadas ou amarelo forte pode ser indicativo de presença de sangue ou células inflamatórias (BORTOLOZZO et al., 2005b). Nestes casos o sêmen é considerado anormal e será descartado.

A avaliação do aspecto pode ser utilizada como base para estimular a concentração espermática, este pode ser classificado como soroso, aquoso, soro-leitoso, leitoso e leitoso-denso.

A avaliação microscópica era realizada através de um sistema de software CASA (*Computer Assisted Sperm Analyser*), este é composto por um microscópio com uma câmera acoplada e conectada a um computador. O sistema reconhece a célula espermática pelo tamanho de área da cabeça e classifica conforme o deslocamento de suas cabeças em: células imóveis, células com movimento local e células com motilidade progressiva (BENNEMANN, 2014).

Após o sêmen passar por todas essas avaliações e ser homogeneizado, passava por uma pré-diluição de 1:9 (1 parte de sêmen e 9 partes de diluente). Logo após era feito uma amostra do sêmen e depositado em uma lâmina que contém 4 câmaras específicas com capacidade de 3UI (microlitros) para realizar a avaliação microscópica do sêmen no sistema CASA. Esta lâmina utilizada é específica para o sistema, possui um alto padrão, fazendo com que se forme uma única camada de espermatozoides e com isso facilitando a contagem de células. A pré-diluição é feita com o auxílio de uma pipetadora eletrônica, programada para aspirar a quantidade de mL necessária para esta amostra.

Na avaliação microscópica era utilizada uma objetiva de 40x, logo após esta avaliação o *software* fornecia parâmetros de motilidade (progressiva e total), taxa de diluição necessária (TD) e número de doses que aquele ejaculado pode fornecer. Estes dados variavam de acordo com a escolha do tipo de dose que será produzida sendo elas, dose tradicional (T) que normalmente era utilizada para inseminação de leitoas, onde o sêmen não passava pela cérvix ou pós-cervical (PC) que era usada para inseminar porcas, possibilitando o ejaculado na passagem da cérvix e sendo depositada diretamente no útero.

A motilidade é o resultado obtido após a contagem de células em movimento em um determinado campo, que será expressa em porcentagem, sendo o mínimo aceitável 80%. A motilidade vai indicar a viabilidade espermática, portanto ejaculados cujo valor esteja abaixo de 80% o ejaculado deve ser descartado, pois não irão desempenhar o papel satisfatório em IA (BENNEMANN, 2014).

3.2.4 Diluição do sêmen

A diluição tem como finalidade adicionar ao ejaculado um meio conservador, que possa aumentar a durabilidade e a viabilidade espermática até o momento do uso, além de aumentar o volume facilitando a produção de doses inseminantes. Na central da CPS é usado um equipamento de diluição automático, onde é colocado o saco coletor que contém o sêmen dentro de um jarro de plástico no qual o tamanho varia de acordo com o volume de diluição, logo o funcionário programa a quantidade de diluente necessário e o *dispenser* vai acrescentar ao ejaculado. (ANEXO 2).

A TD (taxa de diluição) fornecida pelo software é calculada com base na concentração espermática desejada, que varia conforme o tipo de dose produzida e com o histórico reprodutivo do macho. No caso de doses tradicionais a concentração espermática é de 3 bilhões de espermatozoides por dose, e em doses empregadas na utilização de técnica de inseminação pós-cervical a concentração é de 1,5 bilhões de espermatozoides (37,5 e 33 milhões por ml, respectivamente).

3.2.5 Envase

Após passar pela diluição, as DI são armazenadas em flexitubes com capacidade de 95 ou 60 ml, usados para produção de doses T (80 ml) e PC (45 ml). Na CPS da ACSURS tinha duas formas de envase: envase automática onde o funcionário programa no computador os dados do ejaculado e a dose sai pronta, e o envase semiautomático, que requer um funcionário para encher os flexitube e logo colocar as etiquetas (ANEXO 2)

3.2.6 Armazenamento das doses

Logo depois que as doses passavam pelo sistema de envase, estas ficavam armazenadas em ambiente refrigerado, em temperatura que variava entre 15° e 18°C. Em seguida, as doses eram distribuídas para os produtores, sendo embaladas em sacos plásticos devidamente identificados com nome do produtor, rota, motorista, tipo de linhagem e dose, quantidade, e encaminhadas ao carregamento. Aquelas doses que continuavam na central após o período de estabilização de temperatura, eram armazenadas em uma conservadora com uma temperatura de 16°C.

Era importante que todas as doses fossem conservadas na temperatura de 16°C para que sua viabilidade das células espermática fosse mantida. Por esse motivo, os carros utilizados para o transporte das doses eram adaptados para manter a temperatura, as doses que eram enviadas por transportadoras rodoviárias eram embaladas em caixas de isopor simples e se o tempo de viagem fosse muito longa, era adicionado gelo em gel junto com as doses para auxiliar na manutenção da temperatura.

A redução da temperatura durante a conservação de DI tem como objetivo prolongar a viabilidade dos espermatozoides. Isto acontece porque ao diminuir a temperatura, diminui-se também o metabolismo dessas células, desacelerando processos metabólicos. Entretanto, oscilações de temperatura durante o armazenamento podem causar perda da viabilidade dos espermatozoides. Cabe salientar neste ponto a importância do controle de temperatura na conservação de DI, que tem ligação direta com a qualidade das mesmas (FERREIRA et al., 2005).

A escolha de conservação das DI na temperatura de 16°C é baseada no fato de que mantendo essa temperatura constante, a qualidade da DI é assegurada dentro dos padrões aceitáveis, apresentando melhores resultados no controle de qualidade (FERREIRA et al., 2005).

3.3 TREINAMENTO DE MACHOS INICIANTES

Ao chegar na CPS os machos reprodutores eram alojados em baias, onde passavam um tempo até a primeira coleta para se adaptarem ao novo ambiente. Logo após esse período, os machos eram levados até as salas de coletas, estimulados a realizar a monta no manequim e recebiam uma dose de 0,4 ml de Lutalyse (análogo de prostaglandina).

O procedimento de coleta era basicamente o mesmo que nos demais machos, porém durante o período de treinamento o ejaculado era analisado apenas acompanhamento da qualidade das células espermáticas do reprodutor sendo em descartado. Os machos que chegavam na central com uma idade de 5 a 6 meses e ficavam em período de treinamento até chegarem aos 7 a 8 meses e depois eram utilizados na produção.

3.4 MANEJO SANITÁRIO DO REBANHO

Os animais recebiam atenção diária dos funcionários, para que, se houvesse algum tipo de alteração era passado ao responsável para resolver o problema imediatamente. Uma das enfermidades mais comuns encontradas no rebanho era a artrite. Também era aplicado nos animais um protocolo vacinal de prevenção contra a circovírus suíno, parvovirose suína, erisipela, *leptospira*, *mycoplasma hyopneumoniae*, este protocolo era realizado logo na entrada dos machos, onde os machos recebiam 2 ml de vacina e após 14 dias era reforçado a dose, depois aplicado semestralmente.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 MORFO ANORMALIDADES ENCONTRADAS NO SÊMEN SUÍNO

A esterilidade e a infertilidades de machos de todas as espécies têm sido associadas à anormalidades na morfologia dos espermatozoides. Anormalidades na qual pode ser bem evidente ao exame clínico, até aquelas que são considerado efeitos sutis, onde terá maior dificuldade na avaliação e visualização da análise (CHENOWETH, 2005).

Em geral, a estrutura do espermatozoide tem uma função importante nos resultados de fertilização e prenhez (ZAMBONI, 1992). Dentre as principais causas, se destaca como a mais comum as causas ambientes na ocorrência de alterações morfológicas nos espermatozoides, ainda assim é importante salientar que as morfoanormalidades podem ser também de origem genética, ambiental ou até uma combinação de ambas (DELEROI et al., 1990);

Os defeitos espermáticos podem ou não estar associados a motivos genéticos, as anormalidades com origem genética geralmente são inespecíficas e raras, ocasionando uma redução acentuada da fertilidade ou até mesmo à esterilidade (BORTOLOZZO et al., 2005).

Alguns desses defeitos aparecem após a saída dos espermatozoides dos testículos, ou seja, que tem origem no epidídimo, durante o processo de maturação e permanecem até o momento da ejaculação, sendo representadas, especialmente,

pela ocorrência de gota citoplasmática devido à maturação incompleta (BRACKETT, 2006).

Quando há presença de cabeça de espermatozoides e acrossoma destacados, caudas dobradas e defeitos da peça intermediária\cauda também são em virtude de fatores externos como exposição a temperaturas elevadas, traumatismos e patógenos (ARRUDA et al., 2015). Algumas irregularidades podem também estar relacionada a manipulação humana inadequada e mudanças no ambiente durante o processamento do sêmen ou até na escolha da técnica de avaliação morfológica (ROCHA; ARAÚJO, 2021).

Segundo um estudo realizado em uma CPS do Rio Grande Do Sul, onde foi coletado o ejaculado de 95 animais, 78% das amostras tiveram sêmen aprovado com base nos percentuais de patologias encontradas no teste e 22% foram reprovados, pois possuíam mais de 30% de anormalidades totais ou mais de 10% de patologias individuais. As principais anormalidades observadas nas células espermáticas dos suínos reprovados foram cauda fortemente enrolada, cauda dobrada com gota citoplasmática distal, gota citoplasmática distal e proximal. Os animais que foram reprovados na primeira coleta, foram novamente avaliados após três semanas e resultou na queda de 3% de reprovação dos mesmos (ROCHA; ARAÚJO, 2021).

Prejuízos na fertilidade do animal é inevitável quando a população de espermatozoides anormais ultrapassa o limite estabelecido de 30% (BORTOLOZZO et al., 2005). No estudo, não foram identificadas anormalidades primárias (cabeça, colo, acrossoma e peça intermediária), porém foi detectado irregularidades secundárias (cabeça isolada, cauda enrolada e gotas citoplasmática) que também podem ser de origem terciária.

De acordo com Deleroix et al. (1990) a alteração mais comum encontrada no sêmen de reprodutores suínos é a gota citoplasmática proximal e distal. Esta afirmação está de acordo com este estudo, que mostrou que as alterações nessas estruturas estão entre as alterações mais prevalentes.

5. CONCLUSÃO

O estágio supervisionado me oportunizou entrar em contato com uma ampla cadeia reprodutiva da suinocultura do Rio Grande do Sul, além de permitir com que eu praticasse todos os conhecimentos durante o período da graduação. O manejo dos machos reprodutores, andrologia suína e os conhecimentos de biotecnologias aplicadas à reprodução suína foram os principais assuntos abordados durante o tempo de estágio.

Ter a oportunidade de acompanhar a rotina de uma CPS de grande porte, como a da ACSURS, me permitiu não somente aprender coletas e processamento de sêmen, mas também, mostrou a importância do monitoramento andrológico e o manejo reprodutivo do macho na produção de doses inseminantes.

Concluo que este período foi essencial para minha formação, obtive grandes aprendizados e contribuiu muito para meu crescimento profissional e pessoal, proporcionando um preparo para o mercado de trabalho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTHOUSE, G.C.; KUSTER, C.; CLARK, S.G. Contaminant growth of spermicidal bacteria in extended porcine semen. In: Congress of International Pig Veterinary Society, Birmingham. 15, **Proceedings of International Pig Veterinary Society**, p. 37, 1998.

ARRUDA, R.P.; CELEGHINI, E.C.C.; GARCIA, A.R.; SANTOS, G.C.; LEITE, T.G.; OLIVEIRA, L.Z.; LANÇONI, R.; RODRIGUES, M.P. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60, 2015.

BENNEMANN, P.E. Manejo reprodutivo do macho suíno. In: FERREIRA, A.H *et al.* **Produção de suínos teoria e prática**. Brasília: Qualitá, 2014. Cap.8. p. 323-327.

BORTOLOZZO, F.P. *et al.* Coleta do Ejaculado. In: BORTOLOZZO, F.P. *et al.* **Inseminação artificial na suinocultura tecnificada**. Porto Alegre: Pallotti, 2005a. Cap. 6. p. 57-66.

BORTOLOZZO, F.P; WENTZ, I. Situação da IA em suínos no Brasil e no Mundo. In: BORTOLOZZO, F.P. *et al.* **Inseminação artificial na suinocultura tecnificada**. Porto Alegre: Pallotti, 2005. Cap. 2. p. 17 22.

BRACKETT, B.G. Reprodução em Mamíferos do Sexo Masculino. In: REECE, W.O.D. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 12. ed. cap.38, p.623-643, 2006.

CHENOWETH, P.J. Genetic sperm defects. **Theriogenology**, v. 64, n. 3, p. 457-468, 2005.

COSTI, G. **Efeitos de diluentes na qualidade de sêmen suíno armazenado a 17°C e no desempenho reprodutivo das fêmeas após inseminação artificial**. 2003. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

DELEROIX, I.; MAUGET, R.; SIGNORET, J.P. Existence of synchronization reproduction at the level of the social group of the European wild boar (*Sus scrofa*). **Jornaul of Reproduction and Fertility**, v.89, n 2, p. 213-617,1990.

FERREIRA, F.M. *et al.* Processamento e armazenamento das doses inseminantes. In: BORTOLOZZO, F.P. *et al.* **Inseminação artificial na suinocultura tecnificada**. Porto Alegre: Pallotti, 2005. Cap. 8. p. 91-105.

FONTES, D.O.; MACHADO, G.; REIS, M.X. Nutrição e alimentação do macho reprodutor suíno: Fundamentos fisiológicos da nutrição do macho reprodutor. In: FERREIRA, A.H. *et al.* **Produção de suínos teoria e prática**. Brasília: Qualitá, 2014. p. 427-433

GURNET, R.R. Manejos profiláticos e sanitários aplicados à produção de suínos: Granja de reprodutores suídeos certificadas (GRSC): legislação e aplicação. In:

FERREIRA, A.H. **Produção de suínos teoria e prática**. Brasília: Qualitá, 2014. Cap. 14. p. 610-614.

MARCHETTI, A.; MELLAGI, A.P.G. Manejo Reprodutivo do Macho suíno: Sistemas de coleta manual, semiautomática e automática. In: FERREIRA, A.H. **Produção de suínos teoria e prática**. Brasília: Qualitá, 2014. p. 328-333.

ROCHA, V.P. *et. al.* Avaliação morfológica de espermatozoides suínos em uma central de inseminação artificial. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.15, n.2, p. 1-12, 2021.

ZAMBONI, L. Sperm structure and its relevance to infertility. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 116, n. 4, p. 325-344, 1992.

ANEXO 1 – CELA INDIVIDUAL



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).

ANEXO 2 – ENVASADORA SEMIAUTOMÁTICA



Fonte: Eduarda Nascimento Pedretti (2021).