

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**“APLICABILIDADE DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL PÓS-
CERVICAL EM LEITOAS E DESEMPENHO REPRODUTIVO UTILIZANDO
1,5 OU 2,5 BILHÕES DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS POR DOSE
INSEMINANTE”**

KELLY JAQUELINE WILL

PORTO ALEGRE

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**“APLICABILIDADE DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL PÓS-
CERVICAL EM LEITOAS E DESEMPENHO REPRODUTIVO UTILIZANDO
1,5 OU 2,5 BILHÕES DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS POR DOSE
INSEMINANTE”**

Autora: Kelly Jaqueline Will

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Biotécnicas da Reprodução de Suínos.

Orientador: Prof. Rafael da Rosa Ulguim

Coorientador: Prof. Fernando Pandolfo Bortolozzo

PORTO ALEGRE

2020

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

CIP - Catalogação na Publicação

Will, Kelly Jaqueline

Aplicabilidade da técnica de inseminação artificial pós-cervical em leitoas e desempenho reprodutivo utilizando 1,5 ou 2,5 bilhões de células espermáticas por dose inseminante / Kelly Jaqueline Will. -- 2020. 66 f.

Orientador: Rafael da Rosa Ulguim.

Coorientador: Fernando Pandolfo Bortolozzo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Leitoas. 2. Inseminação pós-cervical. 3. Cateter intrauterino. 4. Inseminação intrauterina. 5. Dose inseminante. I. Ulguim, Rafael da Rosa, orient. II. Bortolozzo, Fernando Pandolfo, coorient. III. Título.

KELLY JAQUELINE WILL

APLICABILIDADE DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL PÓS-CERVICAL EM LEITOAS E DESEMPENHO REPRODUTIVO UTILIZANDO 1,5 OU 2,5 BILHÕES DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS POR DOSE INSEMINANTE

Aprovada em 14 FEV 2020.

APROVADA POR:

Prof. Dr. Rafael da Rosa Ulguim
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin
Membro da Comissão

Prof. Dr. Diogo Magnabosco
Membro da Comissão

Prof. Dr. Paulo Eduardo Bennemann
Membro da Comissão

Dedico essa dissertação ao meu
irmão Julio César Will (*in memoriam*)
por me permitir a vida e ser minha fonte
de inspiração e força todos os dias.
Saudade eterna.

AGRADECIMENTOS

Mais uma etapa sendo concluída na minha vida e com certeza tenho muito o que agradecer às pessoas que tem feito parte de tudo isso (de perto ou de longe).

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela vida, por me guiar em busca dos meus sonhos, por me acompanhar durante o caminho e por me dar força quando eu achei que não iria suportar.

Ao meus pais, Jonas e Lucelani, porque sem eles nada seria possível. Obrigada por todo o incentivo, suporte e por acreditarem em mim. Sei que muitas vezes vocês desejaram que eu ficasse perto de vocês e tiveram medo de deixar eu trilhar os caminhos eu escolhi, mas nunca deixaram de me apoiar e dar suporte para tudo na vida. Vocês são meus exemplos, minha fonte de inspiração e força. Obrigada por TUDO, eu amo muito vocês.

Ao meu irmão Julio César Will (*in memoriam*), com quem eu pude compartilhar os melhores 19 anos da minha vida. Você nos deixou cedo demais, mas graças sua coragem eu estou viva. Você me ensinou a aproveitar cada momento e ver sempre o lado bom da vida, por isso eu levo a sua força e alegria aonde quer que eu vá. Gostaria muito de estar compartilhando e comemorando com você essa conquista, mas sei que onde quer que esteja, você está comigo. Eu te amarei para sempre.

Ao meu opa (Ademar – *in memoriam*) e minha oma (Leonita), pelo amor incondicional, pelo incentivo aos estudos desde a infância, por sempre cuidarem de mim e pelo suporte em tudo o que tenho feito. Ao meu avô (Valdir) e sua esposa (Aurélia, minha avó de coração) por topo apoio, incentivo e amor. Quero muito que vocês se orgulhem da sua neta sempre, eu amo vocês, obrigada por tudo.

Ao meu Professor e Orientador Rafael, que eu admiro como profissional e como pessoa. Obrigada por todo o suporte ao longo desses dois anos, obrigada por acreditar em mim, incentivar e dar oportunidades para que eu pudesse evoluir. Agradeço por todo o conhecimento, convivência, incentivo, paciência e atenção. Você é um exemplo para mim e eu só tenho gratidão.

Aos professores Fernando, Ana, David e Mari, por todo o aprendizado, suporte, paciência, oportunidades, com certeza tenho evoluído e aprendido muito com vocês. Obrigada.

À todos os colegas da pós-graduação e estagiários do Setor de Suínos pelo acolhimento e amizade. Um agradecimento especial a Maiara e a Daniela pela

convivência e amizade durante esses dois anos. À Karine, Marina, Camila, Dani Fermo, Mariáh, Joana S., pelo carinho e amizade dentro e fora do setor. Às estagiárias e amigas que me auxiliaram muito durante o experimento, Dani, Mariáh, Victoria e Gabi. Obrigada.

Às minhas amigas de longa data que eu sei que posso contar sempre, que torcem por mim e comemoram todas as minhas conquistas, mesmo que na grande parte do tempo estamos distantes: Kyola, Lilian, Fran, Fabi, Marian, Tayná, Monique, Giu, Samantha, Jessica e Djuni. Obrigada e contem sempre comigo!

À minha orientadora da faculdade (IFC- Araquari) e também amiga Prof. Érica, pelo incentivo desde o início e por acreditar sempre em mim.

À Master Agroindustrial por disponibilizar a infraestrutura para a realização do experimento, e a todos os funcionários pela compreensão e apoio durante esse período. Em especial ao Rafael Kummer, Valdenir e Maristela.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

Ao PPGCV – UFRGS pelo suporte.

À UFRGS pelo ensino.

RESUMO

“APLICABILIDADE DA TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL PÓS-CERVICAL EM LEITOAS E DESEMPENHO REPRODUTIVO UTILIZANDO 1,5 OU 2,5 BILHÕES DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS POR DOSE INSEMINANTE”

Autora: Kelly Jaqueline Will

Orientador: Prof. Rafael da Rosa Ulguim

Coorientador: Prof. Fernando Pandolfo Bortolozzo

A inseminação artificial pós-cervical (IAPC) é um método que permite a redução do número de células espermáticas e volume da dose inseminante sem comprometer o desempenho reprodutivo comparada a inseminação artificial intracervical (IAC). A IAPC é aplicada com sucesso em pluríparas e primíparas, porém ainda é limitada para leitoas devido à dificuldade de passagem do cateter intrauterino pela cérvix. O presente estudo avaliou a aplicabilidade da IAPC em leitoas e o impacto da idade e diferentes características corporais na taxa de sucesso de inserção do cateter intrauterino. O desempenho reprodutivo foi avaliado para IAPC e IAC, considerando diferentes tamanhos de doses. Um total de 636 leitoas foram distribuídas em um delineamento fatorial 2×2 , sendo os fatores: duas técnicas de inseminação artificial (IAC e IAPC) e dois diferentes tamanhos de doses inseminantes ($1,5 \times 10^9$ células espermáticas viáveis/50 mL; ou $2,5 \times 10^9$ células espermáticas viáveis/80 mL). Independentemente da dose inseminante utilizada, para as 319 leitoas do grupo IAPC, foi realizada a caracterização da inserção do cateter intrauterino. Para todos os grupos foram avaliados o desempenho reprodutivo, e ocorrência de sangramento e refluxo de sêmen durante todas as inseminações. Dois subgrupos foram avaliados em relação ao tempo para realizar a inseminação ($n = 380$) e refluxo de sêmen coletado durante 1 h após a inseminação ($n = 114$). As análises foram realizadas pelo software SAS utilizando o procedimento GLIMMIX. As médias das variáveis contínuas foram comparadas pelo teste Tukey-Kramer, variáveis frequência foram analisadas por regressão logística considerando a distribuição binária e a distribuição multinomial para as variáveis categóricas com mais de dois escores. Variáveis não paramétricas foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis. A taxa de sucesso de inserção do cateter foi de 58,93%, considerando leitoas que permitiram a inserção do cateter em todas as inseminações realizadas durante o estro. Adicionalmente, maior possibilidade ($>60\%$; $P \leq 0,04$) de inserção do cateter foi observada em leitoas mais pesadas no primeiro estro detectado (≥ 124 kg), e em leitoas com idade superior (≥ 225 d) e maior escore de condição corporal (>3) na inseminação. Não houve diferença entre os grupos na taxa de prenhez ($\geq 95,26\%$; $P = 0,23$), taxa de parto ($\geq 93,67\%$; $P = 0,54$), número total de leitões nascidos ($\geq 14,45$; $P = 0,45$), bem como sangramento e refluxo durante a inseminação. Entretanto, a porcentagem de volume e de células espermáticas no refluxo foi menor em leitoas inseminadas com 1,5 bilhão de células espermáticas/50 mL ($P < 0,01$) que nos demais grupos. Não houve redução expressiva no tempo utilizado para realizar a IAPC comparada com a IAC. Porém, para leitoas inseminadas com 1,5 bilhão de células espermáticas/50 mL o tempo total para a inseminação foi menor que nos demais grupos ($P < 0,01$). Concluindo, a IAPC continua

limitada para leitoas devido à baixa taxa de sucesso de inserção do cateter. O desempenho reprodutivo não foi afetado pela técnica de inseminação (IAPC ou IAC) ou pela dose inseminante (1,5 bilhão de células espermáticas/50 mL ou 2,5 bilhões de células espermáticas/80 mL).

Palavras-chave: Nulíparas, inseminação intrauterina, IAPC, cérvix, cateter

ABSTRACT

APPLICABILITY OF POST-CERVICAL ARTIFICIAL INSEMINATION IN GILTS AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE USING 1.5 OR 2.5 BILLION SPERM CELLS IN THE INSEMINATING DOSE

Author: Kelly Jaqueline Will

Advisor: Rafael da Rosa Ulguim

Co-advisor: Fernando Pandolfo Bortolozzo

The post-cervical artificial insemination (PCAI) is a method that allows the reduction in the number of sperm cells and volume of the insemination doses, without compromising the reproductive performance compared to cervical artificial insemination (CAI). The PCAI is successfully applied in pluriparous and primiparous sows but is still limited to gilts due to the difficulty for cannula insertion through the cervix. This study evaluated the applicability of PCAI in gilts and the impact of age and different body characteristics of the gilts on the success rate for cannula insertion. The reproductive performance was evaluated for PCAI and CAI, considering different semen dose sizes. A total of 636 gilts were assigned in a 2×2 factorial design: two artificial insemination techniques (CAI and PCAI) and two different semen dose sizes (1.5×10^9 viable sperm cells/50 mL; or 2.5×10^9 viable sperm cells/80 mL). Regardless of the insemination dose used, for the 319 gilts assigned to PCAI, a characterization of the intrauterine cannula insertion was performed. For all groups, reproductive performance, and occurrence of bleeding and semen backflow during all inseminations were recorded. Two subgroups were evaluated regarding the time expended to perform the insemination ($n = 380$), and the semen backflow collected during 1 h after insemination ($n = 114$). The SAS system using the GLIMMIX procedure was performed. The averages of continuous variables were compared by the Tukey-Kramer test, frequency variables were analyzed by logistic regression considering a binary distribution and a multinomial distribution was considered for the categorical variables with more than two scores. The nonparametric variables were compared by Kruskal-Wallis test. The success rate for intrauterine cannula insertion, based on a successful insertion in all inseminations performed during estrus, was 58.93%. Additionally, greater possibility ($> 60\%$; $P \leq 0.04$) of cannula insertion was observed in heavier gilts at first detected estrus (≥ 124 kg), as well as in older gilts (≥ 225 d) and greater body condition score (> 3) at insemination. There were no differences among the groups in pregnancy rate ($\geq 95.26\%$; $P = 0.23$), farrowing rate ($\geq 93.67\%$; $P = 0.54$), total piglets born (≥ 14.45 ; $P = 0.45$), as well as bleeding and backflow during insemination. However, the percentage of semen backflow volume and percentage of sperm cells in the backflow were lower in gilts inseminated by CAI with 1.5 billion sperm cells/50 mL ($P < 0.01$). There was no expressive reduction in time expended to perform PCAI compared to CAI. However, gilts inseminated with 1.5 billion sperm cells/50 mL showed a lower total time to inseminate than all other groups ($P < 0.01$). In conclusion, PCAI remains limited for gilts due to the low success rate for cannula insertion. The reproductive performance was not affected by the AI technique (PCAI or CAI) or semen dose size (1.5 billion sperm cells in 50 mL or 2.5 billion sperm cells in 80 mL).

Keywords: Nulliparous, Intrauterine insemination, PCAI, Cervix, Cannula

LISTA DE TABELAS

Tabela inserida na revisão bibliográfica

Tabela 1 - Estudos que realizaram inseminação artificial pós-cervical (IAPC) utilizando sêmen suíno refrigerado	22
--	----

Tabelas inseridas no artigo científico

Table 1 – Reproductive performance, bleeding and semen backflow of gilts submitted to post-cervical artificial insemination (PCAI) or cervical insemination (CAI) with different semen dose sizes (1.5×10^9 sperm cells/50 mL or 2.5×10^9 sperm cells/80 mL)	56
Table 2 – Time expended to perform the insemination in gilts submitted to post-cervical insemination (PCAI) or cervical insemination (CAI) considering the use of two semen dose sizes (1.5×10^9 sperm cells/50 mL or 2.5×10^9 sperm cells/80 mL)	57
Table 3 – Reproductive performance of gilts inseminated by post-cervical insemination according to the depth and number for attempts at cannula insertion, bleeding and semen backflow during insemination	59

LISTA DE FIGURAS

Figuras inseridas no artigo científico

- Figure 1** – Percentage of gilts with different classes of depths of the intrauterine cannula insertion in the second (A) or third (B) insemination (AI) according to insertion depth of the cannula in the previous insemination (first or second, respectively). 53
- Figure 2** – The occurrence of semen backflow (%) in the first and second insemination (AI) according to depth of cannula insertion to perform post-cervical insemination in gilts..... 54
- Figure 3** – The success rate for cannula insertion through the cervix according to different classes of weight at first detected estrus (A), age at insemination (B), body condition score (BCS) at insemination (C) and caliper score at insemination (D) for PCAI in gilts. 55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Emprego da inseminação artificial em suínos.....	15
2.2 Técnicas de inseminação artificial em suínos.....	16
2.2.1 Inseminação artificial intracervical.....	17
2.2.2 Inseminação artificial intrauterina profunda cirúrgica e não-cirúrgica.....	19
2.2.3 Inseminação artificial pós-cervical.....	20
2.3 Contextualização do uso da inseminação artificial pós-cervical em leitoas.....	24
2.3.1 Uso da inseminação artificial pós-cervical em leitoas.....	25
2.3.2 Características a serem consideradas para o uso da IAPC em leitoas.....	27
2.3.3 Características para a primeira inseminação e importância da viabilização da IAPC em leitoas.....	29
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	31
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é a biotécnica de reprodução mais utilizada na reprodução de suínos (DIMITROV & ŽMUDZKI, 2009; RIESENBECK, 2011; SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; WABERSKI *et al.*, 2019). Ao longo dos anos, diferentes métodos foram desenvolvidos, sendo que atualmente são utilizadas comercialmente a inseminação artificial intracervical (IAC) e a inseminação artificial pós-cervical (IAPC). A IAC é a técnica de IA mais utilizada e consiste na deposição da dose inseminante (DI) de forma intracervical, através de uma pipeta que tem fixação na porção posterior da cérvix (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; BORTOLOZZO *et al.*, 2015). Nessa técnica são utilizadas doses inseminantes contendo cerca de 1 a 4 bilhões de células espermáticas em um volume de 70 a 100 mL, dependendo do país ou região (BORTOLOZZO *et al.*, 2015; KNOX, 2016).

Por outro lado, com os avanços tecnológicos onde se buscou principalmente otimizar o uso dos ejaculados, foi desenvolvida a IAPC. A técnica de IAPC consiste na deposição da dose diretamente no lúmen uterino (após a cérvix e anterior a bifurcação uterina), através de um cateter no interior da pipeta tradicional que se projeta cerca de 200 mm além da extremidade do dispositivo (WATSON & BEHAN, 2002). Por evitar o trânsito de espermatozoides pelo interior da cérvix, a IAPC permite o uso de doses com menor volume e número de células espermáticas sem comprometer o desempenho reprodutivo se comparada a IAC (WATSON & BEHAN, 2002; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012). Assim, na IAPC são utilizadas doses com cerca de um 1 – 1,5 bilhão de células espermáticas em um volume de 45-50 mL (BORTOLOZZO *et al.*, 2015).

Sendo assim, a IAPC apresenta como principais vantagens a redução do número de células espermáticas e volume da DI, produção de um maior número de doses por ejaculado e otimização de machos de maior índice genético (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b), redução no custo com aquisição e manutenção de machos (DIEHL *et al.*, 2006), e menor tempo para realização da IA (WATSON & BEHAN, 2002). Além disso, a técnica é aplicada com sucesso em mais de 90% das fêmeas pluríparas (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005; BENNEMANN *et al.*, 2007) e cerca de 86% das fêmeas primíparas (SBARDELLA *et al.*, 2014), sendo uma técnica consolidada nessas categorias e amplamente difundida nos sistemas de produção no Brasil. Porém, por muito tempo a IAPC não têm sido recomendada para leitoas, sendo o maior desafio a

dificuldade de inserção do cateter intrauterino pela cérvix (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). Essa dificuldade está associada as menores dimensões do trato reprodutivo de leitoas se comparado a pluríparas (KAPELAŃSKI *et al.*, 2013; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a). Portanto, ainda há necessidade das granjas realizarem as duas técnicas (IAC e IAPC) na sua rotina, bem como as centrais de processamento de sêmen produzirem dois tipos de DI (BORTOLOZZO *et al.*, 2015). Porém, até o momento são poucos os estudos que incluíram essa categoria de fêmeas, bem como utilizaram cateteres específicos para leitoas. No entanto, considerando que as leitoas representam um número expressivo de animais no plantel, cerca de 18% do grupo de cobertura (BORTOLOZZO & WENTZ, 2006), viabilizar a técnica às leitoas pode trazer as mesmas vantagens já consistentes nas outras categorias fêmeas, bem como padronizar os manejos da granja e a produção de doses pelas centrais de processamento de sêmen.

Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a aplicabilidade da IAPC em leitoas, utilizando um cateter específico para esta categoria de fêmeas, bem como descrever a associação de características corporais e idade com a inserção do cateter intrauterino. Além disso, comparar o desempenho reprodutivo de leitoas utilizando para ambas as técnicas (IAC e IAPC) dois tipos de doses inseminantes ($1,5 \times 10^9$ células espermáticas viáveis/50 mL; ou $2,5 \times 10^9$ células espermáticas viáveis/80 mL).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Emprego da inseminação artificial em suínos

A inseminação artificial (IA) é uma das biotécnicas reprodutivas de maior sucesso e difundida por todo o mundo, sendo também um método importante no processo de intensificação da produção de suínos (DIMITROV & ŻMUDZKI, 2009; RIESENBECK, 2011; SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; WABERSKI *et al.*, 2019). A transição da utilização da monta natural para a inseminação artificial (IA) em suínos iniciou em torno dos anos 60 na Europa, seguida do estabelecimento de centros de inseminação com alojamento de machos para produção de sêmen nos anos 80 (KNOX, 2016). Sendo que, atualmente é utilizada em mais de 90% das granjas de suínos em diversos países (RIESENBECK, 2011; SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013).

O principal objetivo da implantação da IA está relacionado à maximização do uso dos ejaculados em relação à monta natural, sem reduzir a eficiência reprodutiva do plantel. Com a transição da monta natural para a IA foi possível reduzir o plantel de 1 macho para cada 20 – 25 fêmeas (monta natural), para 1 macho para cada 100 – 200 fêmeas (IA) (BORTOLOZZO & WENTZ, 2005). Assim, machos que eram utilizados para a cobertura de quatro a seis fêmeas por semana passaram a proporcionar a produção de cerca de 40 até 80 doses inseminantes (DI) de acordo com a técnica de IA utilizada (KNOX, 2016; WABERSKI *et al.*, 2019). Além disso, atualmente com a transição da produção de doses na própria granja para o conceito de genética líquida, onde há a concentração dos machos em grandes centrais especializadas na produção e distribuição de sêmen, o número de machos no plantel se tornou ainda menor e o uso praticamente restrito ao diagnóstico de estro. Sendo assim, o espaço ocupado anteriormente por machos pode ser ocupado por fêmeas, otimizando o sistema de produção. Ainda, com o uso da IA houve uma redução expressiva no tempo necessário para inseminação. Há relato de que cerca de 12 minutos eram necessários para supervisionar a monta natural, comparados a menos de 4 minutos para a IA (FLOWERS & ALHUSEN, 1992).

Em relação ao procedimento de IA, a técnica considerada padrão é a inseminação artificial intracervical (IAC) com deposição da DI na porção posterior do canal cervical. Porém, ao longo dos anos buscando a redução do número de espermatozoides e volume da dose inseminante, foram desenvolvidas técnicas com deposição pós-cervical da dose, sendo elas: a inseminação artificial pós-cervical (IAPC), com deposição da DI diretamente no corpo uterino; e as inseminações intrauterinas profundas (cirúrgica ou

não-cirúrgica), com deposição da dose próxima ao local de fecundação. Sendo a IAC e a IAPC as técnicas mais difundidas em condições comerciais, e o volume e número de células espermáticas das DI varia em função do método utilizado (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012). Além disso, apesar dos estudos com sêmen congelado, em suínos o principal método utilizado para conservação de sêmen até o momento da IA, continua sendo de forma refrigerada em uma temperatura de 16 a 18°C (RIESENBECK, 2011; WABERSKI *et al.*, 2019).

De acordo com Diehl *et al.* (2006), juntamente com a expansão da inseminação artificial em suínos, a busca por novas tecnologias e abordagens com o objetivo de reduzir os custos de produção ou aumentar a produtividade foram intensificadas. Nesse sentido, um dos propósitos baseia-se na otimização do uso dos ejaculados através da diminuição do número de espermatozoides na DI, mantendo a mesma eficiência em termos de taxa de parição e tamanho de leitegada (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013). Nesse contexto, a aplicação da IAPC em condições comerciais possibilitou uma otimização muito significativa de todo o procedimento de inseminação e vem sendo utilizada amplamente nos sistemas de produção no Brasil. Porém, a IAPC ainda permanece limitada para leitoas (GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b), e há demanda para que a técnica possa ser aprimorada e aplicada nessa categoria de fêmeas.

2.2 Técnicas de inseminação artificial em suínos

Diferentes técnicas de IA foram estudadas e desenvolvidas, sendo que a nomenclatura de cada uma se baseia no local de deposição da DI. Sendo assim, a IAC, ou também denominada IA tradicional, consiste na fixação de uma pipeta na porção posterior da cérvix e deposição intracervical da DI (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; BORTOLOZZO *et al.*, 2015; ROCA *et al.*, 2016). A IAC é realizada na presença do macho, a fim de que as fêmeas permaneçam estáticas e o efeito do macho induza contrações uterinas, auxiliando o transporte espermático (LANGENDIJK *et al.*, 2005). Por outro lado, a IAPC, ou IA intrauterina (IAU), consiste em uma pipeta de fixação cervical e um cateter em seu interior que se projeta cerca de 200 mm além da ponta da pipeta, sendo a dose infundida no lúmen uterino (após a cérvix e anterior a bifurcação uterina) (WATSON & BEHAN, 2002; SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). Com conceito semelhante, os métodos de inseminação intrauterina profunda cirúrgica e não cirúrgica consistem na deposição da DI próxima ao local de fecundação, e evitam o trânsito de espermatozoides pela maior parte do trato reprodutivo (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013).

Ainda, nas técnicas que utilizam cateteres que se projetam além do canal cervical, o macho não é utilizado no momento da inseminação, com o objetivo de facilitar a passagem do cateter (BORTOLOZZO *et al.*, 2015; KNOX, 2016). Por fim, conforme já citado, os métodos utilizados comercialmente são a IAC e a IAPC.

2.2.1 Inseminação artificial intracervical

A IAC é a técnica mais difundida na suinocultura devido à sua facilidade de aplicação. Essa técnica consiste na utilização de uma pipeta com cerca de 500 a 600 mm de comprimento e com fixação nos primeiros anéis cervicais, sendo que a ponta pode ter diferentes formatos (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013). Assim, na IAC a deposição da DI ocorre na porção posterior do canal cervical, onde são utilizadas doses inseminantes contendo cerca de 1 a 4 bilhões de células espermáticas (a maioria 2,5 a 4 bilhões) em um volume de 70 a 100 mL, dependendo do país ou região (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; BORTOLOZZO *et al.*, 2015; KNOX, 2016; ROCA *et al.*, 2016). E, considerando que cada fêmea é inseminada duas ou três vezes, são utilizadas cerca de 4 a 12 bilhões de células espermáticas por fêmea em cada estro (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; BORTOLOZZO *et al.*, 2015).

Ao longo dos anos, estudos comprovaram a eficiência da técnica de IAC, encontrando resultados de desempenho reprodutivo semelhantes ou superiores à monta natural (FLOWERS & ALHUSEN, 1992). Assim, após a consolidação da técnica, diversos estudos focaram em determinar o volume e número mínimos de células espermáticas necessários para a IAC (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013).

Em estudo fatorial 3×3 realizado por Stratman & Self (1960) foram inseminadas 72 leitões com doses de $2,5 \times 10^9$, $5,0 \times 10^9$ ou 10×10^9 células espermáticas em 10, 20 e 50 mL, onde observaram que aos 25 dias de gestação os grupos inseminados com 50 mL apresentavam uma maior taxa de sobrevivência embrionária e taxa de concepção, independentemente do número de espermatozoides na dose. Ainda, apesar de não encontrarem efeito significativo, um maior número de espermatozoides pareceu aumentar o número de nascidos. Similarmente, Baker *et al.* (1968) inseminaram leitões com três volumes de dose (20, 100 e 200 mL) e três números de células espermáticas por dose (1×10^9 , 5×10^9 e 10×10^9), em um delineamento fatorial 3×3 . Como resultado, concluíram que inseminar com 100 mL, bem como com 5 ou 10×10^9 células espermáticas na dose, resultou em uma maior proporção de óocitos fertilizados comparado com os demais volumes (10 ou 200 mL) e número de espermatozoides na dose (1×10^9).

Já nos anos 2000 os estudos continuaram buscando as condições ideais para realizar a IAC, em relação ao volume e números de espermatozoides na DI. Assim, Watson & Behan (2002) compararam três concentrações de espermatozoides (1 , 2 ou 3×10^9) em 80 mL na IAC e observaram que a inseminação com 1×10^9 apresentou redução drástica no desempenho reprodutivo (taxa de parto de 66,2% e 10,3 leitões nascidos em média), porém não houve diferença entre 2 ou 3×10^9 espermatozoides na dose, com taxas de parto superiores a 90% e cerca de 12,5 leitões nascidos. Posteriormente, em um primeiro estudo realizado por Behan & Watson (2006) o desempenho reprodutivo de leitoas não foi afetado quando foram inseminadas com 2 ou 1×10^9 células espermáticas totais na dose ($n = 300$ leitoas em cada grupo). Em vista disso, realizaram outro experimento reduzindo o número de células espermáticas na dose para 1×10^9 , 500×10^6 e 250×10^6 células espermáticas em 80 mL, e 250×10^6 em 40 mL aplicando mais 40 mL de diluente após a infusão da dose, para que todas as leitoas recebessem o mesmo volume. Como resultado, as leitoas inseminadas com doses de 1×10^9 células espermáticas totais (80 mL) apresentaram maior taxa de concepção (88,2% versus 76,5%) e número de embriões (11,06 versus 8,61) comparadas com as inseminadas com 500×10^6 . Ainda, as leitoas que receberam doses com 250×10^6 células espermáticas apresentaram uma redução drástica no desempenho (taxa de concepção $\leq 25\%$ e em média $\leq 7,25$ embriões).

Em outros estudos, Dallanora *et al.* (2004) e Bennemann *et al.* (2007) também obtiveram taxa de prenhez em torno de 95% e cerca de 12 leitões nascidos, quando aplicada a IAC com $3,0 \times 10^9$ espermatozoides em 90 mL. De modo similar, Hernández-Caravaca *et al.* (2012) observaram taxa de parto de 82,34% e 13,65 leitões nascidos quando as fêmeas foram inseminadas pela técnica de IAC com $3,0 \times 10^9$ espermatozoides em 80 mL. Portanto, em função dos resultados obtidos nos diversos trabalhos, foi preconizado como padrão no cenário brasileiro a utilização de DI com 2,5 a 3 bilhões de células espermáticas em um volume de 80 a 100 mL quando utilizada a IAC. Além disso, atualmente diversos tipos de pipetas são comercializados e poucos são os estudos que realizaram comparações entre elas. Sendo assim, a escolha da pipeta utilizada geralmente está relacionada à preferência pessoal e viabilidade econômica (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013).

2.2.2 Inseminação artificial intrauterina profunda cirúrgica e não-cirúrgica

Conforme já citado, com o passar dos anos buscou-se a otimização da IA principalmente em relação à redução do número de espermatozoides na dose, bem como em seu volume. Portanto, a utilização da inseminação artificial cirúrgica, que consiste na deposição da DI próxima ao local de fecundação, visou alcançar esses objetivos (KRUEGER *et al.*, 1999; KRUEGER & RATH, 2000). Assim, de fato os resultados dos estudos realizados mostraram que quando aplicada a IA intrauterina cirúrgica, com deposição da dose próxima a junção útero-tubárica, o número de espermatozoides e o volume da dose pode ser reduzido para 1×10^7 em 0,5 mL, sem comprometer o desempenho reprodutivo quando comparado com a IAC com 3×10^9 células espermáticas em 80 mL (KRUEGER *et al.*, 1999; KRUEGER & RATH, 2000). Porém, devido à complexidade de realização da técnica, é inviável aplicá-la em condições comerciais.

Logo, Martinez *et al.* (2001) sugeriram a necessidade do desenvolvimento de um dispositivo que permitisse a deposição intrauterina profunda, visto que a anatomia e o comprimento dos cornos uterinos impede a deposição da dose neste local, de forma não cirúrgica. Sendo assim, utilizaram um endoscópio óptico flexível (1,35 m) e foi possível realizar a inseminação em 90,9% das fêmeas com pouca ou nenhuma dificuldade de inserção e em cerca de 4 minutos. Nesse mesmo trabalho, foram inseminadas fêmeas com 100, 20 ou 5×10^7 células espermáticas em 10 mL pelo método intrauterino profundo e um grupo controle pelo método IAC (3×10^9 células espermáticas/100 mL). Como resultado não houve diferença estatística entre os grupos em relação à taxa de parto e tamanho de leitegada. Porém, o endoscópio utilizado tem um custo elevado, além de ser um dispositivo frágil para ser utilizado na rotina produtiva de campo.

Em estudo subsequente, Martinez *et al.* (2002) inseminaram fêmeas de OP 2-6 utilizando um cateter flexível com 1,8 m de comprimento para avaliar o número mínimo de células espermáticas necessário por dose para a inseminação intrauterina profunda. Nesse estudo realizaram inseminações com $15,0 \times 10^7$, $5,0 \times 10^7$, $2,5 \times 10^7$ ou 1×10^7 células espermáticas em 10 mL e também um grupo controle com 3×10^9 células espermáticas em 100 mL. A passagem do cateter foi possível em 95,4% das fêmeas pluríparas em tempo médio inferior a 4 min. Como resultado reprodutivo, observaram que fêmeas inseminadas com 2,5 ou 1×10^7 espermatozoides apresentaram uma redução expressiva na taxa de parto (46,7 e 39,1%, respectivamente) comparado aos demais grupos (~80%), porém o número de espermatozoides não afetou o número de nascidos.

De modo semelhante, Dimitrov *et al.* (2007) avaliaram o desempenho reprodutivo de pluríparas e leitoas inseminadas com doses de menor volume e número de espermatozoides em três técnicas de IA: intrauterina profunda ($0,15 \times 10^9$ células espermáticas em 5 mL, n = 48), pós-cervical com deposição no corpo uterino ($1,5 \times 10^9$ células espermáticas em 50 mL, n = 51), e intracervical (3×10^9 células espermáticas em 100 mL, n = 80). Como resultado, as técnicas de IA não afetaram a taxa de parto, o número de leitões nascidos vivos e o peso da leitegada ao nascimento, mas o número de nascidos totais foi maior na IAC comparada com a intrauterina profunda.

Em resumo, apesar de possibilitar a inseminação com doses de menor volume e concentração, ambas as técnicas de deposição intrauterina profunda (cirúrgica ou não) ainda são limitadas à estudos científicos.

2.2.3 Inseminação artificial pós-cervical

Paralelamente ao desenvolvimento de técnicas para IA intrauterina profunda não cirúrgica, também se buscou o desenvolvimento de técnicas para deposição no lúmen uterino (logo após a cérvix). Resultando então no desenvolvimento da IAPC, ou também conhecida como inseminação artificial intrauterina (IAU). De acordo com Behan & Watson (2006), o cateter de inseminação pós-cervical consiste em um tubo de extensão no interior da pipeta tradicional, que se projeta cerca de 200 mm além da ponta do dispositivo, permitindo que o sêmen seja introduzido no útero sem causar lesão traumática na mucosa.

O primeiro relato sobre o uso de um dispositivo para a deposição intrauterina do sêmen foi feita por Hancock (1959). Porém, somente a partir de 2002 (WATSON & BEHAN, 2002) informações científicas de experimentos em condições comerciais começaram a ser relatadas. Dessa forma, Watson & Behan (2002) compararam a técnica de IAPC com a IAC, onde os operadores das granjas realizaram as inseminações em 3240 fêmeas de OP de 2 a 11. Para este estudo foram utilizadas DI com volume de 80 mL e três diferentes números de células espermáticas totais ($1, 2$ ou 3×10^9). Como resultado, a passagem do cateter foi facilmente possível em 95% das fêmeas e em relação ao desempenho reprodutivo, obteve-se taxa de parto em torno de 90% e mais de 12 leitões nascidos em todos os tratamentos, exceto na IAC com 1×10^9 (taxa de parto 65,8% e 10,3 nascidos). Além disso, os autores também inseminaram essas fêmeas (n = 1153) no ciclo subsequente pelo método IAC com 2×10^9 espermatozoides, a fim de determinar se a IAPC poderia ter algum efeito a longo prazo, porém não observaram diferença na taxa de

parto e tamanho de leitegada. Assim, concluíram que a IAPC permite a redução do número de espermatozoides, além de ser uma técnica simples, que exige um treinamento mínimo dos operadores, sem causar implicações no bem-estar animal ou aumentar a duração do procedimento. Similarmente, em condição comercial, Roberts & Bilkei (2005) avaliaram 859 fêmeas inseminadas pelo método IAC com doses de 3×10^9 espermatozoides em 80 mL, e 924 fêmeas inseminadas pela IAPC com 1×10^9 espermatozoides em 80 mL. Estes autores não encontraram diferença em taxas de prenhez e parto entre os grupos, porém observaram a redução de 2,1 leitões quando aplicada a IAPC, sendo que atribuíram a causa possivelmente ao treinamento e experiência dos operadores.

Desde então, diversos estudos buscaram determinar as melhores condições para a realização da IAPC, em relação à número de espermatozoides e volume da DI, os quais obtiveram diferentes resultados de desempenho reprodutivo, como pode ser observado na Tabela 1. Com base nos resultados desses estudos, padronizou-se nos sistemas de produção no Brasil, utilizar a IAPC em pluríparas com doses contendo cerca de 1,5 bilhão de células espermáticas em um volume de 45 – 50 mL.

Entretanto, inicialmente foram poucos os estudos que avaliavam a técnica de IAPC incluindo leitoas ou primíparas. A explicação era baseada nas menores dimensões do trato reprodutivo de fêmeas mais jovens (KAPELAŃSKI *et al.*, 2013; TUMMARUK & KESDANGSAKONWUT, 2014) e conseqüentemente a dificuldade de passagem do cateter pela cérvix, somada a ocorrência de sangramento. Portanto, o uso da IAPC era recomendado apenas para fêmeas de ordem de parto (OP) 2 ou mais. Assim de fato, incluindo primíparas em seu estudo, Serret *et al.* (2005) observaram redução no número de nascidos quando a IAPC foi aplicada nessa categoria e indicaram a necessidade de ajustes da técnica de acordo com a OP. Ainda, Diehl *et al.* (2006) observaram maior grau de dificuldade para passagem do cateter em primíparas que em pluríparas. Então, com o aprimoramento dos cateteres de inseminação (material mais flexível), a sugestão da remoção do contato com os machos durante a IAPC, bem como a maior experiência dos operadores, aumentaram as taxas de sucesso de aplicação da IAPC em fêmeas jovens (GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). E assim, o estudo realizado por Sbardella *et al.* (2014) foi o primeiro a avaliar e validar a IAPC especificamente para primíparas. No qual os autores relataram uma taxa de sucesso de passagem do cateter intrauterino em todas as inseminações em 86,8% das fêmeas primíparas. No mesmo estudo, os autores não observaram diferenças no desempenho reprodutivo quando comparada a IAPC ($1,5 \times 10^9$

células espermáticas em 45 mL) com a IAC ($3,0 \times 10^9$ células espermáticas em 90 mL). Com base nisso, a técnica tem sido amplamente utilizada também em primíparas (com percentuais menores de passagem que pluríparas) nos sistemas de produção no Brasil, utilizando as mesmas características de DI utilizadas na IAPC em pluríparas.

Tabela 1 - Estudos que realizaram inseminação artificial pós-cervical (IAPC) utilizando sêmen suíno refrigerado

Referência	n ¹	Técnica IA	Nº spz ($\times 10^9$) ²	Vol. (mL) ³	Taxa de Prenhez (%)	Taxa de Parição (%)	NT ⁴	Obs.
Watson & Behan (2002)	3240	IAC	1,0	80	66,2 ^a	65,8 ^a	10,3	
		IAC	2,0	80	91,1 ^b	91,8 ^b	12,6	
		IAC	3,0	80	91,3 ^b	91,1 ^b	12,5	
		IAPC	1,0	80	88,7 ^b	86,9 ^b	12,1	
		IAPC	2,0	80	92,6 ^b	92,5 ^b	12,3	
		IAPC	3,0	80	91,8 ^b	90,5 ^b	12,3	
Wolken <i>et al.</i> (2002)	26	IAPC	0,1	10	61,5	-	11,3 [*]	Apenas 1 IA
	23	IAPC	0,1	20	65,2	-	12,5 [*]	
	22	IAPC	0,5	20	77,3	-	12,6 [*]	
Rozeboom <i>et al.</i> (2004)	106	IAPC	0,5	85	86,6	78,0 ^a	9,4 ^a	
	106	IAPC	1,0	85	88,2	87,0 ^{ab}	10,0 ^{ab}	
	106	IAPC	4,0	85	96,5	94,4 ^b	11,0 ^{bc}	
	106	IAC	4,0	85	92,1	88,2 ^{ab}	11,6 ^c	
Dallanora <i>et al.</i> (2004)	304	IAC	3,0	90	97,2	94,3	11,8	
	304	IAPC	1,5	60	99,5	94,9	11,6	
Bennemann <i>et al.</i> (2004)	28	IAPC	1,0	60	82,1	-	15,9 [*]	Apenas 1 IA
	29	IAPC	2,0	60	96,5	-	14,9 [*]	
Mezalira <i>et al.</i> (2005)	221	IAPC	0,25	20	77,1	-	10,8 ^{a*}	Apenas 1 IA
		IAPC	0,5	20	85,5	-	12,8 ^{b*}	
		IAPC	1,0	20	84,7	-	12,2 ^{ab*}	
Bennemann <i>et al.</i> (2007)	154	IAPC	0,5	20	95,4	92,7	11,3 ^a	
	144	IAC	3,0	90	97,9	95,1	12,1 ^b	
Araújo <i>et al.</i> (2009)	60	IAC	3,0	100	-	90,0	11,5	
	60	IAPC	1,0	100	-	93,3	11,7	
	60	IAPC	1,0	50	-	86,7	11,4	
	60	IAPC	0,5	100	-	93,3	11,8	
	60	IAPC	0,5	50	-	90,0	11,4	
Hernández-Caravaca <i>et al.</i> (2012)	1716	IAC	3,0	80	88,6 ^a	82,3 ^a	13,7 ^a	
	1664	IAPC	1,5	40	91,7 ^b	86,8 ^b	14,1 ^b	
	1683	IAPC	1,0	26	90,4 ^{ab}	84,1 ^{ab}	13,9 ^{ab}	

^{a,b,c} Letras diferentes indicam diferença estatística significativa em cada experimento. *

Número de embriões recuperados entre 28 – 41 dias de gestação. ¹ Número de fêmeas inseminadas. ² Número de espermatozoides na dose inseminante ($\times 10^9$). ³ Volume da dose inseminante. ⁴ Número de leitões nascidos totais. Adaptado de García-Vázquez *et al.* (2019b).

Portanto, se atribui como uma das principais vantagens da IAPC comparada a IAC, a redução do número de células espermáticas e volume da DI sem afetar o desempenho reprodutivo das fêmeas, o que consequentemente permite a produção de um maior número de doses por ejaculado e otimização de machos com maior índice genético (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005; BENNEMANN *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012). Ainda, outras vantagens relatadas são o menor tempo para realização da técnica (MARTINEZ *et al.*, 2002; WATSON & BEHAN, 2002), redução da ocorrência de refluxo da dose inseminante (DALLANORA *et al.*, 2004; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012) e a redução nos custos com aquisição e manutenção de machos (DIEHL *et al.*, 2006).

De acordo com Hernández-Caravaca *et al.* (2012), o procedimento de IAC deve ser realizado de forma mais lenta, com duração média de $2,76 \pm 0,63$ min, já na IAPC a duração média para realização do procedimento é de $1,12 \pm 0,05$ min. A redução no tempo de execução do procedimento de IA pode estar relacionada ao menor volume da DI, bem como pelo fato de a técnica proporcionar a passagem do cateter pelos anéis cervicais e a deposição da dose ocorrer no lúmen uterino, o que permite o rápido influxo da DI (BORTOLOZZO *et al.*, 2015).

Outro fator importante a ser considerado quando se aborda a IA é a ocorrência de refluxo, por ser um dos principais mecanismos de perda de espermatozoides (SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013). Diversos autores relataram a redução da ocorrência de refluxo da DI na IAPC se comparada a IAC, isso deve-se possivelmente ao local de deposição da dose na IAPC (lúmen uterino) combinado ao menor volume, resultando na mais rápida distribuição da dose no trato reprodutivo da fêmea (STEVERINK *et al.*, 1998; MATTHIJS *et al.*, 2003; BENNEMANN *et al.*, 2004; DALLANORA *et al.*, 2004; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012). Porém, é importante salientar que apesar de reduzir a ocorrência, a IAPC não elimina a presença de refluxo (KNOX, 2016), sendo observada amplitude de zero até superior a 100% da dose infundida (devido a presença de secreções do trato reprodutivo da fêmea) em até 1 – 2 horas após a IA (STEVERINK *et al.*, 1998; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005). Amplitudes semelhantes também foram observadas na IAC.

Em contrapartida, a IAPC ainda apresenta como limitação, a não recomendação do uso em leitoas (BORTOLOZZO *et al.*, 2015; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). Além disso, quando utilizada a IAPC há necessidade de um controle ainda maior de higiene, pelo fato do cateter atingir o corpo uterino (LEVIS *et al.*, 2002), bem como um rígido controle da concentração e qualidade da DI (DIEHL *et al.*, 2006). Ainda, alguns autores

associaram uma maior ocorrência de lesões e sangramento no trato genital à tentativa de passagem do cateter pela cérvix, devido a força empregada quando há resistência para a introdução. Porém, a ocorrência de sangramento é maior em primíparas e leitoas (15 – 23%) se comparado com pluríparas (0 – 10%) (LEVIS *et al.*, 2002; BENNEMANN *et al.*, 2004; DALLANORA *et al.*, 2004; BENNEMANN *et al.*, 2007; SBARDELLA *et al.*, 2014; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a). Há relato de que quando diversas tentativas para passagem do cateter foram realizadas em leitoas, com um cateter convencional utilizado para pluríparas, grande parte delas (43/68) apresentaram lesões na mucosa evidentes no exame histológico ao abate (BEHAN & WATSON, 2006). Além disso, Bennemann *et al.* (2007) relatam que apesar de o sangramento não ter afetado a taxa de parto e prenhez, as fêmeas pluríparas que apresentaram sangramento tiveram 2,6 leitões a menos. Em outro estudo, Dallanora *et al.* (2004) observaram que fêmeas que tiveram sangramento apresentaram uma maior taxa de retorno (13,8%) do que aquelas que não tiveram sangramento (2,6%; $P < 0,01$). Por isso, é necessário o treinamento dos operadores e o cuidado para que não seja forçada a passagem do cateter quando há resistência, evitando assim lesões e sangramentos.

Ainda assim, Watson & Behan (2002) concluem que a IAPC é uma técnica simples, efetiva e segura, o que podemos confirmar nos resultados que têm sido obtidos com a IAPC em experimentos e em condições comerciais, bem como pela facilidade de aplicação da técnica pelos operadores das granjas. Além do mais, o sucesso de passagem do cateter pela cérvix em pluríparas tem sido superior a 90% (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005; BENNEMANN *et al.*, 2007) e em torno de 86% em primíparas (SBARDELLA *et al.*, 2014). Esses percentuais viabilizam e tornam a técnica amplamente utilizada nos sistemas de produção de suínos no Brasil. No entanto, ainda há necessidade de estudos adicionais e melhorias para que a técnica possa ser aplicada com sucesso em leitoas.

2.3 Contextualização do uso da inseminação artificial pós-cervical em leitoas

Conforme já abordado, diversos estudos avaliaram o uso da inseminação pós-cervical em pluríparas (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005; BENNEMANN *et al.*, 2007) e primíparas (SBARDELLA *et al.*, 2014) os quais obtiveram sucesso na aplicação da técnica próxima ou superior a 90% e índices reprodutivos semelhantes aos obtidos quando utilizada a IAC, sendo uma técnica já consolidada nestas categorias de fêmeas. Porém, ainda são poucos e recentes os estudos

da técnica aplicada em leitoas, os quais apresentam diferentes resultados e abordagens (DIMITROV *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; TERNUS *et al.*, 2017; ULGUIM *et al.*, 2018; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019).

A aplicação da técnica de IAPC em leitoas ainda é limitada pela dificuldade de transpasse do cateter pela porção cranial da cérvix (GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a). Isto pode ocorrer devido a diversos fatores, sendo que a cérvix da leitoa representa claramente uma barreira importante devido as suas menores dimensões (BEHAN & WATSON, 2006; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a). Portanto, devido à esta limitação, ainda há necessidade das granjas manterem as duas técnicas (IAC e IAPC) em sua rotina, bem como a produção de doses inseminantes com diferentes números de espermatozoides e volume pelas centrais de processamento de sêmen (BORTOLOZZO *et al.*, 2015; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b).

2.3.1 Uso da inseminação artificial pós-cervical em leitoas

Inicialmente, em um estudo comparando o desempenho de fêmeas inseminadas por diferentes técnicas de IA ainda nos anos 2000, Dimitrov *et al.* (2007) incluíram 47 leitoas nos grupos IAC e IAPC. Embora resultados significativos não tenham sido encontrados, as leitoas inseminadas pelo método de IAC (n = 28) obtiveram uma maior média numérica de leitões nascidos totais e nascidos vivos, e maior taxa de parição comparada às leitoas inseminadas pela técnica de IAPC (n = 19). Porém, nesse estudo não foram relatados percentuais de passagem do cateter.

De modo semelhante ao histórico da IAPC em primíparas, por diversos anos os estudos não incluíram as leitoas devido à dificuldade de passagem do cateter. Porém, assim como em primíparas, com o aprimoramento dos cateteres e protocolos de inseminação, foram retomados os estudos para a aplicação da IAPC em leitoas. Assim, em um dos primeiros estudos realizados exclusivamente em leitoas e abordando os percentuais de passagem do cateter, Hernández-Caravaca *et al.* (2017) observaram uma baixa taxa de leitoas inseminadas pela técnica (23,1%) pós-cervical quando uma pipeta multi-anéis para pluríparas (22 mm de diâmetro) e um cateter interno de 3,5 mm de diâmetro (n = 104) foram utilizados. Nas leitoas em que a IAPC não foi possível, foi realizada na segunda inseminação a aplicação de cloridrato de vetrabutina ou a deposição de um diluente aquecido na cérvix buscando maior dilatação cervical. No entanto, o uso de substâncias para aumentar a dilatação não melhorou expressivamente a taxa de sucesso de inseminação quando comparada com o diluente aquecido (34,2% a 23,8%,

respectivamente). Quando pipeta e cateter especialmente desenvolvidos para leitoas (16mm e 2,5 mm de diâmetro, respectivamente) foram utilizados, a taxa de sucesso foi maior (60,3 vs 37,0%) comparado ao uso de mesmo tipo de pipeta (16mm) porém com cateter de maior diâmetro (3,5mm). Parâmetros reprodutivos não foram afetados quando comparados com o método de inseminação artificial intracervical.

De modo semelhante, o estudo de Ulguim *et al.* (2018) teve como objetivo avaliar dois tipos de pipetas como guia para o cateter (pipetas para pluríparas ou para leitoas) e quantificar a taxa de sucesso e profundidade de inserção do cateter de IAPC (750 mm de comprimento e 3,5 mm de diâmetro) em leitoas na primeira inseminação. Como resultado, utilizando a pipeta para pluríparas foi possível a inserção de 10 cm ou mais em apenas 44% das leitoas e em 28% a inserção foi menor que 6 cm. Quando utilizada a pipeta de leitoas, também foi possível a passagem de 10 cm ou mais em 44%, porém em 40% a passagem foi menor que 6 cm. Portanto, maior dificuldade para a passagem foi observada no grupo em que foi utilizada a pipeta para leitoas, que de acordo com os autores pode estar relacionada à dificuldade de manipulação do cateter devido a menor fixação da pipeta para leitoas na cérvix.

Avaliando a aplicabilidade da IAPC em leitoas, em estudo de Ternus *et al.* (2017) a passagem do cateter intrauterino pela cérvix foi possível em 91,04% das leitoas, porém relataram algum grau de dificuldade, em pelo menos uma das inseminações, em 41,58%. Mesmo com a dificuldade de inserção do cateter, não houve influência na taxa de parto e número de leitões nascidos. Da mesma forma, não houve diferença no desempenho reprodutivo quando comparadas as técnicas IAPC e IAC. Deve-se ressaltar que a alta taxa de transpasse do cateter pela cérvix neste estudo pode estar associada com as características específicas da linhagem genética em estudo.

Recentemente, Suárez-Usbeck *et al.* (2019) também compararam o desempenho reprodutivo de leitoas inseminadas pela IAC e IAPC que possuíam 255 – 270 dias na inseminação, peso de 150 ± 5 kg e pelo menos 2 estros registrados. As leitoas foram inseminadas com doses contendo $1,5 \times 10^9$ espermatozoides/50 mL (IAPC) ou 3×10^9 espermatozoides/90 mL (IAC). Como resultado, apenas 22,5% das leitoas não permitiram a passagem do cateter, e avaliando as inseminações individualmente (total de 958 no tratamento IAPC) obtiveram uma porcentagem de passagem do cateter de 85,4% das inseminações. Além disso, menor ocorrência de refluxo foi observada na IAPC (4,3%) quando comparada a IAC (8,2%; $P < 0,001$). Além do mais, não houve diferença no desempenho reprodutivo entre os tratamentos ($P > 0,21$). Porém, os autores relataram que

a idade de inseminação do estudo foi superior ao que geralmente é utilizado (em torno de 220 – 230 dias), mas acreditam que a taxa de sucesso de passagem alta não deve-se a isto, mas ao fato do uso do cateter específico para leitoas (Magaplus N[®], Magapor, Ejea de los Caballeros, Spain) utilizado nesse estudo. No entanto, a idade das leitoas nesse estudo poderia influenciar a alta taxa de sucesso de aplicação da IAPC, porém não há estudos específicos que avaliaram o efeito desse fator sobre a passagem do cateter.

Considerando que ainda há dificuldades e limitações para o uso da IAPC em leitoas, Llamas-López *et al.* (2019) avaliaram um novo tipo de abordagem. Nesse estudo, utilizaram um cateter especialmente desenvolvido para leitoas, no qual a dose inseminante é depositada 8 cm além da parte cranial da pipeta convencional. Essa técnica foi considerada como inseminação artificial intracervical profunda (Dp-CAI), indicando uma alternativa para a IAPC e a IAC. A passagem desse cateter foi possível em 88,9% das leitoas. Não houve diferença nos parâmetros reprodutivos entre IAPC ($1,5 \times 10^9$ células espermáticas por dose) comparada a IAC ($2,5 \times 10^9$ células espermáticas por dose). Porém, os autores relatam que a infusão da dose foi realizada lentamente, devido a deposição ainda ser intracervical. Portanto, para que a IAPC possa ser aplicada em leitoas da mesma forma e que traga as mesmas vantagens que em pluríparas, ainda há necessidade da técnica ser aprimorada.

2.3.2 Características a serem consideradas para o uso da IAPC em leitoas

Os estudos realizados até o momento indicam que a maior dificuldade para aplicação da IAPC em leitoas é a passagem do cateter pela porção cranial (porção uterina) da cérvix. Assim, recentemente García-Vázquez *et al.* (2019a) avaliaram as partes do trato reprodutivo envolvidas na IAPC de fêmeas pluríparas e nulíparas, sendo elas: trato reprodutivo pré-uterino (vestíbulo e vagina), cérvix (porção vaginal, porção central e porção uterina), e corpo uterino. Para isto, os autores avaliaram a morfologia e histologia de 41 tratos reprodutivos de nulíparas (~220 dias de idade e peso médio de $165,76 \pm 8,5$ kg) e 38 tratos reprodutivos de pluríparas (OP 5 ou mais, com idade de aproximadamente 2,5 – 4 anos e $234,05 \pm 11,71$ kg). Como resultado, fêmeas pluríparas apresentaram comprimento maior de vagina e cérvix ($56,23 \pm 6,01$ versus $50,39 \pm 5,25$ cm; $P < 0,001$) e maior comprimento de cérvix ($25,93 \pm 4,64$ versus $21,65 \pm 3,39$ cm; $P < 0,001$) que nulíparas. Ainda, pluríparas apresentaram maior perímetro e área na porção uterina da cérvix ($8,50 \pm 1,44$ cm e $4,07 \pm 1,46$ cm², respectivamente) que nulíparas ($6,28 \pm 0,92$ cm e $2,46 \pm 0,56$ cm²; $P < 0,01$). Outra informação importante relatada é em relação a

formação muscular da cérvix, onde as pluríparas apresentaram mais tecido conjuntivo ($58,86\% \pm 10,78$ versus $67,69 \pm 13,38\%$, $P < 0,001$) e menos fibras musculares ($39,79 \pm 10,24$ versus $30,66 \pm 13,69\%$, $P < 0,001$) que as nulíparas. Portanto, essa característica de formação muscular pode explicar a maior capacidade de distensão da cérvix em pluríparas, bem como, a dificuldade de passagem do cateter de IAPC em leitoas. Ainda, os autores descreveram a cérvix em um formato mais ondulado que o tradicionalmente conhecido formato em “espiral ou saca-rolhas”, onde as pluríparas apresentaram maior espessura do molde ($0,56 \pm 0,05$ vs. $0,40 \pm 0,01$ cm, $P < 0,01$), maior distância entre dois cumes das ondulações ($1,72 \pm 0,13$ vs. $1,26 \pm 0,04$ cm, $P < 0,001$) e maior área dos cumes ($0,72 \pm 0,07$ vs. $0,55 \pm 0,04$ cm²) na porção uterina da cérvix. Entretanto, as leitoas apresentaram maior densidade de ondulações em 10 cm ($11,41 \pm 2,72$ vs. $8,51 \pm 2,02$, $P < 0,01$). Sendo assim, os autores indicam que há necessidade de novas abordagens e desenvolvimento de novos dispositivos que considerem as particularidades morfológicas e histológicas da cérvix para a aplicação da IAPC em leitoas.

Além disso, os bons resultados de passagem do cateter no estudo de Suárez-Usbeck *et al.* (2019) utilizando leitoas com idade superior ao que normalmente é recomendado para a primeira inseminação, dão indícios de que características (peso e idade, por exemplo), que até o momento não tem sido avaliadas em relação a passagem do cateter, podem ter efeito ou até mesmo determinar o sucesso de aplicação da IAPC. Visto que, já no estudo de Prunier *et al.* (1987) foi observada correlação significativa das características da cérvix (peso e comprimento) com a idade e peso corporal ($P < 0,05$), ou seja, maiores dimensões de cérvix foram observadas em leitoas mais pesadas e com idade superior. Ainda, fêmeas classificadas em estágios superiores de maturação ovariana (ovários no primeiro ciclo ou ovários com presença de corpos albicans) também apresentaram maiores dimensões do trato reprodutivo, inclusive da cérvix ($P < 0,05$) (PRUNIER *et al.*, 1987). Além disso, no estudo de Tummaruk & Kedsangakonwut (2014), maiores dimensões do trato reprodutivo também foram observados em fêmeas cíclicas comparadas à não-cíclicas, bem como maior comprimento de útero em leitoas com maior peso corporal (≥ 161 kg). Sendo assim, esses resultados podem sugerir que leitoas que apresentam um maior número de estros registrados antes da inseminação, maior peso, e idade superior tenham o trato reprodutivo mais desenvolvido e, conseqüentemente apresentam maior facilidade de passagem do cateter intrauterino.

Portanto, a variação na taxa de sucesso obtida entre os estudos pode estar relacionada à grande variação das características das leitoas (peso, idade, número de

estros prévios) utilizadas em cada um deles, as quais podem ter efeito sobre as dimensões do trato reprodutivo. Além disso, apesar de alguns estudos relatarem alta taxa de sucesso de aplicação da IAPC (TERNUS *et al.*, 2017; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019), bem como o desempenho reprodutivo não ter sido comprometido (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; TERNUS *et al.*, 2017; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019), a técnica de IAPC em leitoas continua não sendo utilizada em larga escala no Brasil. Sendo assim, há necessidade de um melhor entendimento do efeito das características das leitoas na primeira inseminação sobre a passagem do cateter, visto que essas características são relativamente fáceis de mensurar na rotina da granja, e compreendê-las pode ser fundamental para recomendação da utilização ou não da IAPC em leitoas.

2.3.3 Características para a primeira inseminação e importância da viabilização da IAPC em leitoas

A seleção das leitoas ocorre quando atingem cerca de 150 dias de idade, sendo os critérios de seleção (fenotípicos e genotípicos) determinados pela genética em questão, onde são selecionadas em média 65 – 70% das fêmeas (WENTZ *et al.*, 2007; WENTZ *et al.*, 2011). Além disso, leitoas normalmente atingem a puberdade com cerca de 150 – 220 dias de idade, sendo definida pela ocorrência do primeiro estro e ciclicidade regular subsequente, com manifestação de estros regulares em intervalos de 18 a 24 dias, sendo que para isto é necessário que as leitoas atinjam um certo grau de desenvolvimento corporal e fisiológico (MELLAGI *et al.*, 2006; SOEDE *et al.*, 2011).

Para a primeira inseminação alguns critérios importantes devem ser considerados, sendo os principais, o número de estros prévios à inseminação e o peso corporal (KUMMER *et al.*, 2005; WENTZ *et al.*, 2007). Em relação ao número de estros se relata que a inseminação no estro puberal (primeiro estro) pode comprometer a taxa de parto e o tamanho da leitegada, sendo então recomendada a inseminação somente a partir do segundo estro e quando as leitoas atingirem peso entre 135 – 140 kg na inseminação (FOXCROFT *et al.*, 2004; KUMMER *et al.*, 2005). Entretanto, as recomendações de características das leitoas à primeira cobertura também variam de acordo com a genética.

Devido à alta taxa de reposição de fêmeas nos sistemas de produção de suínos (cerca de 45 – 50%), as leitoas representam em torno de 8 a 10% do plantel de matrizes, além de comporem em média, 18% do grupo de cobertura (BORTOLOZZO & WENTZ, 2006; WENTZ *et al.*, 2007). Assim, devido ao número expressivo de animais que as leitoas representam no plantel e as particularidades de manejo que estas exigem, aprimorar as

técnicas aplicadas à esta categoria de fêmeas e otimizar seu potencial produtivo pode trazer benefícios aos sistemas de produção, aos programas de melhoramento genético e a indústria como um todo (BORTOLOZZO & WENTZ, 2006; BORTOLOZZO *et al.*, 2009; LLAMAS-LÓPEZ *et al.*, 2019). Além do mais, viabilizar a técnica em leitoas permitirá a padronização do tipo de dose produzida pelas centrais de processamento de sêmen, bem como os operadores das granjas realizarão em sua rotina apenas um tipo de técnica.

Em resumo, é relatado por grande parte dos estudos, bem como pelos operadores dos sistemas de produção, que a maior barreira para a aplicação da IAPC em leitoas em larga escala é a dificuldade de passagem do cateter pela cérvix. Assim, apesar dos bons resultados obtidos recentemente, a IAPC em leitoas não tem sido utilizada na maior parte dos sistemas de produção, por isso precisa ser melhor compreendida antes de uma recomendação de sua utilização em escala comercial (GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). Portanto, há necessidade de compreender e identificar fatores que podem influenciar ou até mesmo determinar o sucesso de aplicação da IAPC em leitoas, para que assim, a técnica possa ser aprimorada e posteriormente utilizada comercialmente.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

ARTIGO À SER SUBMETIDO

Applicability of post-cervical artificial insemination in gilts and reproductive performance using 1.5 or 2.5 billion sperm cells in the insemination dose

Kelly Jaqueline Will^a, Danielle Fermo Silveira^a, Mariáh Negri Musskopf^a, Ana Paula Gonçalves Mellagi^a, Mari Lourdes Bernardi^b, Fernando Pandolfo Bortolozzo^a, Rafael Kummer^c, Rafael da Rosa Ulguim^{a}*

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Veterinária, Setor de Suínos, Av. Bento Gonçalves, 9090, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brazil

^b UFRGS, Faculdade de Agronomia, Departamento de Zootecnia, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brazil.

^c Master Agroindustrial, 89560-000, Videira, Santa Catarina, Brazil

**E-mail address corresponding author: rafael.ulguim@ufrgs.br*

Abstract

This study evaluated the applicability of post-cervical artificial insemination (PCAI) in gilts and the impact of age and different body characteristics of the gilts on the success rate for cannula insertion. Additionally, reproductive performance was evaluated for PCAI and cervical artificial insemination (CAI), considering different semen dose sizes. A total of 636 gilts were assigned in a 2 × 2 factorial design: two artificial insemination techniques (CAI and PCAI) and two semen dose sizes (1.5×10^9 viable sperm cells/50 mL; or 2.5×10^9 viable sperm cells/80 mL). Regardless of the insemination dose used, for the 319 gilts assigned to PCAI, a characterization of the intrauterine cannula insertion was performed. For all groups, reproductive performance, occurrence of bleeding and semen backflow during all inseminations were recorded. Two subgroups

were evaluated regarding the time expended to perform the insemination (n = 380), and the semen backflow collected during 1 h after insemination (n = 114). The success rate for intrauterine cannula insertion, based on a successful insertion in all inseminations performed during estrus, was 58.93%. Additionally, greater possibility (> 60%; $P \leq 0.04$) of cannula insertion was observed in heavier gilts at the first detected estrus (≥ 124 kg), as well as in older gilts (≥ 225 d) and greater body condition score (> 3) at insemination. There were no differences among the groups in pregnancy rate ($\geq 95.26\%$; $P = 0.23$), farrowing rate ($\geq 93.67\%$; $P = 0.54$), total piglets born (≥ 14.45 ; $P = 0.45$), as well as, bleeding and backflow during insemination. However, the percentage of semen backflow volume and percentage of sperm cells in the backflow were lower in gilts inseminated by CAI with 1.5 billion sperm cells/50 mL ($P < 0.01$) than in the other groups. There was no expressive reduction in time expended to perform PCAI compared to CAI. However, gilts inseminated with 1.5 billion sperm cells/50 mL showed a lower total time to inseminate than all other groups ($P < 0.01$). In conclusion, PCAI remains limited for gilts due to the low success rate for cannula insertion. The reproductive performance was not affected by the AI technique (PCAI or CAI) or semen dose size (1.5 billion viable sperm cells in 50 mL or 2.5 billion viable sperm cells in 80 mL).

Keywords: Nulliparous, Intrauterine insemination, PCAI, Cervix, Intrauterine cannula

1. Introduction

Post-cervical artificial insemination (PCAI) allows deposition of the semen dose in the uterine body and consequently enables the reduction of sperm cells and the volume of the insemination dose (WATSON & BEHAN, 2002; SORIANO-ÚBEDA *et al.*, 2013; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). In the past years, several studies aimed to determine

insemination dose volume and the number of sperm cells required for PCAI. Those studies did not observe differences in reproductive performance using 0.5 – 2.0 billion sperm cells in a volume of 26 – 85 mL for PCAI or 2.0 – 4.0 billion sperm cell in a volume of 80 – 100 mL for cervical artificial insemination (CAI), in primiparous and pluriparous sows (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; ROZEBOOM *et al.*, 2004; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012; SBARDELLA *et al.*, 2014). Consequently, the PCAI enable an increase in the number of semen doses per ejaculate, optimizing the use of high index boars (STEVERINK *et al.*, 1998; BENNEMANN *et al.*, 2004; DALLANORA *et al.*, 2004; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012) and allowing a reduction in the time expended to perform insemination (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012).

The success rate of intrauterine cannula insertion is higher than 90% in pluriparous sows (WATSON & BEHAN, 2002; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005) and around 86% in primiparous sows (SBARDELLA *et al.*, 2014), which consolidate the PCAI for these parities. However, considering the difficulty for cannula insertion through the cervix the use of PCAI remains limited for gilts, needing the use of CAI (GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). Therefore, taking into account that gilts represent about 18% of the females in breeding groups, improvements in the artificial insemination (AI) technique could optimize the production system (BORTOLOZZO & WENTZ, 2006; LLAMAS-LÓPEZ *et al.*, 2019).

Although few trials evaluating PCAI in gilts have been reported, currently, the studies for improving the use of PCAI in gilts have been intensified using different approaches and devices. The success rate for cannula insertion in gilts range from ~20 to 60% (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; ULGUIM *et al.*, 2018b) until 91% when using a specific genetic line (TERNUS *et al.*, 2017). The differences observed in these studies could be related to the method for definition of success rate, and also the type of the

intrauterine cannula used. Furthermore, there is an extensive variation among the studies regarding the bodyweight at insemination (~140 – 173 kg) and the minimum number of previous detected estrus (1 – 3) which might affect the success rate for cannula insertion (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; TERNUS *et al.*, 2017; ULGUIM *et al.*, 2018b; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019). However, the reproductive performance was not affected when comparing PCAI (1.5×10^9 sperm cell in 40 – 45 mL) and CAI ($2.5 - 3 \times 10^9$ sperm cells in 80 – 90 mL) (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; TERNUS *et al.*, 2017; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019). Thus, different intrauterine cannulas should be evaluated considering the anatomy of the gilt's cervix (GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a), as well as a better understanding of the gilt's morphological characteristics.

Usually, studies comparing IUAI and CAI did not consider using the same insemination dose (same volume and number of sperm cells) for both techniques. In this way, there is a lack of information for optimizing the number of sperm cells and also volume used for gilts, which could be considered as an alternative for the practical routine of the farms where the success rate for cannula insertion is low. Therefore, the first objective of this study was to evaluate the applicability of PCAI in gilts using a cannula specifically designed for this category of females and the impact of age and different body characteristics of the gilts on the success rate for cannula insertion. Secondly, to compare the reproductive performance between PCAI and CAI using, for both techniques, insemination doses with 1.5 billion viable sperm cells in 50 mL or 2.5 billion viable sperm cells in 80 mL.

2. Material and methods

The research committee of the Federal University of Rio Grande do Sul approved the use of animals in this experiment (#37323).

2.1 Local and animals

The study was carried out in a gilt development unit (GDU) with 2000 gilts located in the Santa Catarina State (South of Brazil). Six hundred and thirty-six gilts (636) (Agroceres PIC Camborough[®], Patos de Minas, MG, Brazil) were used. The gilts arrived at the GDU at approximately 180 days of age and puberty stimulation and detection of estrus started on the day after arrival, using physical contact with a sexually mature boar once a day. At the first detected estrus after arrival, gilts were weighed, and those with > 100 kg were selected and moved to individual crates with a partially slatted floor. At the second detected estrus (moment of insemination), the age, body condition score (BCS), and caliper score (KNAUER & BAITINGER, 2015) were recorded, excluding from the experiment gilts with health problems and BCS below 2.5 and above 4.0 on a scale of 1 to 5 (YOUNG *et al.*, 2004).

2.2 Experimental design

According to weight at the first detected estrus, and age, caliper score and BCS just before insemination, gilts were assigned into four groups in a 2 × 2 factorial design, considering the following factors: two artificial insemination techniques (CAI – cervical artificial insemination and PCAI – post-cervical artificial insemination), and two different semen dose sizes (1.5×10^9 viable sperm cells in a volume of 50 mL; or 2.5×10^9 viable sperm cells in a volume of 80 mL). The CAI was performed in the presence of a sexual mature boar, using a disposable foam tip catheter for cervical fixation (Ponta de Espuma[®], Magapor, Zaragoza, Spain). The PCAI was performed in the absence of the boar for at least one hour after detection of estrus, using a foam tip catheter for cervical fixation and an intrauterine polypropylene cannula (~65 cm length and ~3 mm of diameter) specially developed for gilts (Magaplus N[®], Magapor, Zaragoza, Spain).

2.3 Housing and feeding

The gilts arrived at the gilt development unit (GDU) with approximately 180 days of age and were group-housed in pens. At the first detected estrus after the arrival, gilts were weighted and moved to individual crates with a partially slatted floor, where they were inseminated at the subsequent estrus. The gilts were moved to the sow farm at around 35 days of pregnancy.

During all gestation period, standard corn–soybean-based diet (3.29 Mcal ME per kg, 13.4% crude protein, and 0.6% digestible lysine) was used. From arrival at GDU until breeding, the gilts were fed 3 kg/day, and after insemination until day 35 of gestation, they were fed 2 kg/day. The gilts were moved to the sow farm at around 35 days of pregnancy where they were daily feed with 1.8 kg from arrival to day 80 of gestation, and then with 2.2 kg from day 81 of gestation until farrowing. Gilts were individually housed on partially slatted floor during gestation. Water was available *ad libitum* throughout the whole period.

2.4 Semen collection and processing

Heterospermic semen doses (two boars in each pool) with more than 70% motility and less than 20% morphological defects were used. Ejaculates were analyzed using computer-assisted sperm analysis (CASA, AndroVision[®] system, Minitub GmbH, Tiefenbach, Germany) and diluted in Androstar Plus[®] (Minitub GmbH, Tiefenbach, Germany) and stored for a maximum of 72 h at 16 to 18°C. All insemination doses were produced in split-sample, i.e., the same pool of ejaculates was used to produce semen doses of 1.5 or 2.5 billion sperm cells.

2.5 Detection of estrus and artificial insemination

Detection of estrus was performed once a day (8 am) by fence-line contact with a sexually mature boar in association with the back-pressure test. Gilts were considered in estrus when exhibiting a standing reflex. Only gilts at the second estrus (after arrival at the GDU) were inseminated. The first insemination was performed at the onset of estrus and repeated at 24-h intervals while gilts were in standing estrus (maximum of three doses).

At the moment of PCAI, the following evaluations were performed: number of attempts at cannula insertion (each attempt lasted 30 s at 5-min intervals, the first right after the catheter insertion, with a limit of three attempts); insertion depth of the cannula (measured from the foam tip border up to the cannula tip border); total or partial insertion. In this way, 7 to < 11 cm insertion depth was considered partial, 11 cm or more were considered total insertion, and gilts with an insertion lower than 7 cm after the third attempt were removed from the PCAI group. In those gilts that did not allow the cannula insertion in one of the inseminations ($n = 131$), CAI instead of PCAI was performed in the subsequent AI, i.e., no attempts at cannula insertion were performed in the subsequent insemination. The success rate of the PCAI technique was defined as the percentage of gilts that allowed cannula insertion through the cervix (total or partial) in all of the inseminations performed during estrus. Thus, gilts in which PCAI was not possible in all inseminations were removed from comparisons of reproductive performance among groups.

The occurrence of bleeding and semen backflow during AI was recorded as presence or absence. The occurrence of semen backflow during AI was also measured in visual scores from 0 to 3, where 0 – no backflow, 1 – backflow from vulva in drops, 2 – backflow of less than 30% of the dose, 3 – more than 30% of the dose. Additionally, 151

gilts were randomly evaluated for backflow within one hour after insemination. Semen backflow was collected using a human colostomy bag fixed around the vulva right after the removal of the catheter. Gilts that lost the bag, sat upon, or urinated inside the bag, in at least one of the inseminations, were removed from the analysis. The semen backflow could be collected in all inseminations in 114 gilts (~30/group). Total backflow volume was measured in a graduated tube, and the number of spermatozoa was counted in an Neubauer[®] Improved chamber (Karl Hecht GmbH & Co.KG, Sondheim/Rhön, Germany).

Another group of 380 gilts was randomly evaluated to determine the time used to perform the insemination in each group. All these gilts had the time recorded in all inseminations performed during estrus, and then the mean was measured. The total time to perform AI was measured from the beginning of catheter insertion to the end of dose infusion (inseminating one gilt at a time). Additionally, the total time to AI without intervals between attempts was measured by removing the waiting time between attempts (5-min between each attempt), i.e., only the time spent inserting the catheter and cannula plus the time for dose infusion were considered. Besides that, to compare all the groups, the time required to inseminate 100 gilts was estimated based on a practical point of view, considering that one operator could inseminate four gilts simultaneously by CAI (using breeding saddle for self-insemination) and one gilt at a time by PCAI (considering the time without intervals). Then, for CAI groups, the time to inseminate 100 gilts = (total time/4 gilts) × 100; and for PCAI groups time to inseminate 100 gilts = total time without intervals × 100.

Pregnancy detection was performed from days 23 to 28 after AI with transabdominal real-time ultrasound equipment with a convex transducer (SonoScape[®], A6V, Co. Ltda, Shenzhen, China).

2.6 Statistical analyses

The statistical analyses were carried out using the Statistical Analysis System – SAS[®] 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). A total of 319 gilts were included for the analysis of the cannula insertion through the cervix. In this group, descriptive analysis was performed for cannula insertion in all inseminations during the estrus and also considering a classification by insertion depth of the cannula. In those gilts where the insertion of the cannula was possible (partial or total) in the first or second AI, the GLIMMIX procedure was performed using a multinomial distribution for analysis of cannula insertion in the subsequent inseminations (second or third, respectively). The scores of semen backflow during insemination in the first or second insemination were analyzed using multinomial distribution (GLIMMIX). Associations between the success of cannula insertion and the characteristics of the gilts were created. In this way, the frequency of cannula insertion was analyzed according to three classes of weight at first detected estrus (< 124 kg, 124 – 140 kg, > 140 kg), age at insemination (\leq 224 days, 225 – 241 days, \geq 242 days), BCS at insemination (2.5, 3, >3), and caliper score at insemination (<13, 13-14, >14). For these classes, the cannula insertion in all inseminations was analyzed as a binary response by GLIMMIX procedure and using logistic regression, including the week as a random effect.

Due to the impossibility of cannula insertion through the cervix (in all inseminations), a total of 131 gilts, initially allocated in the PCAI group, were removed from the reproductive analysis. Additionally, one gilt from the PCAI group died before pregnancy detection. Thus, a total of 504 gilts were included in the analysis of reproductive performance. For this group, a factorial analysis has considered the effect of insemination technique, semen dose size, and their interaction using the GLIMMIX

procedure. Variables including pregnancy rate (PR), farrowing rate (FR), frequency of bleeding, and semen backflow during AI were analyzed as a binary response using logistic regression. Continuous variables such as the number of piglets born (TPB), number of piglets born alive (TBA), percentage of volume and semen backflow, and time to perform the insemination were analyzed by GLIMMIX with comparisons of means by Tukey-Kramer test. In all models, the week was inserted as a random variable when fitted in the model. Percentage of stillborn piglets and mummified fetuses were analyzed using the NPAR1WAY procedure and the groups compared by the Kruskal-Wallis test. According to the variable type, results are expressed as least squares (LS) means \pm standard error of the mean (SEM) or percentages. Differences with $P \leq 0.05$ were considered statistically significant.

In a segregated analysis, gilts initially allocated in PCAI groups that did not allow the cannula insertion through the cervix and received at least one CAI were included in a “mixed group”. In this sense, the FR and TPB of the “mixed group” were compared to CAI and PCAI groups without considering the semen dose size.

3. Results

3.1 Insertion of the cannula through the cervix for PCAI in gilts

On average, the gilts assigned in the PCAI groups in this study weighted 132.25 ± 0.68 kg at the first detected estrus, and at the insemination, they were 233.90 ± 0.71 days old, BCS of 3.04 ± 0.02 and caliper score of 13.58 ± 0.09 . The success rate for PCAI cannula insertion through the cervix (partial or total) in all inseminations during estrus was 58.93% (188/319). Insertion of the cannula was not possible in 26.33% (84/319) of the gilts in the first AI, 18.78% (43/229), and 6.35% (4/63) in the second and third AI, respectively. However, from those gilts in which the cannula for PCAI was inserted

(partial or total) in the first AI, the insertion in all other inseminations was possible in 80% (188/235) of them.

Total insertion of the cannula (≥ 11 cm) was observed in 74.04% (174/235), 75.27% (140/186), and 67.80% (40/59) of the gilts in the first, second and third AI, respectively. Furthermore, when a partial insertion of the cannula was performed in the first or second AI, a higher odds ratio (10.68 and 16.95, respectively; $P < 0.01$) for no passage or partial insertion (7 to < 11 cm) in the subsequent inseminations were observed (Figure 1). When considering only the gilts in which a total insertion of cannula was possible in the first AI, they had a subsequent insertion success rate in the other inseminations (partial or total in the second and/or third AI) higher (89.08%; 155/174; $P < 0.01$) than those with partial insertion in the first AI (54.10%; 33/61). The total insertion of the cannula in the first or second AI was associated with a higher odds ratio (3.95 and 5.43, respectively; $P < 0.01$) for the absence of semen backflow during insemination compared with the partial insertion of the cannula (Figure 2). On average, two attempts were necessary for the insertion of the cannula in first, second, or third AI. Additionally, cannula insertion was possible in the first attempt in 31.25% of the gilts and 35.21% and 33.54% in the second or third attempt, respectively.

Gilts with higher weight at the first detected estrus, and higher age and BCS at insemination had a better success rate for cannula insertion compared to categories of lower weight, age, and BCS (Figure 3; $P \leq 0.04$), whereas the caliper score did not affect ($P = 0.17$) the success rate.

3.2 Reproductive performance of gilts using PCAI or CAI

The gilts had on average 132.67 ± 0.54 kg at the first detected estrus, and at insemination 234.85 ± 0.57 days of age, BCS of 3.05 ± 0.02 and caliper score of $13.59 \pm$

0.07, with no difference among groups ($P \geq 0.48$). Total number of inseminations per gilt did not differ among groups of evaluation (2.29 ± 0.05 ; $P = 0.78$).

The PR, FR, TPB, and TBA were not affected ($P \geq 0.23$) by the interaction of AI technique (PCAI or CAI) and semen dose size (1.5 or 2.5×10^9 viable sperm cells). Also, differences for these reproductive parameters, considering the factors individually (AI technique or semen dose size) were not observed ($P \geq 0.65$; Table 1). There was no effect of groups of evaluation on the percentage of stillborn ($P = 0.32$) and mummified piglets ($P = 0.60$).

Taking into account all the inseminations performed, the occurrence of semen backflow or bleeding during insemination was not affected ($P \geq 0.08$) by the group of evaluation or their interaction (Table 1). However, when considering the evaluation of the volume of semen backflow collected by colostomy bag during one hour after insemination, there was an effect for the interaction of AI technique and semen dose ($P = 0.04$). The PCAI group with 1.5 billion sperm cells had a higher percentage of backflow volume than CAI with 1.5 billion (54.11% and 41.24%, respectively), but both did not differ from the CAI and PCAI groups with 2.5 billion sperm cells (48.16% and 45.56%, respectively). Similarly, for percentage of sperm cells in the backflow there was also an effect for the interaction of AI technique and semen dose ($P = 0.05$), that is, the group CAI with 1.5 billion sperm cells had lower percentage of sperm cells in the backflow (19.19%) than CAI with 2.5 billion (29.13%) and PCAI with 1.5 (30.70%) or 2.5 (30.35%) billion sperm cells.

Concerning the total time spent to perform AI, an interaction of technique and semen dose size was observed ($P < 0.01$). Gilts inseminated by CAI with 1.5 billion sperm in 50 mL showed a lower time to inseminate compared to all other groups (Table 2). However, when considering only the time for semen dose infusion, the PCAI groups with

1.5 or 2.5 billion sperm cells had a reduced time compared to CAI with 1.5 or 2.5 billion sperm cells that also differ from each other ($P < 0.01$). This result was similar to the total time observed when the waiting time spent between attempts for cannula insertion was excluded. In this way, time to inseminate using PCAI with 1.5 or 2.5 billion sperm was lower compared to CAI with 1.5 or 2.5 billion sperm that also differ from each other ($P < 0.01$; Table 2).

Specifically, for those gilts inseminated by PCAI without considering the number of sperm cells used in the semen dose, the FR and TPB were not affected by the depth of cannula insertion, number of attempts for insertion, bleeding or semen backflow during AI (Table 3). Additionally, the “mixed group” did not differ from PCAI and CAI in FR (96.95%, 94.12%, and 94.64%, respectively; $P = 0.50$), and TPB (14.83 ± 0.27 , 14.58 ± 0.24 , and 14.49 ± 0.19 ; $P = 0.51$).

4. Discussion

PCAI is a successful AI technique applied to pluriparous and primiparous sows (WATSON & BEHAN, 2002; BENNEMANN *et al.*, 2004; DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005; SERRET *et al.*, 2005; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012; SBARDELLA *et al.*, 2014), but for some time, it has not been recommended for gilts. The main challenge to PCAI application in gilts is the difficulty of cannula insertion through the cervix, due to smaller dimensions of the reproductive tract compared to pluriparous sows (KAPELAŃSKI *et al.*, 2013; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a). However, just few studies included this category of females in trials and used a cannula specifically designed for gilts. Therefore, intending to evaluate the PCAI applicability for gilts, the present study is the first, to the best of our knowledge, to describe the association of corporal characteristics and age with the possibility of cannula insertion, as well as, to compare the reproductive performance

using two sizes of insemination dose for both AI techniques in gilts (CAI and PCAI). Additionally, an extensive characterization of the cannula insertion through the cervix and time to use this technique in the farm routine was described. The success rate for cannula insertion reached in our study (58.93%) confirms that the application of PCAI in gilts is still a challenge for a large-scale use, even using a specific cannula for gilts. This result agrees with those obtained by other studies, which reached 19.6% to 60.3% success rate depending on the device used (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; ULGUIM *et al.*, 2018b). In contrast, other authors reported 85.4% to 91.04% (TERNUS *et al.*, 2017; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019) success rate for PCAI in gilts, but 41.6% of the gilts showed some degree of difficulty with cannula insertion (TERNUS *et al.*, 2017). The differences among the studies in the success rate for PCAI might be related to the genetic line, age, and body size characteristics of the gilts used, also by the definition of success rate.

The present results suggest that the first AI is a good predictor of the final success rate for PCAI, considering that 25% of the gilts that did not allow the cannula insertion were identified at this moment. Additionally, when observing the total insertion of the cannula at the first insemination, almost 90% of gilts allowed the PCAI in subsequent inseminations. It is also true that when a partial insertion was observed in the first or second AI, the success rate of cannula insertion in the subsequent insemination was reduced. This repeatability was similar to that observed in primiparous sows (SBARDELLA *et al.*, 2014). The partial insertion depth of the cannula in our study also resulted in a higher chance for intense semen backflow.

Approximately 60% of gilts needed at least two attempts for cannula insertion. This could be related to the necessity of waiting time for cervix relaxation after the first catheter insertion. Although the frequency of cervical contraction has been reported to increase in the presence of a boar in weaned sows (ULGUIM *et al.*, 2018a), the effect of

catheter stimulation on cervical contraction is rarely reported in the literature. Thus, from a practical point of view, our results suggest the first attempt for cannula insertion approximately 5 minutes after catheter insertion for facilitating PCAI. The number of attempts for cannula insertion did not affect the farrowing rate and number of piglets born. Several attempts at cannula insertion could cause injuries to the reproductive tract (BEHAN & WATSON, 2006), which could increase the chance of bleeding, but no differences among PCAI and CAI in bleeding occurrence during insemination were observed in this study. Also, the bleeding did not have a negative effect on the reproductive performance, as reported by other authors (ROZEBOOM *et al.*, 2004; SERRET *et al.*, 2005; BENNEMANN *et al.*, 2007).

In the present study, gilts that allowed cannula insertion ≥ 7 cm were considered successfully inseminated by PCAI. This minimum depth was determined considering the peculiarities of the gilt's reproductive tract, and the suggestion that cannula insertion deeper than 6 cm could be sufficient for IUAI in gilts (ULGUIM *et al.*, 2018b). Although in our study insertion ≥ 7 cm was considered PCAI, other authors considered the insemination using a new cannula with 8 cm depth from the foam tip as deep-intracervical artificial insemination (deep-CAI) (LLAMAS-LÓPEZ *et al.*, 2019). The deep-CAI method was successfully applied in 88.90% of the gilts, considering a slow infusion of the semen dose (LLAMAS-LÓPEZ *et al.*, 2019), as opposed to that performed in our study where the semen dose was quickly infused. In both studies, reproductive performance was not impaired, which suggests that a cannula insertion deeper than 7 cm could be considered for insemination.

Investigating the factors associated with cannula insertion, gilts with greater body size and higher age presented a greater possibility for successful cannula insertion. As described by Suárez-Usbeck *et al.* (2019) a higher success rate was achieved using the

same cannula as the present study. However, their study contemplated gilts with 255 – 270 days of age and 150 ± 5 kg at insemination, which is higher than that usually recommended for the first insemination (~220 d) as well as higher than the mean of our study. The age and body size (BCS and weight) are associated with the development of the reproductive tract (KAPELAŃSKI *et al.*, 2013; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a), which may explain the effect on the success of cannula insertion as demonstrated in our study.

Concerning reproductive performance, no differences were observed among the groups (PCAI or CAI with doses containing 1.5 or 2.5 billion sperm cells). This is an important result since the reproductive performance was maintained even when CAI was performed with 1.5 billion sperm cells in 50 mL (the same dose used commercially in primiparous and pluriparous sows for PCAI). Besides the satisfactory reproductive performance previously reported by Bennemann *et al.* (2005) using CAI with 1.5 billion sperm cells in gilts, the volume of the insemination dose (90 mL) was higher than used in this study (50 mL). Moreover, just a few and older studies evaluated the reduction of the sperm cells and also the volume of the insemination dose for CAI in gilts (STRATMAN & SELF, 1960; BAKER *et al.*, 1968), which makes it difficult to compare with the current performance of modern gilts. However, the reproductive performance observed in the present study was similar to others that also compared PCAI and CAI in gilts, although they used doses containing 2.5–3.0 billion sperm cells in 80–90 mL for CAI (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; TERNUS *et al.*, 2017; LLAMAS-LÓPEZ *et al.*, 2019; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019). Therefore, our results suggest the use of semen dose with 1.5 billion sperm cells in 50 mL for CAI in gilts. However, it is essential to emphasize that a high quality of the dose (about production, storage, and transportation), and high-quality insemination procedure must be provided.

The occurrence of semen backflow did not differ among groups and was not associated with reproductive performance, which agrees with the previous studies (DALLANORA *et al.*, 2004; MEZALIRA *et al.*, 2005). Regarding the semen backflow collected during 1 h after insemination, CAI with 1.5 billion sperm cells had the lowest percentage of spermatozoa in the backflow and also the lowest percentage of volume. It is supposed that the lower volume of the semen dose used in this case (1.5 billion sperm cells in 50 mL), associated with the stimuli of the uterine contractions by the fence-line boar contact during CAI, could explain the lower percentage of backflow. Contrarily, during PCAI method boar exposure was not provided. Also, this lower occurrence of semen backflow within 1 h after insemination with 1.5 billion sperm cells could be related to the good reproductive performance of this group. It is reported that losses of semen by backflow higher than 5% during CAI with low semen doses (1 billion sperm cells) negatively affects reproductive performance (STEVERINK *et al.*, 1998). Therefore, this fact emphasizes the necessity of a higher control of the insemination procedure if CAI with 1.5 billion sperm cells in 50 mL is applied.

From a practical point of view, considering the estimative for the breeding of 100 gilts, we concluded that the time spent for PCAI compared to CAI was not optimized. Even that in sows the expressive reduction of time expended to perform the AI was associated as an advantage for PCAI (HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2012; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019), in gilts it was not observed. This result can be explained by the difficulty in insertion and consequently, the time needed to insert the cannula, which usually does not occur in pluriparous and primiparous sows. Additionally, in the case of CAI with 1.5 billion sperm cells, the subtle reduction in the time to breed 100 gilts can be associated with the lower volume of dose (50 mL), which provides a faster influx.

5. Conclusions

In conclusion, the success rate for cannula insertion in gilts in all inseminations was 58.93%. Higher weight, BCS, and age increased the success rate percentage for cannula insertion. Reproductive performance was not affected by the AI technique (PCAI or CAI) or the number of sperm cells in the semen doses (1.5 billion sperm cells in 50 mL or 2.5 billion sperm cells in 80 mL) as well as, by the occurrence of bleeding or semen backflow. These results suggest that both CAI or PCAI in gilts can be performed with semen doses containing 1.5 billion viable sperm cells in 50 mL, what would make it possible to boar studs produce only one type of semen dose. However, it is essential to emphasize that a high quality of the dose and high-quality insemination procedure must be provided.

Acknowledgments

The authors are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) for their financial support. Our sincere thanks to Master Agroindustrial (Videira, Santa Catarina, Brazil) for their partnership.

References

- BAKER, R. D.; DZIUK, P. J.; NORTON, H. W. Effect of volume of semen, number of sperm and drugs on transport of sperm in artificially inseminated gilts. **Journal of Animal Science.** v. 27, n. 1, p. 88-93, 1968. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1968.27188x>
- BEHAN, J.; WATSON, P. A field investigation of intra-cervical insemination with reduced sperm numbers in gilts. **Theriogenology.** v. 66, n. 2, p. 338-343, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.11.020>
- BENNEMANN, P. *et al.* Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. **Animal Reproduction.** v. 1, n. 1, p. 106-110, 2004.
- BENNEMANN, P. E. *et al.* Artificial Insemination of Gilts with 1.5 Billion Sperms Stored in Different Periods Associated with Different Pre-ovulatory Intervals. **Reproduction in Domestic Animals.** v. 40, n. 6, p. 507-510, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2005.00614.x>
- BENNEMANN, P. E. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas à inseminação artificial intra-uterina ou à tradicional. **Ciência Rural.** v. 37, n. 6, p. 1735-1739, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000600036>
- BORTOLOZZO, F.; WENTZ, I. **Importância das leitoas no sistema de produção de suínos.** ed. Porto Alegre: Palotti, 2006. 15-21.
- DALLANORA, D. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas pela técnica intra-uterina ou tradicional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v. 39, n. 8, p. 815-819, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000800013>
- GARCÍA-VÁZQUEZ, F. *et al.* Morphological changes in the porcine cervix: A comparison between nulliparous and multiparous sows with regard to post-cervical artificial insemination. **Theriogenology.** v. 127, p. 120-129, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.004>
- GARCÍA-VÁZQUEZ, F. *et al.* Post-cervical artificial insemination in porcine: The technique that came to stay. **Theriogenology.** v. 129, p. 37-45, 2019b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.004>
- HERNÁNDEZ-CARAVACA, I. *et al.* Reproductive performance and backflow study in cervical and post-cervical artificial insemination in sows. **Animal Reproduction Science.** v. 136, n. 1-2, p. 14-22, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.007>
- HERNÁNDEZ-CARAVACA, I. *et al.* Optimization of post-cervical artificial insemination in gilts: Effect of cervical relaxation procedures and catheter type. **Theriogenology.** v. 90, p. 147-152, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.11.027>

KAPELAŃSKI, W. *et al.* Morphometric Characteristics of the Reproductive System in Polish Large White and Polish Landrace Gilts at 100 Kg Body Weight. **Annals of Animal Science**. v. 13, n. 1, p. 45-53, 2013. DOI:<https://doi.org/10.2478/v10220-012-0057-8>

KNAUER, M. T.; BAITINGER, D. J. The Sow Body Condition Caliper. **Applied Engineering in Agriculture**. v. 31, n. 2, p. 175-178, 2015. DOI:<https://doi.org/10.13031/aea.31.10632>

LLAMAS-LÓPEZ, P. J. *et al.* A new device for deep cervical artificial insemination in gilts reduces the number of sperm per dose without impairing final reproductive performance. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 10, n. 1, p. 11, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1186/s40104-019-0313-1>

MEZALIRA, A. *et al.* Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 40, n. 1, p. 1-5, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00524.x>

ROZEBOOM, K.; REICKS, D.; WILSON, M. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. **Journal of Animal Science**. v. 82, n. 7, p. 2164-2168, 2004. DOI: <https://doi.org/10.2527/2004.8272164x>

SBARDELLA, P. *et al.* The post-cervical insemination does not impair the reproductive performance of primiparous sows. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 49, n. 1, p. 59-64, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.12224>

SERRET, C. *et al.* Intrauterine artificial insemination of swine with different sperm concentrations, parities, and methods for prediction of ovulation. **Animal Reproduction**. v. 2, n. 4, p. 250-256, 2005.

SORIANO-ÚBEDA, C.; MATÁS, C.; GARCÍA-VÁZQUEZ, F. An overview of swine artificial insemination: retrospective, current and prospective aspects. **Journal of Experimental and Applied Animal Sciences**. v. 1, p. 67-97, 2013. DOI:<http://dx.doi.org/10.20454/jeaas.2013.709>

STEVERINK, D. *et al.* Semen backflow after insemination and its effect on fertilisation results in sows. **Animal Reproduction Science**. v. 54, n. 2, p. 109-119, 1998. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(98\)00146-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(98)00146-8)

STRATMAN, F. W.; SELF, H. L. Effect of semen volume and number of sperm on fertility and embryo survival in artificially inseminated gilts. **Journal of Animal Science**. v. 19, n. 4, p. 1081-1088, 1960. DOI:<https://doi.org/10.2527/jas1960.1941081x>

SUÁREZ-USBECK, A. *et al.* Post-cervical compared with cervical insemination in gilts: reproductive variable assessments. **Animal Reproduction Science**. v. 211, p. 106207, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106207>

TERNUS, E. *et al.* Performance reprodutiva de leitoas submetidas à inseminação artificial pós-cervical. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Online)**. v. 69, n. 4, 2017.

ULGUIM, R. *et al.* Ovulation and fertility responses for sows receiving once daily boar exposure after weaning and OvuGel® followed by a single fixed time post cervical artificial insemination. **Theriogenology**. v. 105, p. 27-33, 2018a. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.005>

ULGUIM, R. R. *et al.* Insertion of an intrauterine catheter for post-cervical artificial insemination in gilts: a case report. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 39, n. 6, p. 2833-2888, 2018b. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n6p2833>

WATSON, P.; BEHAN, J. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. **Theriogenology**. v. 57, n. 6, p. 1683-1693, 2002. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00648-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00648-9)

YOUNG, M. G. *et al.* Comparison of three methods of feeding sows in gestation and the subsequent effects on lactation performance. **Journal of Animal Science**. v. 82, n. 10, p. 3058-3070, 2004. DOI:<https://doi.org/10.2527/2004.82103058x>

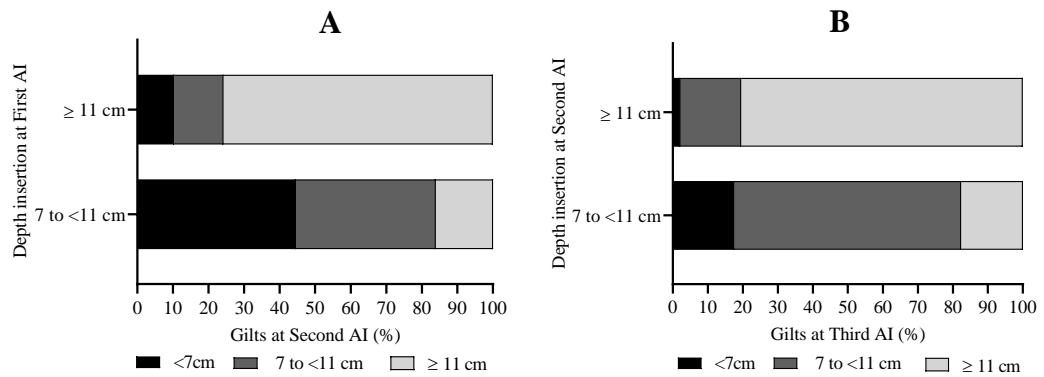


Figure 1 – Percentage of gilts with different classes of depths of the intrauterine cannula insertion in the second (A) or third (B) insemination (AI) according to insertion depth of the cannula in the previous insemination (first or second, respectively).

Classes for insertion depth have considered: ≥ 11 cm – total insertion; 7 to <11cm – partial insertion; < 7 cm was considered no passage. The first AI was performed at estrus detection (0h) and every 24 h, while gilts were in standing estrus.

$P < 0.01$ (A and B); Odds ratio for no passage or partial insertion: 10.68 (A) and 16.95 (B).

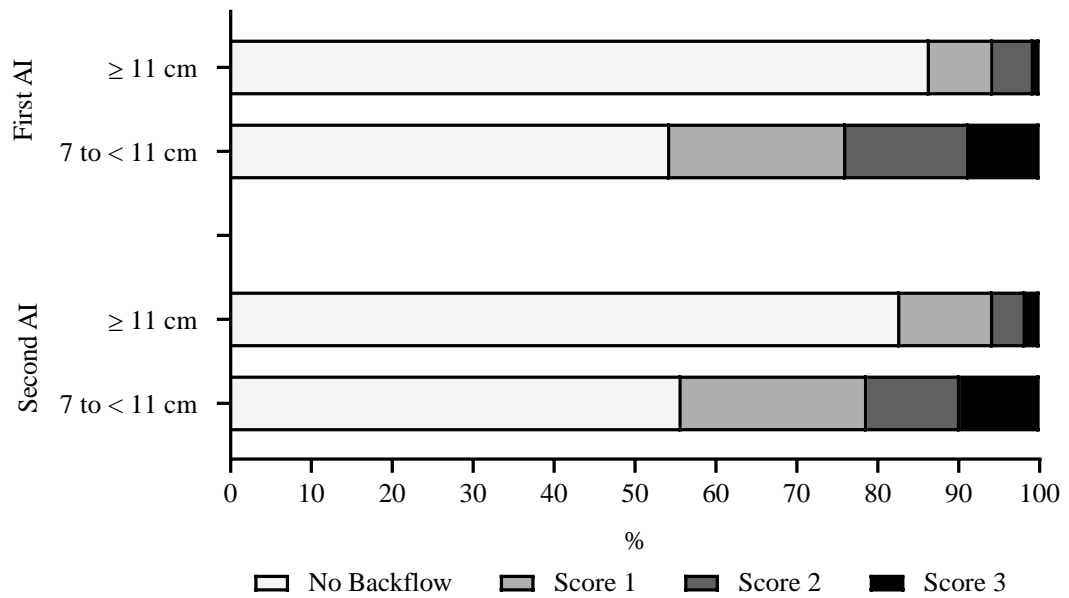


Figure 2 – The occurrence of semen backflow (%) in the first and second insemination (AI) according to depth of cannula insertion to perform post-cervical insemination in gilts.

Backflow scores during insemination: 0 – no backflow; 1 – backflow from vulva in drops; 2 – backflow of less than 30% of the dose; 3 – more than 30% of the dose.

$P < 0.01$ (first and second AI). Odds ratio for absence of backflow: 3.95 (first AI) and 5.43 (second AI).

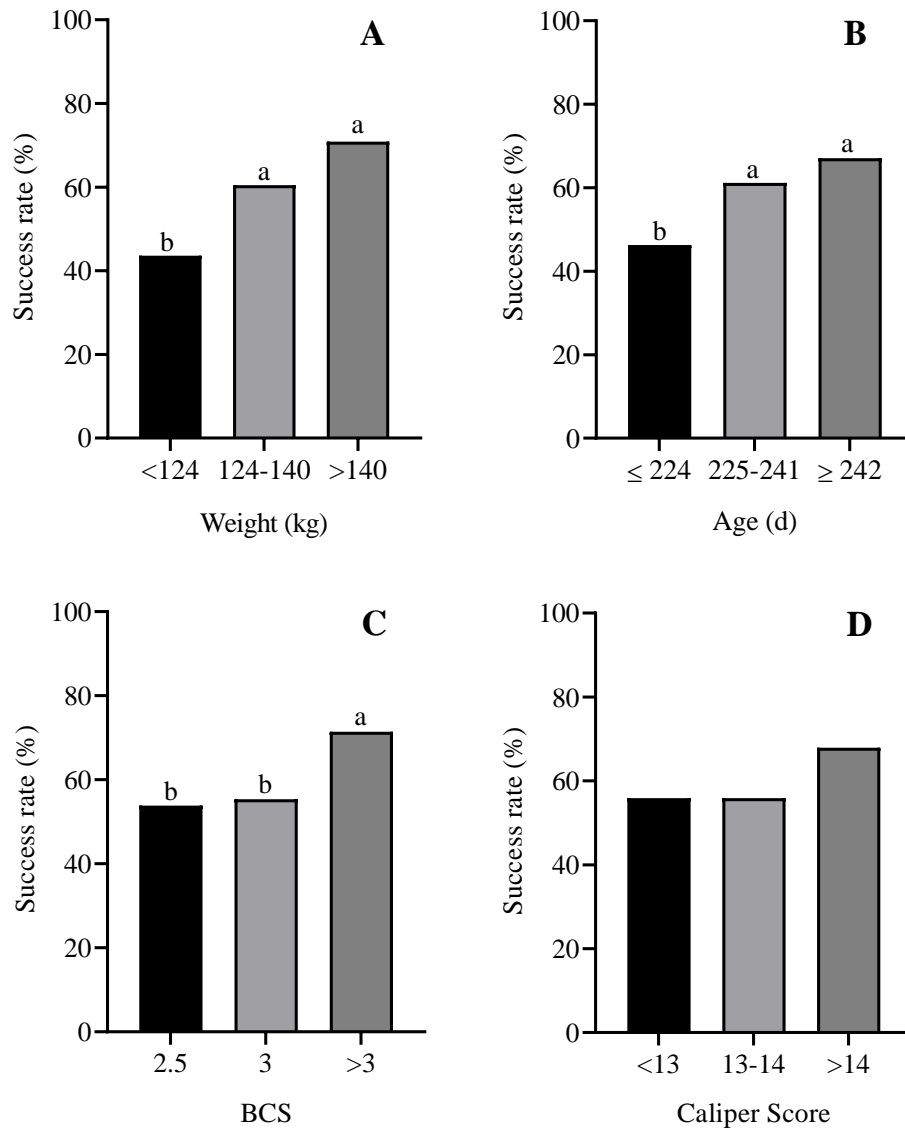


Figure 3 – The success rate for cannula insertion through the cervix according to different classes of weight at first detected estrus (A), age at insemination (B), body condition score (BCS) at insemination (C) and caliper score at insemination (D) for PCAI in gilts.

The success rate was defined as the insertion of the cannula for PCAI >7 cm in all inseminations performed during the estrus. ^{a, b} Differ significantly ($P \leq 0.05$). *P* – values: < 0.01 (weight at the previous estrus), 0.02 (age at insemination), 0.04 (BCS), and 0.17 (caliper score).

Table 1 – Reproductive performance, bleeding and semen backflow of gilts submitted to post-cervical artificial insemination (PCAI) or cervical insemination (CAI) with different semen dose sizes (1.5×10^9 sperm cells/50 mL or 2.5×10^9 sperm cells/80 mL)

Variables	CAI		PCAI		P-values		
	1.5	2.5	1.5	2.5	AI ¹	Dose ²	AI× Dose
Number of gilts (n)	158	159	90	97	.	.	.
Pregnancy rate (%)	96.52 ± 1.66	97.70 ± 1.29	97.97 ± 1.52	95.26 ± 2.41	0.86	0.68	0.23
Farrowing rate (%)	93.67 ± 2.42	95.60 ± 1.63	94.44 ± 2.42	93.81 ± 2.45	0.78	0.74	0.54
Total piglets born (n)	14.46 ± 0.25	14.54 ± 0.25	14.76 ± 0.32	14.45 ± 0.31	0.69	0.65	0.45
Piglets born alive (n)	13.52 ± 0.25	13.66 ± 0.25	13.89 ± 0.32	13.54 ± 0.31	0.63	0.68	0.34
Semen backflow (%) ³	27.47 ± 4.02	29.82 ± 4.13	29.09 ± 5.19	37.95 ± 4.02	0.27	0.20	0.48
Bleeding (%) ³	30.47 ± 4.03	34.17 ± 4.16	20.84 ± 4.47	29.56 ± 4.93	0.08	0.13	0.48

Values presented as LS means ± standard error mean.

¹ Insemination technique applied (CAI or PCAI).

² Number of sperm cells and volume of insemination doses (1.5×10^9 /50 mL or 2.5×10^9 /80 mL).

³The presence of backflow or bleeding during insemination in at least one of the inseminations performed in each gilt (yes/no).

Table 2 – Time expended to perform the insemination in gilts submitted to post-cervical insemination (PCAI) or cervical insemination (CAI) considering the use of two semen dose sizes (1.5×10^9 sperm cells/50 mL or 2.5×10^9 sperm cells/80 mL)

Variables	CAI		PCAI		P-values		
	1.5	2.5	1.5	2.5	AI ¹	Dose ²	AI× Dose
Number of gilts	104	105	81	90	.	.	.
Total time (min) ³	4.42 ± 0.25 ^b	6.21 ± 0.25 ^a	6.29 ± 0.28 ^a	6.16 ± 0.27 ^a	<0.01	<0.01	<0.01
Number of attempts ⁴	.	.	2.00 ± 0.09	1.95 ± 0.09	.	0.68	.
Waiting time between attempts (min) ⁴	.	.	4.96 ± 0.40	4.55 ± 0.39	.	0.43	.
Total time without intervals between attempts (PCAI) (min) ⁴	4.40 ± 0.12 ^b	6.19 ± 0.12 ^a	1.24 ± 0.12 ^c	1.35 ± 0.12 ^c	<0.01	<0.01	<0.01
Time for dose infusion (min)	4.28 ± 0.12 ^b	6.06 ± 0.12 ^a	0.47 ± 0.12 ^c	0.61 ± 0.12 ^c	<0.01	<0.01	<0.01
Estimated time to inseminate 100 gilts, min (4 simultaneously) ⁵	110	155	124	135	.	.	.

Values presented as LS means ± standard error mean. Different letters (a, b, c) means significantly different values (P < 0.05).

¹ Artificial insemination (AI) technique applied (CAI or PCAI).

² Number of sperm cells and volume of insemination doses (1.5×10^9 /50 mL or 2.5×10^9 /80 mL).

³ Total time to perform AI: Time from the catheter insertion onset to the end of insemination dose infusion.

⁴ The gilts from the PCAI groups were submitted to three attempts at cannula insertion. Each attempt consisted of 30 seconds with 5 min interval (waiting time) between attempts. Total time to AI without intervals between attempts consisted of the time used to insert the catheter and the cannula (without waiting time) plus time to dose infusion.

⁵ For CAI groups, the time to inseminate 100 gilts = (total time/4 gilts) \times 100; For PCAI groups, time to inseminate 100 gilts = total time without intervals \times 100.

Table 3 – Reproductive performance of gilts inseminated by post-cervical insemination according to the depth and number for attempts at cannula insertion, bleeding and semen backflow during insemination

	n	FR (%) ¹	TPB (n) ¹	P-values	
				FR	TPB
Cannula insertion depth				0.87	0.52
7 to <11 cm	47	93.62 ± 3.57	14.36 ± 0.46		
≥ 11 cm	140	94.29 ± 1.96	14.68 ± 0.29		
Number of attempts (first AI)				0.26	0.70
1	74	90.54 ± 3.40	14.75 ± 0.38		
2	68	97.06 ± 2.05	14.67 ± 0.39		
3	45	95.56 ± 3.07	14.28 ± 0.46		
Number of attempts (second AI)				0.21	0.33
1	56	89.29 ± 4.13	14.18 ± 0.49		
2	71	97.18 ± 1.96	14.98 ± 0.37		
3	54	94.44 ± 3.12	14.61 ± 0.43		
Number of attempts (third AI)				0.19	0.49
1	17	100	14.56 ± 0.87		
2	19	89.47	14.52 ± 0.95		
3	22	100	13.46 ± 0.78		
Bleeding during AI				0.56	0.12
Yes	48/187	95.83 ± 2.88	14.04 ± 0.44		
No	139/187	93.53 ± 2.09	14.81 ± 0.28		
Semen backflow during AI				0.38	0.80
Yes	62/187	91.94 ± 3.46	14.52 ± 0.41		
No	125/187	95.20 ± 3.46	14.64 ± 0.30		

Values presented as LS means ± standard error mean.

¹ Farrowing Rate (FR); Total Piglets Born (TPB).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer dos últimos anos a IAPC não tem sido recomendada para leitoas devido à dificuldade de passagem do cateter intrauterino pela cérvix, relatada nos estudos e também pelos operados dos sistemas de produção (BORTOLOZZO *et al.*, 2015; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019b). Sendo essa dificuldade devido principalmente ao menor tamanho do trato reprodutivo de leitoas se comparado a pluríparas (LEVIS *et al.*, 2002; GARCÍA-VÁZQUEZ *et al.*, 2019a). Ainda são poucos os estudos que avaliaram a aplicação de IAPC nessa categoria de fêmeas, os quais utilizaram diferentes abordagens e dispositivos, bem como leitoas com diferentes características na primeira inseminação (DIMITROV *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ-CARAVACA *et al.*, 2017; TERNUS *et al.*, 2017; ULGUIM *et al.*, 2018; SUÁREZ-USBECK *et al.*, 2019). Porém, considerando que as leitoas representam cerca de 18% do grupo de cobertura (BORTOLOZZO & WENTZ, 2006), viabilizar a técnica nessa categoria de fêmea poderia otimizar o manejo da granja e também a produção de DI.

Entretanto, com base nos resultados do presente trabalho, se conclui que a IAPC em leitoas continua sendo um desafio devido à baixa taxa de sucesso de passagem do cateter intrauterino (58,93%), mesmo utilizando um cateter específico para leitoas. Porém, podemos observar que leitoas com maior peso no primeiro estro (≥ 124 kg), bem como a idade (≥ 225 d) e o escore de condição corporal (> 3) superior na inseminação possuem maior possibilidade de passagem do cateter. No entanto, não observamos uma redução expressiva no tempo necessário para a inseminação quando comparados os quatro grupos.

Comparando a IAC com a IAPC utilizando dois tipos de doses para ambos os grupos ($1,5 \times 10^9$ células espermáticas viáveis/50 mL ou $2,5 \times 10^9$ células espermáticas viáveis/80 mL) podemos observar que o desempenho reprodutivo não foi afetado. Esse resultado sugere que tanto a IAPC quanto a IAC em leitoas pode ser realizada com DI contendo 1,5 bilhão de células espermáticas viáveis em 50 mL, o que viabilizaria a produção de apenas um tipo de dose pelas centrais de processamento de sêmen. Porém, é importante ressaltar a necessidade de garantir a qualidade da dose inseminante (produção, transporte e armazenamento), bem como garantir a qualidade do procedimento de IA.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, É. B. *et al.* Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, n. 8, p. 1460-1467, 2009. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800009>
- BAKER, R. D.; DZIUK, P. J.; NORTON, H. W. Effect of volume of semen, number of sperm and drugs on transport of sperm in artificially inseminated gilts. **Journal of Animal Science**. v. 27, n. 1, p. 88-93, 1968.
- BEHAN, J.; WATSON, P. A field investigation of intra-cervical insemination with reduced sperm numbers in gilts. **Theriogenology**. v. 66, n. 2, p. 338-343, 2006. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.11.020>
- BENNEMANN, P. *et al.* Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. **Animal Reproduction**. v. 1, n. 1, p. 106-110, 2004.
- BENNEMANN, P. E. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas à inseminação artificial intra-uterina ou à tradicional. **Ciência Rural**. v. 37, n. 6, p. 1735-1739, 2007. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000600036>
- BORTOLOZZO, F. *et al.* Growth, body state and breeding performance in gilts and primiparous sows. **Control of Pig Reproduction VIII**. p. 281-291, 2009.
- BORTOLOZZO, F. *et al.* New artificial insemination technologies for swine. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 50, p. 80-84, 2015. DOI:<https://doi.org/10.1111/rda.12544>
- BORTOLOZZO, F.; WENTZ, I. Importância das leitoas no sistema de produção de suínos. *In*: _____. **Suinocultura em ação: A fêmea suína de reposição**: Porto Alegre: Pallotti, 2006. 15-21.
- BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. Vantagens e limitações no uso da IA em suínos. *In*: _____. **Suinocultura em ação: Inseminação artificial na suinocultura tecnificada** Porto Alegre: Pallotti, 2005. 49.
- DALLANORA, D. *et al.* Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas inseminadas pela técnica intra-uterina ou tradicional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 39, n. 8, p. 815-819, 2004. DOI:<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000800013>
- DIEHL, G. N. *et al.* Nova pipeta para inseminação intra-uterina em suínos. **Ciência Rural**. v. 36, n. 1, p. 179-185, 2006.

DIMITROV, S.; JELIAZKOV, E.; LEVIS, D. Deep intrauterine and transcervical insemination of sows and gilts. **Trakia Journal of Sciences**. v. 5, n. 1, p. 40-46, 2007.

DIMITROV, S.; ŽMUDZKI, J. Post-cervical insemination of sows with low sperm concentration dose in the commercial pig farm. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**. v. 53, p. 225-228, 2009.

FLOWERS, W. L.; ALHUSEN, H. D. Reproductive performance and estimates of labor requirements associated with combinations of artificial insemination and natural service in swine. **Journal of Animal Science**. v. 70, n. 3, p. 615-621, 1992.

FOXCROFT, G. *et al.* Identifying the true value of effective replacement gilt. *In: Manitoba Swine Seminar*, 2004. p. 35-51.

GARCÍA-VÁZQUEZ, F. *et al.* Morphological changes in the porcine cervix: A comparison between nulliparous and multiparous sows with regard to post-cervical artificial insemination. **Theriogenology**. v. 127, p. 120-129, 2019a. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.004>

GARCÍA-VÁZQUEZ, F. *et al.* Post-cervical artificial insemination in porcine: The technique that came to stay. **Theriogenology**. v. 129, p. 37-45, 2019b. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.004>

HANCOCK, J. L. Pig insemination technique. **Vet Rec**. v. 71, p. 527, 1959.

HERNÁNDEZ-CARAVACA, I. *et al.* Reproductive performance and backflow study in cervical and post-cervical artificial insemination in sows. **Animal Reproduction Science**. v. 136, n. 1-2, p. 14-22, 2012. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.007>

HERNÁNDEZ-CARAVACA, I. *et al.* Optimization of post-cervical artificial insemination in gilts: Effect of cervical relaxation procedures and catheter type. **Theriogenology**. v. 90, p. 147-152, 2017. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.11.027>

KAPELAŃSKI, W. *et al.* Morphometric Characteristics of the Reproductive System in Polish Large White and Polish Landrace Gilts at 100 Kg Body Weigh. **Annals of Animal Science**. v. 13, n. 1, p. 45-53, 2013. DOI:<https://doi.org/10.2478/v10220-012-0057-8>

KNOX, R. V. Artificial insemination in pigs today. **Theriogenology**. v. 85, n. 1, p. 83-93, 2016. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.009>

KRUEGER, C.; RATH, D. Intrauterine insemination in sows with reduced sperm number. **Reproduction, Fertility and Development**. v. 12, n. 2, p. 113-117, 2000. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00648-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00648-9)

KRUEGER, C.; RATH, D.; JOHNSON, L. A. Low dose insemination in synchronized gilts. **Theriogenology**. v. 52, n. 8, p. 1363-1373, 1999. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00223-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00223-X)

KUMMER, R. *et al.* Existe diferença no desempenho reprodutivo ao primeiro parto de leitoas inseminadas no 1, 2, 3 ou 4 estro? **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 33, n. 2, p. 125-130, 2005.

LANGENDIJK, P.; SOEDE, N. M.; KEMP, B. Uterine activity, sperm transport, and the role of boar stimuli around insemination in sows. **Theriogenology**. v. 63, n. 2, p. 500-513, 2005. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.027>

LEVIS, D.; BURROUGHS, S.; WILLIAMS, S. **Use of intra-uterine insemination of pigs: pros, cons and economics**. . Faculty Papers and Publications in Animal Science. University of Nebraska Ohio Pork Industry Center. 618 20 p. 2002.

LLAMAS-LÓPEZ, P. J. *et al.* A new device for deep cervical artificial insemination in gilts reduces the number of sperm per dose without impairing final reproductive performance. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 10, n. 1, p. 11, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1186/s40104-019-0313-1>

MARTINEZ, E. *et al.* Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. **Reproduction**. v. 122, n. 2, p. 289-296, 2001.

MARTINEZ, E. *et al.* Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. **Reproduction**. v. 123, n. 1, p. 163-170, 2002. DOI:<https://doi.org/10.1530/rep.0.1230163>

MATTHIJS, A.; ENGEL, B.; WOELDERS, H. Neutrophil recruitment and phagocytosis of boar spermatozoa after artificial insemination of sows, and the effects of inseminate volume, sperm dose and specific additives in the extender. **Reproduction**. v. 125, n. 3, p. 357-367, 2003. DOI:<https://doi.org/10.1530/rep.0.1250357>

MELLAGI, A. P. G. *et al.* Bases fisiológicas e fatores que influenciam na puberdade da leitoa. *In*: _____. **Suinocultura em Ação: A fêmea suína de reposição**. Porto Alegre: Palotti, v. 3. p.45-66, 2006.

MEZALIRA, A. *et al.* Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 40, n. 1, p. 1-5, 2005.

PRUNIER, A.; BONNEAU, M.; ETIENNE, M. Effects of age and live weight on the sexual development of gilts and boars fed two planes of nutrition. **Reproduction Nutrition Développement**. v. 27, n. 3, p. 689-700, 1987.

RIESENBECK, A. Review on international trade with boar semen. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 46, p. 1-3, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01869.x>

ROBERTS, P.; BILKEI, G. Field experiences on post-cervical artificial insemination in the sow. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 40, n. 5, p. 489-491, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2005.00616.x>

ROCA, J. *et al.* Will AI in pigs become more efficient? **Theriogenology**. v. 86, n. 1, p. 187-193, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.026>

ROZEBOOM, K.; REICKS, D.; WILSON, M. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. **Journal of Animal Science**. v. 82, n. 7, p. 2164-2168, 2004. DOI: <https://doi.org/10.2527/2004.8272164x>

SBARDELLA, P. *et al.* The post-cervical insemination does not impair the reproductive performance of primiparous sows. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 49, n. 1, p. 59-64, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.12224>

SERRET, C. *et al.* Intrauterine artificial insemination of swine with different sperm concentrations, parities, and methods for prediction of ovulation. **Animal Reproduction**. v. 2, n. 4, p. 250-256, 2005.

SOEDE, N. M.; LANGENDIJK, P.; KEMP, B. Reproductive cycles in pigs. **Animal Reproduction Science**. v. 124, n. 3-4, p. 251-258, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.025>

SORIANO-ÚBEDA, C.; MATÁS, C.; GARCÍA-VÁZQUEZ, F. An overview of swine artificial insemination: retrospective, current and prospective aspects. **Journal of Experimental and Applied Animal Sciences**. v. 1, p. 67-97, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.20454/jeaas.2013.709>

STEVERINK, D. *et al.* Semen backflow after insemination and its effect on fertilisation results in sows. **Animal Reproduction Science**. v. 54, n. 2, p. 109-119, 1998. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(98\)00146-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(98)00146-8)

STRATMAN, F. W.; SELF, H. L. Effect of semen volume and number of sperm on fertility and embryo survival in artificially inseminated gilts. **Journal of Animal Science**. v. 19, n. 4, p. 1081-1088, 1960. DOI:<https://doi.org/10.2527/jas1960.1941081x>

SUÁREZ-USBECK, A. *et al.* Post-cervical compared with cervical insemination in gilts: reproductive variable assessments. **Animal Reproduction Science**. v. 211, p. 106207, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106207>

TERNUS, E. *et al.* Performance reprodutiva de leitoas submetidas à inseminação artificial pós-cervical. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Online)**. v. 69, n. 4, 2017.

TUMMARUK, P.; KESDANGSAKONWUT, S. Uterine size in replacement gilts associated with age, body weight, growth rate, and reproductive status. **Czech Journal of Animal Science**. v. 59, p. 511-518, 2014.

ULGUIM, R. R. *et al.* Insertion of an intrauterine catheter for post-cervical artificial insemination in gilts: a case report. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 39, n. 6, p. 2833-2888, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n6p2833>

WABERSKI, D. *et al.* Application of preserved boar semen for artificial insemination: past, present and future challenges. **Theriogenology**. v. 137, p. 2-7, 2019. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.030>

WATSON, P.; BEHAN, J. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. **Theriogenology**. v. 57, n. 6, p. 1683-1693, 2002. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00648-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00648-9)

WENTZ, I. *et al.* O que há de novo no manejo de leitoas. *In: VI SINSUI–Simpósio Internacional de Suinocultura*. Porto Alegre, 2011, 2011. p.101-116.

WENTZ, I.; PANZARDI, A.; MELLAGI, A. P. G. Cuidados com a leitoa entre a entrada na granja e a cobertura: procedimentos com vistas à produtividade e longevidade da matriz. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, p. 17-27, 2007.

WOLKEN, A. *et al.* Sows can successfully be inseminated non-surgically into the distal uterine horn with a highly reduced number of sperm cells. **Theriogenology**. v. 57, n. 1, p. 392, 2002.