

Muito além da motilidade: ferramentas para estimar o potencial fértil dos espermatozoides bovinos

Beyond motility: tools for estimating the fertilizing potential of bovine spermatozoa

João Diego de-Agostini-Losano¹, Roberta Ferreira Leite², Álvaro de Miranda Alves²,
Bruna Lopes Cardoso¹, Marcilio Nichi²

¹ CPEX Embriões, Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Mogi Mirim, São Paulo, Brasil

² Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
E-mail: jdalosano@gmail.com

Resumo

A fertilidade bovina é uma característica multifatorial que abrange variáveis como nutrição, sanidade, manejo, protocolos hormonais de sincronização, efeitos de fazenda e categoria animal, dentre outros. Embora a interdependência desses fatores torne seu isolamento desafiador, a análise individualizada de cada variável é essencial para o diagnóstico de baixos índices reprodutivos e para o desenvolvimento de estratégias que elevem o desempenho reprodutivo e produtivo. Dentre esses fatores, o efeito touro tem se mostrado decisivo. Estudos que utilizam ferramentas estatísticas e de avaliação espermática avançada demonstram o impacto expressivo desse efeito nos índices reprodutivos, especialmente em biotécnicas como a Inseminação Artificial (IA) e a Produção *In Vitro* de Embriões (PIVE). Contudo, identificar amostras espermáticas superiores permanece um desafio, pois as avaliações convencionais utilizadas rotineiramente nos laboratórios, embora fundamentais, são insuficientes para atestar a integridade funcional e o perfil molecular dos espermatozoides. Pesquisas recentes apontam uma relação significativa entre características morfofuncionais e moleculares com a fertilidade, consolidando-as como ferramentas diagnósticas e preditoras quando aplicadas de forma associada e criteriosa. Esta revisão de literatura objetiva abordar tais ferramentas e sua aplicação na predição do potencial fértil de espermatozoides bovinos.

Palavras-chave: Fertilidade, Touro, Sêmen bovino, Avaliação espermática, Biotécnicas reprodutivas

Abstract

Bovine fertility is a multifaceted trait governed by variables encompassing nutrition, health, management, hormonal synchronization protocols, farm effects, and animal category. Although the interdependence of these factors makes their isolation challenging, an individualized analysis of each variable is essential for diagnosing suboptimal reproductive outcomes and developing strategies to enhance both reproductive and productive performance. Among these determinants, the "bull effect" has emerged as a pivotal factor. Studies employing advanced statistical tools and detailed sperm assessments demonstrate the substantial impact of this effect on reproductive outcomes, particularly in biotechnologies such as Artificial Insemination (AI) and In Vitro Embryo Production (IVP). Nevertheless, identifying superior sperm samples remains a challenge; conventional laboratory evaluations, while fundamental, are insufficient to fully characterize the functional status and molecular profile of sperm. Recent research highlights a significant correlation between morphofunctional and molecular traits and fertility, establishing these as robust diagnostic and predictive tools when applied in an integrated and judicious manner. This literature review aims to discuss these advanced tools and their application in estimating the fertilizing potential of bovine sperm.

Keywords: Fertility, Bull, Bovine semen, Sperm evaluation, Reproductive biotechnologies

Introdução

O impacto do touro nos índices reprodutivos

A investigação sobre a fertilidade do touro perdura por décadas. No início do século XX, pesquisadores como Williams, Savage e Lagerlöf estabeleceram observações fundamentais sobre a relação

entre anormalidades morfológicas espermáticas e a baixa fertilidade, culminando nas primeiras tentativas de determinar o limiar mínimo de espermatozoides normais necessários para um potencial fértil satisfatório (Arruda et al., 2015). Desde então, a andrologia tem avançado continuamente na busca por mensurar o potencial reprodutivo do macho com maior acurácia, visando identificar, tratar ou descartar reprodutores com desempenho insatisfatório.

A relevância deste diagnóstico fundamenta-se no fato de que o touro exerce um impacto individual superior ao da fêmea nos índices reprodutivos do rebanho. Em sistemas de monta natural, por exemplo, utiliza-se uma proporção touro:vaca de 1:25 a 1:50. Enquanto a infertilidade de uma única fêmea representa a perda de apenas um bezerro por estação, um touro infértil compromete todo o lote, resultando em taxa de concepção nula para dezenas de vacas. Em programas de Inseminação Artificial (IA) ou Produção *In Vitro* de Embriões (PIVE), esse impacto é amplificado, visto que um único macho pode originar milhares de doses de sêmen mensalmente que serão utilizadas nessas biotécnicas (Leite et al., 2022a).

Consequentemente, há uma preocupação constante das centrais de coleta e processamento de sêmen para garantir padrões rígidos de qualidade pós-descongelamento. Embora a detecção de touros nitidamente inférteis seja simplificada por alterações clínicas e espermáticas evidentes, o desafio reside em reprodutores de baixa fertilidade que apresentam ejaculados com parâmetros convencionais normais. A ausência de evidências diagnósticas mais detalhadas permite a comercialização de doses que reduzem a eficiência reprodutiva das fazendas, mesmo sendo consideradas "satisfatórias". Isso ocorre porque, a avaliação restrita à motilidade e morfologia, não detecta falhas funcionais e moleculares. Assim, novas técnicas surgiram para avaliar a função espermática, o status metabólico e a longevidade celular, buscando maior acurácia preditiva (Assumpção e Hamilton, 2025). O presente trabalho objetiva fornecer informações sobre as ferramentas de avaliação espermática, apresentando avanços que permitem identificar amostras superiores para otimizar os índices reprodutivos.

Função espermática vs. predição da fertilidade

A predição da fertilidade do macho permanece como um dos maiores desafios da andrologia, visto que ainda não se isolou um biomarcador único com acurácia suficiente para assegurar o sucesso da fecundação, do desenvolvimento embrionário e a geração de um indivíduo normal. Historicamente, a métrica mais fidedigna para atestar a performance reprodutiva de um touro reside na análise retrospectiva do seu histórico de fertilidade (Ortega et al., 2018). Embora as centrais de genética disponibilizem índices baseados no histórico reprodutivo (como o *Sire Conception Rate*), tais indicadores possuem um viés temporal significativo. O intervalo necessário para a compilação de um banco de dados robusto e o elevado número de inseminações exigidas fazem com que esses índices sejam gerados, muitas vezes, apenas após a comercialização de grandes quantidades de doses de sêmen. Consequentemente, o setor enfrenta o risco de um vultoso investimento financeiro em reprodutores que, tardiamente, revelam índices reprodutivos desfavoráveis, reforçando a necessidade urgente de ferramentas diagnósticas de caráter prospectivo.

Baseado nestas assertivas, pesquisadores em andrologia bovina têm direcionado esforços à investigação de estratégias que ampliem a acurácia preditiva do potencial fértil (Cazaux Velho et al., 2018; Menezes et al., 2019). Tal avanço fundamenta-se na abordagem multiparamétrica, que integra a avaliação das propriedades morfofuncionais e moleculares dos espermatozoides a modelos estatísticos de alta complexidade. Essas ferramentas estatísticas buscam decifrar o impacto ponderado de cada variável espermática sobre a fertilidade, permitindo o desenvolvimento de algoritmos de predição robustos que ofereçam maior confiabilidade diagnóstica ao setor reprodutivo. Tais estratégias englobam desde a análise da cinética espermática via sistemas computadorizados (sistemas CASA), até a investigação da integridade e função estrutural (membranas plasmática e acrossomal, mitocôndrias e cromatina), o status oxidativo e a competência à capacitação (Celeghini et al., 2007; Silva et al., 2023). Adicionalmente, a fronteira diagnóstica estende-se aos marcadores moleculares de alta resolução, incluindo as abordagens de genômica, proteômica, metabolômica e epigenética (Mayeux, 2004; Talluri et al., 2022).

Avaliação da Cinética Espermática

A avaliação da motilidade, sobretudo a progressiva, permanece como um parâmetro essencial por viabilizar o deslocamento espermático até o sítio de fecundação. Embora os padrões mínimos para essa variável ainda suscitem debates, estabeleceu-se o valor de 30% de motilidade progressiva como o limiar aceitável para o uso de sêmen criopreservado em Inseminação Artificial (IA) (Arruda et al., 2015). No entanto, a interpretação desses valores deve considerar a biotécnica empregada. Na Fertilização *In Vitro* (FIV), por exemplo, este valor de motilidade mostra-se frequentemente insuficiente. Por isso, aplicam-se

técnicas de seleção espermática que visam isolar subpopulações com motilidade e integridade funcional significativamente superiores à amostra original. As centrais de coleta e processamento seguem protocolos rigorosos de controle de qualidade para assegurar que as doses comercializadas atendam a esses requisitos mínimos de motilidade, mitigando resultados reprodutivos insatisfatórios.

Apesar de sua relevância, evidências recentes sugerem que a motilidade, isoladamente, é insuficiente como fator preditor ou determinante de fertilidade. Estudos de Leite et al. (2022a) e de Agostini Losano et al. (2025) demonstraram a ausência de diferenças significativas nas motilidades total e progressiva ao compararem touros de alta e baixa fertilidade. Tal cenário ocorre porque a caracterização da qualidade do movimento espermático demanda uma análise cinética mais profunda, englobando variáveis como velocidades, linearidade, retilinearidade, deslocamento de cabeça e frequência de batimento flagelar (Leite et al., 2022a). Essas informações detalhadas são obtidas por meio de sistemas de análise computadorizada (CASA), cujos *softwares* detectam a trajetória espermática de forma objetiva e precisa (Arruda et al., 2011). Embora a literatura aponte relações robustas entre certas variáveis cinéticas e a fertilidade, muitas vezes independentes da motilidade, as notas de corte ideais para cada parâmetro ainda não foram plenamente estabelecidas. Curiosamente, a motilidade continua sendo o único critério cinético utilizado para a categorização e aprovação de doses comerciais, o que fomenta o debate sobre a necessidade de incluir novos indicadores na tomada de decisão sobre o destino das partidas de sêmen.

Parâmetros cinéticos, tais como a amplitude do deslocamento lateral da cabeça (ALH), a linearidade (LIN), a velocidade curvilínea (VCL) e a frequência de batimento cruzado (BCF), têm sido amplamente utilizados para caracterizar a hiperativação e sua relação com a fertilidade (Mortimer, 1997). Embora a hiperativação seja uma etapa crucial da capacitação espermática e essencial para a fecundação, sua ocorrência precoce em amostras pós-descongelamento pode impactar negativamente a fertilidade ao reduzir a longevidade celular no trato reprodutivo feminino (Pfeifer et al., 2019). De fato, Leite et al. (2021) observaram que amostras de touros com menor fertilidade apresentaram maiores valores de ALH e BCF, associados a uma redução na linearidade, indicadores fenotípicos de hiperativação prematura (Leite et al., 2022a). Corroborando esses achados, Pfeifer et al. (2019) verificaram que touros com sêmen apresentando hiperativação precoce resultaram em menor eficiência em programas de IATF, especialmente em fêmeas com ovulação tardia, indicando que a possível redução da longevidade associada à hiperativação precoce pode afetar a janela de fertilização. Portanto, o sistema CASA consolida-se como uma ferramenta valiosa para detectar a hiperativação precoce. Essa análise permite que centrais e veterinários de campo customizem o uso dessas doses na IA ou, em casos críticos, optem pelo descarte de partidas com baixo potencial de sobrevivência *in vivo*.

Função espermática

É relevante salientar que espermatozoides com um perfil cinemático e morfológico ideais não possuem, necessariamente, compartimentos estruturais íntegros e funcionais, muito embora exista com frequência uma correlação positiva entre esses atributos (Silva et al., 2023). Essa dissociação morfofuncional impõe a necessidade de avaliar a função das estruturas espermáticas de forma individualizada e criteriosa (Celeghini et al., 2007, 2010). Atualmente, dispõe-se de uma gama de ferramentas capazes de acessar tais estruturas com alta especificidade; por conseguinte, recomenda-se a associação de ensaios funcionais que permitam uma análise global da célula espermática. Essa abordagem fundamenta-se no fato de que injúrias em uma única estrutura subcelular são suficientes para comprometer irreversivelmente a capacidade fecundante (Celeghini et al., 2007, 2010). Tal vulnerabilidade advém da inerente limitação do espermatozoide em promover o reparo de danos celulares, decorrente de sua quiescência transcricional e reduzida maquinaria citoplasmática (Amaral et al., 2013; De Agostini Losano et al., 2025). Assim, a falha em um único domínio funcional seja ele plasmático, acrossomal, mitocondrial ou de DNA inviabiliza o sucesso reprodutivo. A avaliação da função espermática dispõe de diversas metodologias, incluindo o uso de sondas fluorescentes para a análise de compartimentos celulares via microscopia de fluorescência ou citometria de fluxo, técnicas de coloração espermática, ensaios citoquímicos ou enzimáticos (Assumpção e Hamilton, 2025). O Quadro 1 exemplifica algumas ferramentas para avaliação da função espermática.

Quadro 1. Exemplos de ferramentas aplicadas à avaliação das características funcionais espermáticas.

Objetivo	Ferramenta	Tipo de técnica	Resposta	Equipamento necessário
Avaliação da membrana plasmática	Iodeto de propídeo + Hoechst 33342	Sondas fluorescentes	Avalia alterações de permeabilidade ou integridade de membrana	Microscópio de fluorescência ou citômetro de fluxo
Integridade acrossomal	FITC-PNA, FITC-PSA	Sondas fluorescentes	Avalia a integridade e função do acrossomo	Microscópio de fluorescência ou citômetro de fluxo
Potencial de membrana mitocondrial	JC-1, Mitotracker Red, CMXRos	Sondas fluorescentes	Avalia o gradiente de prótons das mitocôndrias. Indica indiretamente função mitocondrial e produção energética.	Microscópio de fluorescência ou citômetro de fluxo
Atividade mitocondrial (fosforilação oxidativa)	3'3 Diaminobenzidina (DAB)	Ensaio citoquímico	Avalia a atividade da enzima citocromo c-oxidase. Indica indiretamente atividade do transporte de elétrons	Microscópio com contraste de fases
Respiração mitocondrial	Seahorse, Oroboros	Ensaio respirométrico	Avalia o consumo de oxigênio mitocondrial e, indiretamente, a capacidade energética	Equipamentos respirométricos de alta resolução
Deteção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)	CellRox Green	Sonda fluorescente	Deteção de EROs intracelulares para avaliar status oxidativo	Microscópio de fluorescência ou citômetro de fluxo
Peroxidação lipídica	TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico)	Ensaio bioquímico	Mensuração de subprodutos da peroxidação lipídica. Indica indiretamente o estresse oxidativo	Espectrofotômetro
Fragmentação de DNA	Ensaio cometa	Ensaio eletroforético	Avalia a fragmentação real do DNA (fita simples ou dupla)	Equipamento de eletroforese e microscópio de fluorescência
Susceptibilidade da cromatina à denaturação ácida	SCSA / Laranja de Acridina	Desafio ácido ao DNA	Avalia a estabilidade da cromatina	Microscópio de fluorescência ou citômetro de fluxo
Capacitação espermática	Anticorpos para deteção de fosforilação de tirosina	Imunocitoquímica	Indicador de capacitação espermática	Microscópio de fluorescência e materiais para Imunocitoquímica

A integridade e funcionalidade dos compartimentos espermáticos parecem ter uma importante relação com fertilidade. Oliveira et al. (2014), ao utilizarem uma associação de sondas fluorescentes para avaliar concomitantemente as membranas plasmática (Iodeto de propídeo + Hoechst 33342) e acrossomal (FITC-PSA), além do potencial mitocondrial (JC-1), observaram que amostras com 44,5% de células funcionalmente íntegras resultaram em taxas de prenhez significativamente superiores (64,7%) em comparação àquelas com apenas 8,5% de células com todas as estruturas funcionais (36,2%) (Oliveira et al., 2014). No mesmo sentido, Silva et al. (2023) detectaram variações na estabilidade das membranas plasmática e acrossomal entre touros de diferentes índices de fertilidade (Silva et al., 2023). Corroborando esses achados, Leite et al. (2022) identificaram diferenças significativas na integridade de membrana, função mitocondrial e integridade do DNA ao compararem grupos de touros com maior e menor fertilidade (Leite et al., 2022). Embora alguns dos estudos supracitados tenham registrado variações significativas na motilidade progressiva e na morfologia espermática, é fundamental ressaltar que todas as amostras atendiam aos padrões mínimos de qualidade exigidos para comercialização. No entanto, permanece incerto o quanto essas variáveis convencionais, isoladamente, impactam a fertilidade real. Esse cenário fomenta o debate sobre a necessidade de elevar os parâmetros mínimos vigentes ou, de forma mais estratégica, implementar ferramentas de avaliação funcional detalhada nas rotinas laboratoriais, visto que estas parecem exercer maior influência sobre os índices reprodutivos.

Entre os atributos celulares mencionados, a mitocôndria espermática assume papel de destaque. Esta organela, além de suas múltiplas funções regulatórias, é a principal fonte de energia em forma de ATP, essencial para a homeostase, o batimento flagelar e a capacitação espermática, processo de alta demanda energética (Amaral, 2022; Amaral et al., 2013). Nesse cenário, surgiram ferramentas para uma avaliação mais profunda do status mitocondrial. Equipamentos de respirometria de alta resolução, por exemplo, permitem mensurar o consumo de O₂ mitocondrial de forma temporal, fornecendo indicadores precisos de eficiência energética, os quais podem estar diretamente relacionados à longevidade espermática (De Agostini Losano et al., 2023). Em estudo recente comparando a bioenergética espermática entre touros de diferentes índices de fertilidade, observou-se que touros de alta fertilidade apresentaram maior Capacidade Respiratória de Reserva (SRC). Este parâmetro indica o potencial de consumo de oxigênio acima dos níveis basais para a produção de ATP excedente sob demandas energéticas elevadas, sugerindo que espermatozoides de touros mais férteis possuem maior eficiência metabólica no trato reprodutivo da fêmea (De Agostini Losano et al., 2025). De fato, estudos metabólicos têm demonstrado diferenças expressivas no perfil de metabólitos energéticos em touros de maior eficiência reprodutiva (Cazaux Velho et al., 2018; Menezes et al., 2019). Esses achados reforçam a premissa de que a assinatura metabólica do sêmen é um reflexo direto da competência mitocondrial e da adaptação da célula aos ambientes uterino e tubárico.

Status oxidativo

Além da produção bioenergética, a mitocôndria desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostase oxidativa, fator crítico para os espermatozoides bovinos devido à alta sensibilidade dessas células ao estresse oxidativo (Nichi et al., 2006; Nichi et al., 2007). O estresse oxidativo (EO) espermático é um estado de desequilíbrio entre a produção e a eliminação das espécies reativas de oxigênio (EROS), produzidas principalmente durante a respiração mitocondrial. As EROS possuem um papel fisiológico na função espermática, atuando em importantes processos, tais como a hiperativação espermática, capacitação espermática, reação acrossomal, e interação entre o espermatozoide e a zona pelúcida (De Lamirande et al., 1998). Apesar da sua função fisiológica, quando a célula se encontra em um estado de estresse oxidativo, podem ocorrer danos às diferentes estruturas do espermatozoide, como as membranas plasmática e acrossomal, a mitocôndria e o DNA espermático, culminando na morte celular e por fim na redução da fertilidade (Agarwal et al., 2014; Nichi et al., 2007).

A aplicação de ferramentas para a avaliação do EO são fundamentais na compreensão dos danos à qualidade espermática e à fertilidade. A detecção de EROS pode ser realizada por meio de sondas fluorescentes que permitem identificar sua produção em níveis celular e mitocondrial. Complementarmente, a análise da susceptibilidade à peroxidação lipídica, por meio do ensaio TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), é uma alternativa interessante, uma vez que quantifica os subprodutos do estresse oxidativo e seu impacto na fertilidade. Neste sentido, Leite et al. (2022) verificaram que touros com baixa fertilidade em programas de IATF possuíam maiores concentrações de EROS e maior susceptibilidade ao estresse oxidativo, comparados aos touros de alta fertilidade. Além disso, observou-se uma correlação positiva entre o estresse oxidativo e a fragmentação do DNA espermático e uma correlação inversa entre a concentração de EROS e a integridade das membranas plasmática e acrossomal, indicando que o EO está diretamente ligado à perda da função espermática. Além do impacto do estresse oxidativo

espermático na IA, em estudo realizado por Simões et al., (2013), os resultados indicaram que o dano oxidativo aos espermatozoides foi um fator determinante para o sucesso da produção *in vitro* de embriões (PIVE). A susceptibilidade ao EO comprometeu a integridade do DNA espermático, levando a uma redução da qualidade embrionária, devido à redução da clivagem e incremento da apoptose nos embriões que atingiram o estágio de blastocisto.

Marcadores moleculares aplicados à andrologia

Marcadores moleculares ou biomarcadores podem ser definidos como alterações celulares, bioquímicas ou moleculares medidas em amostras biológicas. No entanto, recentemente, esta definição foi ampliada para incluir características fisiológicas que podem ser caracterizadas e quantificadas de forma objetiva (du Plessis et al., 2011; Mayeux, 2004). Esta nova definição é fundamental quando se trata da identificação de potenciais biomarcadores aplicados à andrologia, especialmente se estes forem ligados à fisiologia de espermatozoides, células que dependem de diferentes e complexas vias metabólicas para cumprir sua função fecundante. Apesar do aumento crescente em estudos do perfil molecular de espermatozoides em bovinos, com maior foco na metabolômica, ainda não foi possível validar uma forte correlação entre perfis metabólico, funcional e reprodutivo (Engel et al., 2019; Memili; Moura; Kaya, 2020). Este fato pode ser justificado pelo pequeno número de estudos com maior número amostral, uso de diferentes raças e, principalmente, com aplicação em animais com histórico de fertilidade conhecidos (Leite, 2022b). Ademais, para que este objetivo possa ser alcançado, há necessidade de uma abordagem que correlacione não apenas os perfis metabólicos, funcionais e reprodutivos, mas que aplique também análises multivariadas considerando vias de metabolismo energético, status oxidativo, e indicadores de capacitação.

A abordagem multivariada é fundamental para a compreensão, não apenas do efeito isolado de metabólitos identificados como potenciais biomarcadores, mas como eles interagem entre si para desempenhar uma função biológica em diferentes vias (Memili et al., 2020; Leite et al., 2022b). Esta visão pode considerar, por exemplo, metabólitos intermediários, que podem estar relacionados indiretamente com eventos que afetam a fertilidade, mas que podem ter um peso maior em conjunto. Portanto, o uso de painéis de biomarcadores poderia levar à uma maior acurácia, sensibilidade e especificidade, considerando diferenças entre ejaculados, indivíduos e raças, para identificar um perfil de fertilidade (Bieniek et al., 2016; Mayeux, 2004). Estudo realizado com os fatores fertilidade (alta e baixa com base em índices de IATF) e raça (Angus e Nelore) permitiu a identificação de vários biomarcadores de fertilidade; no entanto, o mesmo deixa clara a variação racial e o potencial da aplicação de análises multivariadas (**Tabela 1 e Figura 2**) (Leite, 2022b). Apesar do crescente número de estudos para a identificação de biomarcadores espermáticos, vale salientar que ainda há passos importantes a serem dados para que potenciais biomarcadores sejam revisados e validados com confiabilidade e repetibilidade.

Tabela 1. Exemplo de painel de potenciais biomarcadores com foco em vias de metabolismo energético e estresse oxidativo com base em dados de 80 amostras de sêmen criopreservado de touros Angus de alta e baixa fertilidade.

Potenciais biomarcadores	AUC	IC (95%)	Sensitividade	Especificidade	P
Estearoil-L-carnitina	0,9975	0,991-1	0,975	1	4,79E-25
Palmitoil-L-carnitina	0,99312	0,978-1	0,95	0,975	9,88E-24
Glutaciona	0,9781	0,951-0,996	0,975	0,875	1,43E-15
Glutaciona oxidada	0,9744	0,938-0,995	1	0,875	5,00E-21
Ácido γ-aminobutírico	0,95031	0,905-0,984	0,85	0,85	3,68E-17
Ácido Isocítrico	0,91875	0,847-0,965	0,875	0,775	1,14E-14
Ácido Adenilsuccínico	0,86219	0,751-0,927	0,75	0,725	2,19E-10
Ácido Cítrico	0,84062	0,753-0,909	0,65	0,8	8,42E-09
Ácido Láctico	0,83812	0,74-0,915	0,775	0,725	3,50E-09

Fonte: (Leite, 2022b). Resultados de análises multivariadas e univariadas baseadas em curva ROC. O algoritmo utilizado foi o *SVM* (máquina de vetores de suporte), um método de aprendizado supervisionado para analisar dados e reconhecer padrões. Colunas com valor de AUC (acurácia - área sob a curva ROC), intervalo de confiança, sensibilidade, especificidade e P de teste-T (em notação científica).

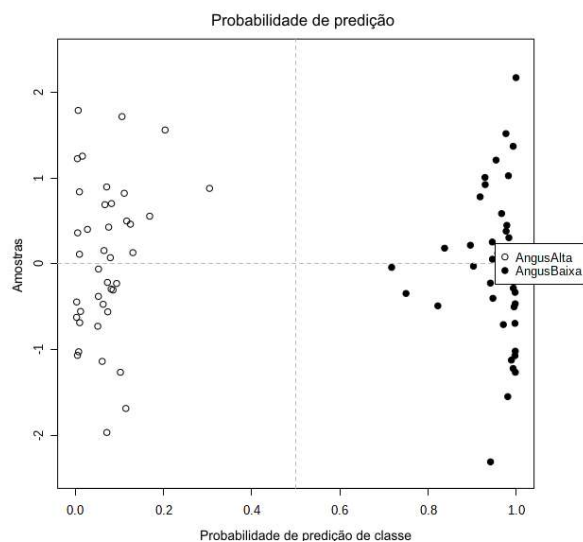


Figura 1. Exemplo de probabilidade de predição de fertilidade entre touros Angus de alta e baixa fertilidade usando o painel de biomarcadores apresentados na Tabela 1.

Considerações finais

Conclui-se que o impacto do touro é decisivo para o sucesso reprodutivo. A identificação de amostras espermáticas superiores permanece desafiadora, dada a limitação das técnicas laboratoriais rotineiras, a carência de padronização laboratorial e a natureza multivariada da fertilidade do touro. A comercialização de doses de sêmen com baixo desempenho em programas de IA e PIVE representa um gargalo econômico que demanda investigação rigorosa. Nesse sentido, o avanço contínuo da andrologia nessa área é fundamental para elevar os índices reprodutivos. A consolidação de bancos de dados robustos, integrando a maior diversidade possível de técnicas de avaliação espermática e promovendo a padronização interlaboratorial, apresenta-se como estratégia para estimar o potencial fértil dos espermatozoides bovinos.

Referências

- Agarwal A et al.** Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *The World Journal of Men's Health*, v.32, n.1, p.1–17, 2014.
- Amaral A et al.** Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction*, nov. 2013.
- Amaral, A.** Energy metabolism in mammalian sperm motility. *WIREs Mechanisms of Disease*, v.14, n.5, p163-174, set. 2022.
- Arruda RP et al.** Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* V.35, n.2, p145-151, abr./jun. 2011.
- Arruda RP et al.** Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* V.39, n.1, p47-60, jan./mar. 2015.
- Assumpção MEOA, Hamilton TRS.** New approaches in bovine spermatozoa evaluation and their relationship with male fertility. *Animal Reproduction Science*. Elsevier, v.272, p.107656, jan 2025.
- Bieniek JM, Drabovich AP, Lo KC.** Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility. *Asian Journal of Andrology*, v.18, n.3, p426-433, mai./jun. 2016.
- Cazaux Velho AL et al.** Metabolomic markers of fertility in bull seminal plasma. *Plos One*, v.13, n.4, p1-20, abr. 2018.
- Celeghini ECC et al.** Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. *Reproduction in Domestic Animals*, v.42, n.5, p.479–488, out. 2007.
- Celeghini ECC et al.** Simultaneous assessment of plasmatic, acrosomal, and mitochondrial membranes in ram sperm by fluorescent probes [Avaliação simultânea das membranas plasmática, acrossomal e mitocondrial de espermatozoides de carneiros por sondas fluorescentes]. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.62, n.3, p.536-543, 2010.
- De Agostini Losano JD et al.** Implementation of high-resolution sperm respirometry for modeling bull

- fertility. *Journal of Animal Science*, v.103, skaf209, 2025.
- De Agostini Losano JD et al.** Characterization of bioenergetic and kinematic plasticity of bovine sperm reveals novel and dynamic temporal traits. *Reproduction*, v.166, p.135–147, 2023.
- De Lamirande E et al.** Involvement of reactive oxygen species in human sperm acrosome reaction induced by A23187, lysophosphatidylcholine, and biological fluid ultrafiltrates. *Journal of Andrology*, v.19, n.5, p.585–594, 1998.
- Du Plessis SS et al.** Proteomics: a subcellular look at spermatozoa. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v.9, n.1, p.36, 2011.
- Engel KM et al.** Metabolomic profiling reveals correlations between spermogram parameters and the metabolites present in human spermatozoa and seminal plasma. *Plos One*, v.14, n.2, p.e0211679-, 20 fev. 2019.
- Leite RF et al.** Sperm function and oxidative status: Effect on fertility in *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls when semen is used for fixed-time artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, v.237, p.106922, fev. 2022a.
- Leite RF.** *Análise lipídômica, metabolômica e dos atributos espermáticos de touros com diferentes taxas de fertilidade e perfis de congelação de sêmen* [Report]. - [s.l.]: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2022b.
- Maye R.** Biomarkers: Potential uses and limitations. *NeuroRX*, v.1, n.2, p.182–188, 2004.
- Mehrparavar B et al.** Metabolomics of Male Infertility: A New Tool for Diagnostic Tests. *J Reprod Infertil*. V20, n2, p.64, 2019.
- Memili E, Moura AA, Kaya A.** Metabolomes of sperm and seminal plasma associated with bull fertility. *Animal Reproduction Science*, v.220, p.106355, 2020.
- Menezes EB et al.** Uncovering sperm metabolome to discover biomarkers for bull fertility. *BMC Genomics*, v.20, n.1, p.714, set. 2019.
- Mortimer ST.** A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. *Human Reproduction Update*. V.3, n.5, p.403-439, 1997.
- Nichi M et al.** Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. *Theriogenology*, v.66, n.4, p.822–828, set. 2006.
- Nichi M et al.** Roles of lipid peroxidation and cytoplasmic droplets on in vitro fertilization capacity of sperm collected from bovine epididymides stored at 4 and 34 °C. *Theriogenology*, v.67, n.2, p.334–340, 2007.
- O’Connell M, McClure N, Lewis SEM.** The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Human Reproduction*, v.17, n.3, p.704–709, 2002.
- Oliveira BM et al.** Fertility and uterine hemodynamic in cows after artificial insemination with semen assessed by fluorescent probes. *Theriogenology*, v.82, n.5, p.767–772, set. 2014.
- Ortega MS et al.** Influences of sire conception rate on pregnancy establishment in dairy cattle. *Biology of Reproduction*, v.99, n.6, p.1244–1254, 1 dez. 2018.
- Pfeifer LFM, Júnior JSO, Potiens JR.** Effect of sperm kinematics and size of follicle at ovulation on pregnancy rate after timed AI of beef cows. *Animal Reproduction Science*, v.201, p.55–62, 1 fev. 2019.
- Sariözkan S et al.** The influence of cysteine and taurine on microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of bull semen following cryopreservation. *Cryobiology*, v.58, n.2, p.134–138, abr. 2009.
- Silva CS et al.** Semen quality of Nellore and Angus bulls classified by fertility indices and relations with field fertility in fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, v.212, p.148–156, 1 dez. 2023.
- Simões R et al.** Influence of bovine sperm DNA fragmentation and oxidative stress on early embryo in vitro development outcome. *Reproduction*, v.146, n.5, p.433–441, nov. 2013.
- Talluri TR et al.** Integrated multi-omics analyses reveals molecules governing sperm metabolism potentially influence bull fertility. *Scientific Reports*, v.12, n.1, p.10692, 2022.
- Thomson LK et al.** Cryopreservation-induced human sperm DNA damage is predominantly mediated by oxidative stress rather than apoptosis. *Human Reproduction*, v.24, n.9, p.2061–2070, 2009.
- Vernet P, Aitken, RJ, Drevet JR.** Antioxidant strategies in the epididymis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v.216, p.31–39, 2004.