Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação — REASE

doi.org/10.51891/rease.v12i11.31958

SÊMEN REFRIGERADO EM BOVINOS: MÉTODOS LABORATORIAIS PARA PREDIÇÃO DO POTENCIAL FECUNDANTE E FERTILIDADE A CAMPO

CHILLED BOVINE SEMEN: LABORATORY METHODS FOR PREDICTING FERTILITY POTENTIAL AND FIELD FERTILITY

Sarah Cristhyna de Oliveira Santos[1]
Rosiára Rosária Dias Maziero Guaitolini[2]

RESUMO: A conservação do sêmen bovino é determinante para a execução de programas de inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Embora o congelamento em nitrogênio líquido viabilize o armazenamento e a distribuição de material genético, o processo pode comprometer a funcionalidade de parte dos espermatozoides. Esta revisão discute evidências sobre a fertilidade do sêmen refrigerado e congelado-descongelado e examina técnicas laboratoriais utilizadas para caracterizar a qualidade seminal e auxiliar na predição de fertilidade. Foram considerados estudos comparativos de prenhez e trabalhos referentes à análise computadorizada de motilidade (CASA), citometria de fluxo, integridade das membranas, função mitocondrial, estresse oxidativo e fragmentação do DNA. Um ensaio com 838 vacas Nelore relatou taxas de prenhez de 59,9% e 49,4% para sêmen refrigerado e congelado, respectivamente. Por outro lado, metanálise de 14 estudos e 8.785 inseminações encontrou diferença média de 2,95 pontos percentuais, sem evidência estatística conclusiva de superioridade global da refrigeração (p = 0,075). A literatura também indica que modelos que integram CASA e citometria podem caracterizar melhor a fertilidade do touro do que testes isolados. Conclui-se que a escolha do método de conservação deve considerar as condições operacionais e reprodutivas e que nenhum marcador laboratorial, isoladamente, substitui a avaliação de prenhez em campo.

Palavras-chave: Inseminação artificial. Reprodução. Sêmen bovino.

ABSTRACT: Bovine semen preservation is essential for artificial insemination and fixed-time artificial insemination programs. Cryopreservation enables long-term storage and genetic dissemination but may compromise sperm function. This narrative review examines fie fertility outcomes using cooled and frozen-thawed bull semen and describes laboratory methods used to assess semen quality and support fertility prediction. Evidence concerning computer-assisted sperm analysis (CASA), flow cytometry, plasma and acrosomal membrane integrity, mitochondrial function, oxidative stress, and sperm DNA fragmentation is discussed. A study of 838 Nellore cows reported pregnancy rates of 59.9% and 49.4% with cooled and frozen-thawed semen, respectively. However, a meta-analysis of 14 studies and 8,785 inseminations found an overall difference of 2.95 percentage points without conclusive statistical evidence of superiority (p = 0.075). Combining CASA and cytometric traits may improve bull fertility characterization compared with isolated assays. Preservation methods should therefore be selected according to reproductive and logistical circumstances, while field pregnancy outcomes remain essential for validating laboratory markers.

Keywords: Artificial insemination. Reproduction. bovine semen.

[1]Discente do curso de medicina veterinária.
[2]Professora do curso de medicina veterinária no Centro Universitário UNIVEL.

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial ampliou o acesso à genética de reprodutores de mérito zootécnico e tornou mais previsível o planejamento reprodutivo dos rebanhos bovinos. Na IATF, entretanto, o desempenho não depende apenas da escolha do touro ou da qualidade aparente da dose seminal. Condição corporal, categoria da fêmea, resposta ao protocolo hormonal, expressão de estro, momento da ovulação e técnica de inseminação também interferem na probabilidade de concepção. A avaliação do sêmen precisa, portanto, ser interpretada dentro desse conjunto de fatores, e não como previsão direta e isolada de prenhez (BOLLWEIN; MALAMA, 2023; PINZÓN-OSORIO et al., 2026b).

O sêmen congelado-descongelado consolidou-se na rotina das centrais de inseminação por permitir estocagem em nitrogênio líquido e distribuição a diferentes regiões. Essa vantagem logística tem como contrapartida a exposição dos espermatozoides a estresses térmicos, osmóticos e oxidativos durante o processamento. A refrigeração de ejaculado diluído, em geral por curto período sob temperatura e diluidor controlados, evita a etapa de congelamento profundo, mas restringe a janela de utilização da dose (PAPA et al., 2015; UMIRBAEVA et al., 2024).

Comparações de fertilidade em campo apresentam resultados variáveis. Parte dos experimentos registra ganhos de prenhez com sêmen refrigerado; outros não identificam diferença relevante entre métodos. Paralelamente, avanços na análise espermática tornaram possível mensurar, além da motilidade, atributos celulares relacionados à capacidade de sobrevivência e fecundação. A integração dessas informações é particularmente importante para interpretar por que duas amostras com motilidade semelhante podem apresentar resultados reprodutivos distintos (SILVA et al., 2023).

Assim, este trabalho teve como objetivo revisar o emprego de sêmen bovino refrigerado e congelado-descongelado, relacionando os resultados de prenhez à fisiologia espermática e às principais ferramentas laboratoriais empregadas na avaliação de qualidade seminal e na investigação de marcadores preditivos de fertilidade.

METODOLOGIA

O estudo caracteriza-se como uma revisão bibliográfica, de abordagem qualitativa e caráter descritivo, baseada em publicações científicas sobre a utilização do sêmen refrigerado em bovinos, sua fertilidade a campo e os métodos laboratoriais de avaliação do potencial

fecundante.

O levantamento foi realizado principalmente na plataforma Google Acadêmico, utilizando descritores relacionados à conservação seminal, como “sêmen bovino refrigerado”, “sêmen bovino congelado”, “qualidade espermática”, “fertilidade a campo”, “CASA” e “citometria de fluxo”. Foram priorizados estudos atuais e publicações relevantes, incluindo trabalhos anteriores quando necessários à fundamentação teórica.

Por conseguinte, selecionados artigos científicos e revisões de literatura relacionados aos métodos de conservação seminal, às alterações na qualidade espermática e aos resultados reprodutivos. Também foram considerados estudos com equinos e suínos quando pertinentes à comparação entre espécies.

Por fim, os dados e resultados encontrados foram analisados de forma descritiva e comparativa, considerando os parâmetros laboratoriais, as condições de conservação seminal e os índices reprodutivos apresentados pelos estudos. Essa organização permitiu discutir as diferenças entre o uso de sêmen refrigerado e congelado, bem como compreender a importância da associação entre diferentes métodos laboratoriais para uma avaliação mais abrangente do potencial fecundante dos espermatozoides bovinos.

REFRIGERAÇÃO ESPERMÁTICA

A refrigeração reduz a atividade metabólica e permite conservar o sêmen durante intervalos compatíveis com a distribuição e utilização programada. Sua eficiência, contudo, está condicionada ao diluidor, à taxa de redução da temperatura, à manutenção da cadeia térmica e ao período entre coleta e inseminação. Mesmo sem congelamento, a exposição prolongada ao frio pode modificar a organização lipídica de membranas e comprometer a motilidade, sobretudo quando ocorrem oscilações térmicas. Assim, resultados obtidos com material conservado a 5 °C por 24 horas não devem ser extrapolados automaticamente para outros tempos ou protocolos (BORGES-SILVA et al., 2015; PAPA et al., 2015).

Papa et al. (2015) compararam sêmen Nelore refrigerado a 5 °C por 24 horas com e sem glicerol e sêmen congelado contendo glicerol. A análise conjunta de avaliações seminais e fertilidade mostrou que a composição do meio pode alterar os resultados e que a simples distinção entre “refrigerado” e “congelado” é insuficiente para explicar todas as diferenças observadas

CONGELAÇÃO, DESCONGELAÇÃO E CRIOINJÚRIAS

Na criopreservação, a utilização de crioprotetores e curvas adequadas de resfriamento busca limitar a formação de gelo e o desequilíbrio osmótico. Ainda assim, parte das células sofre lesões de membrana plasmática e acrossomal, alterações mitocondriais e perda de capacidade funcional após o descongelamento. A redução de motilidade não sintetiza esses eventos: uma célula móvel pode apresentar membrana danificada ou alterações nucleares relevantes, ao passo que a interpretação de determinada alteração depende do ensaio empregado (UMIRBAEVA et al., 2024).

É necessário distinguir sêmen refrigerado de ejaculado fresco do material previamente congelado, descongelado e posteriormente mantido sob refrigeração. A segunda condição parte de células já submetidas à crioinjúria e responde a uma pergunta operacional diferente. Estudos envolvendo essas duas estratégias não devem ser reunidos como intervenções equivalentes (BELTRÃO et al., 2025).

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ESPERMÁTICA E PREDIÇÃO DE FERTILIDADE EXAME CONVENCIONAL, CONCENTRAÇÃO E MORFOLOGIA

A avaliação seminal tradicional inclui volume, aspecto, concentração, motilidade estimada e morfologia espermática. A quantificação de defeitos de cabeça, peça intermediária e cauda permanece relevante porque anormalidades estruturais podem prejudicar o deslocamento e a interação com o oócito. Entretanto, a subjetividade da leitura microscópica e a sobreposição entre os atributos limitam a capacidade de inferir, a partir de um único indicador, a fertilidade real de uma dose. A interpretação deve considerar também a quantidade de espermatozoides funcionalmente competentes por dose inseminante (BOLLWEIN; MALAMA, 2023; DEJARNETTE et al., 2022).

ANÁLISE COMPUTADORIZADA DA CINÉTICA ESPERMÁTICA (CASA)

Os sistemas de análise computadorizada do sêmen, conhecidos pela sigla CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis), registram trajetórias individuais e oferecem medidas mais padronizadas de movimento. Entre as variáveis frequentemente utilizadas estão motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade retilínea (VSL), velocidade média do percurso (VAP), linearidade (LIN), retilinearidade (STR), oscilação lateral da cabeça (ALH) e frequência de batimento cruzado (BCF). Em conjunto, essas

medidas permitem identificar padrões cinéticos que não são percebidos adequadamente na análise visual.

A interpretação dos resultados depende de temperatura de leitura, concentração, câmara, profundidade, taxa de aquisição e configurações do software. Por isso, diferenças numéricas entre laboratórios não devem ser entendidas automaticamente como diferenças biológicas. A maior velocidade de um espermatozoide também não implica, isoladamente, maior capacidade de fecundação: a trajetória e a integridade celular precisam ser consideradas (UMIRBAEVA et al., 2024; SILVA et al., 2023).

Em estudo brasileiro com amostras de 28 touros Nelore e Angus, Silva et al. (2023) compararam modelos baseados em análise convencional, CASA, citometria de fluxo por imagem e combinação de parâmetros. Os coeficientes de determinação reportados foram 0,154, 0,380, 0,259 e 0,481, respectivamente, favorecendo o modelo integrado para explicar a variação do índice de fertilidade utilizado no estudo. Esses valores não significam que o modelo acerte 48,1% das prenhezes individualmente; indicam desempenho explicativo no conjunto analisado e exigem validação externa antes de qualquer aplicação universal.

CITOMETRIA DE FLUXO: VIABILIDADE E INTEGRIDADE DE MEMBRANAS

A citometria de fluxo permite analisar milhares de células individualmente, classificando subpopulações a partir de sinais ópticos e fluorescentes. Para estimar viabilidade, são empregados marcadores de permeabilidade da membrana plasmática, como iodeto de propídio (PI), frequentemente associados a corantes permeantes a células com membranas íntegras, como SYBR-14. A classificação de células vivas, mortas e populações intermediárias exige compensação de fluorescência, controles apropriados e estratégia consistente de seleção de eventos (gating).

Além da viabilidade, sondas fluorescentes permitem investigar integridade acrossomal, por exemplo com lectinas como PNA ou PSA combinadas a marcadores de viabilidade. A interpretação requer cuidado, um sinal correspondente a alteração acrossomal não comprova, por si só, que ocorreu reação acrossômica fisiológica adequada. Em amostras preservadas, parte do sinal pode decorrer de dano de membrana. A citometria de fluxo convencional também não substitui a avaliação morfológica detalhada; a modalidade por imagem acrescenta informações estruturais e melhora a discriminação de células e detritos (DEJARNETTE et al., 2022; UMIRBAEVA et al., 2024).

ATIVIDADE MITOCONDRIAL E PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

A peça intermediária concentra mitocôndrias relacionadas ao suprimento energético dos espermatozoides. Marcadores como JC-1 e sondas potencial-dependentes permitem investigar o potencial de membrana mitocondrial, atributo que pode ser comprometido pelo processamento seminal. A associação entre potencial mitocondrial, viabilidade e motilidade foi destacada por Umirbaeva et al. (2024), sem que isso signifique equivalência entre essas variáveis.

O estresse oxidativo constitui outra dimensão da qualidade seminal. Espécies reativas de oxigênio (EROs) participam de processos fisiológicos, mas sua produção excessiva pode intensificar peroxidação lipídica e danos ao DNA. Ensaios com sondas como DCFH-DA ou MitoSOX, bem como medidas de peroxidação lipídica, ajudam a caracterizar esse fenômeno; porém, são sensíveis ao preparo, à especificidade do reagente e à interpretação dos resultados. Não existe um ponto de corte único capaz de definir, de forma segura, a fertilidade de todos os touros (BOLLWEIN; MALAMA, 2023).

INTEGRIDADE DO DNA E CROMATINA ESPERMÁTICA

O DNA espermático pode apresentar fragmentação mesmo quando a célula conserva motilidade e aspecto morfológico aparentemente satisfatórios. Entre os métodos utilizados estão o SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay), que estima suscetibilidade da cromatina à desnaturação e gera indicadores como índice de fragmentação do DNA; o TUNEL, baseado na marcação de extremidades de quebras de DNA; e o ensaio de dispersão da cromatina espermática (SCD), que avalia padrões de halo após processamento da amostra. Os procedimentos investigam propriedades relacionadas, mas não são intercambiáveis e podem produzir resultados diferentes para a mesma população.

INTERPRETAÇÃO INTEGRADA DOS TESTES

Os testes laboratoriais descrevem dimensões complementares da célula espermática: a cinética informa deslocamento, a citometria caracteriza integridade e metabolismo e os ensaios nucleares investigam cromatina e DNA. Combinar marcadores pode melhorar a discriminação de amostras, mas também aumenta o risco de modelos superajustados quando a amostra de touros é pequena. Para avaliação preditiva, é necessário relacionar os indicadores a prenhez por

inseminação, ajustar fatores associados às fêmeas e ao manejo e testar os modelos em rebanhos externos. Essa distinção entre qualidade seminal in vitro e fertilidade efetiva é central na interpretação de Silva et al. (2023) e Bollwein e Malama (2023).

FERTILIDADE COM SÊMEN REFRIGERADO E CONGELADO

Borges-Silva et al. (2015) relataram prenhez de 59,9% com sêmen refrigerado e 49,4% com sêmen congelado-descongelado em experimento com 838 vacas Nelore, diferença de 10,5 pontos percentuais. A motilidade também favoreceu as doses refrigeradas no protocolo avaliado. Trata-se de evidência importante de benefício possível, mas restrita às condições de coleta, processamento e IATF adotadas pelos autores.

Papa et al. (2015) estudaram 762 vacas Nelore distribuídas entre sêmen refrigerado a 5 °C durante 24 horas com glicerol (51% de concepção), refrigerado sem glicerol (44%) e congelado com glicerol (41%). A superioridade estatística foi reportada na comparação entre refrigerado com glicerol e congelado; o grupo refrigerado sem glicerol apresentou resultado intermediário. Desse modo, o estudo não autoriza atribuir toda a diferença de concepção exclusivamente à refrigeração, sem considerar a formulação do diluidor.

Pinzón-Osorio et al. (2026) observaram que as vantagens do sêmen refrigerado podem ser mais expressivas em determinadas condições ovarianas. Em subgrupo de fêmeas com folículos inferiores a 8,5 mm na retirada do dispositivo de progesterona, relataram prenhez de 71,9% com sêmen refrigerado e 38,0% com congelado. Embora esse achado contribua para a hipótese de maior sobrevida funcional quando a ovulação ocorre mais tardiamente, representa um contraste específico, não o efeito médio de todas as fêmeas.

Em análise mais abrangente, Pinzón-Osorio et al. (2026b) reuniram 14 estudos, 8.785 inseminações e 3.816 prenhezes. A diferença global de risco favoreceu o sêmen refrigerado em 2,95 pontos percentuais, mas o intervalo de confiança de 95% (-2,75 a 8,64 pontos) incluiu a ausência de efeito e o valor de p foi 0,075. A heterogeneidade elevada (I^2 = 81,8%) indica que características biológicas e operacionais modificam os resultados. Entre as condições investigadas, destacaram-se maior benefício em vacas sem expressão de estro e diferenças associadas ao tamanho da palheta. Portanto, a metanálise não sustenta a afirmação de que a refrigeração seja universalmente superior.

PARTICULARIDADES ESPÉCIE-ESPECÍFICAS NA CONSERVAÇÃO DO SÊMEN REFRIGERADO

Khan et al. (2026) compararam a conservação do sêmen bovino e suíno durante seis dias, nas temperaturas de 5 °C e 16 °C, utilizando amostras de dez touros e dez cachaços. Os resultados demonstraram respostas diferentes entre as espécies: nos bovinos, a temperatura de 5 °C favoreceu diversos parâmetros de qualidade espermática, enquanto, nos suínos, a conservação a 16 °C apresentou vantagens em determinados indicadores funcionais. Esses achados reforçam que a temperatura de armazenamento deve considerar as particularidades fisiológicas de cada espécie.

Na espécie equina, Umair et al. (2023) avaliaram o sêmen de 17 garanhões armazenado a 5 °C por até 96 horas. Ao final desse período, aproximadamente 71 ± 8% dos espermatozoides permaneciam viáveis e com o acrossoma íntegro. Entretanto, a proporção de células que também apresentavam baixa fluidez da membrana e baixa concentração intracelular de cálcio diminuiu de 63 ± 16% para 29 ± 18%, demonstrando que a preservação estrutural não garante a manutenção de todas as funções espermáticas. Em conjunto, esses estudos demonstram que a conservação do sêmen refrigerado depende da espécie, da temperatura, do diluidor e do tempo de armazenamento. Para bovinos, a avaliação da motilidade deve ser complementada por exames de viabilidade e integridade das membranas, além da validação dos resultados laboratoriais com os indices reprodutivos, não permitindo concluir diretamente qual espécie apresenta maior fertilidade.

SÊMEN BOVINO REFRIGERADO E CONGELADO: COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

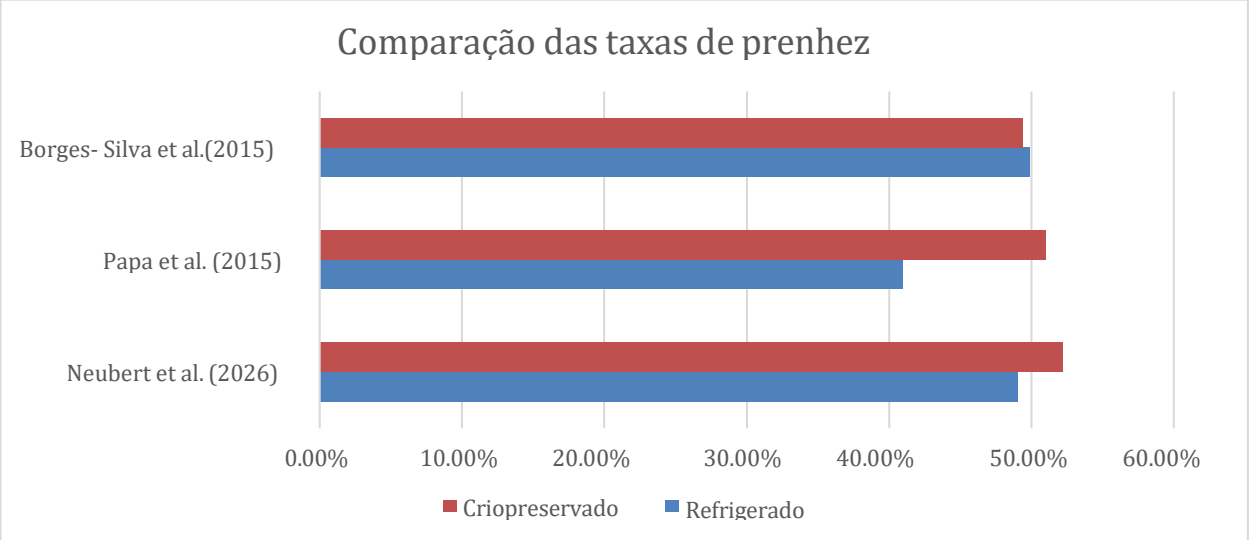
A comparação entre sêmen refrigerado e criopreservado também deve considerar a possibilidade de reproduzir os resultados entre diferentes ejaculados, touros e lotes de processamento. Na refrigeração, a qualidade final depende da manutenção das condições de conservação durante o intervalo entre a coleta e a inseminação. Na criopreservação, a padronização das etapas de congelamento e descongelamento assume importância particular, pois diferenças no processamento podem modificar a qualidade espermática após a recuperação da dose. Nesse sentido, Murillo et al. (2026) observaram que o tipo de diluidor e o método de congelamento influenciaram determinados parâmetros de motilidade e cinemática espermática em touros Brahman, reforçando a importância do controle dos procedimentos de processamento para a obtenção de resultados consistentes.

Ataei-Nazari et al. (2026) verificaram que o método automático de congelamento apresentou melhores resultados de qualidade espermática após a descongelação em comparação com o congelamento manual. Esse achado evidencia que a tecnologia empregada no processamento influencia o desempenho do sêmen criopreservado. Assim, diferenças observadas entre sêmen refrigerado e congelado não devem ser interpretadas sem considerar a qualidade dos protocolos utilizados em cada tratamento.

Sob essa perspectiva, comparações experimentais mais consistentes devem utilizar alíquotas do mesmo ejaculado, submetidas aos diferentes métodos de conservação, com concentração espermática, diluidores e critérios de avaliação previamente definidos. Esse delineamento permite reduzir a influência de diferenças individuais entre touros e facilita a identificação dos efeitos associados especificamente ao método de conservação. Trata-se de uma recomendação metodológica para pesquisas futuras e não de um resultado experimental atribuído diretamente aos autores citados.

COMPARAÇÃO DAS TAXAS DE PRENHEZ COM SÊMEN BOVINO REFRIGERADO E CRIOPRESERVADO.

Figura 1 – Comparação das taxas de prenhez/concepção com sêmen bovino refrigerado e criopreservado.



Fonte: Elaborado pela autora com base em Borges-Silva et al. (2015), Papa et al. (2015) e Neubert et al. (2026).

A comparação demonstra que o sêmen refrigerado apresentou taxas de prenhez numericamente superiores nos estudos de Borges-Silva et al. (2015) e Papa et al. (2015). Entretanto, no estudo de Neubert et al. (2026), a taxa de concepção foi numericamente superior no grupo que recebeu sêmen criopreservado, sem diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (P = 0,38). Esses resultados indicam que a eficiência reprodutiva depende de fatores como o diluidor utilizado, o processamento, o tempo de armazenamento e as condições de inseminação. Portanto, não é possível afirmar que um método seja universalmente superior ao outro

DISCUSSÃO

A comparação entre métodos de conservação deve ser conduzida em dois níveis. O primeiro é a qualidade laboratorial da dose: motilidade, estrutura, viabilidade e respostas funcionais após armazenamento. O segundo é a fertilidade em campo, expressa pela probabilidade de prenhez após inseminação. Embora relacionados, esses desfechos não são equivalentes. Um ganho em VAP ou em células com membrana íntegra pode representar melhor conservação celular sem, necessariamente, resultar em aumento detectável de prenhez quando outros fatores são limitantes (SILVA et al., 2023; PINZÓN-OSORIO et al., 2026b).

O emprego de CASA é particularmente pertinente em comparações entre sêmen refrigerado e congelado, pois permite observar alterações no movimento que a motilidade visual não identifica. Entretanto, a ausência de padronização instrumental impede a comparação direta de determinados valores entre estudos. Na mesma lógica, os percentuais de células viáveis obtidos por citometria devem ser acompanhados da descrição dos fluorocromos, controles e seleção de eventos, sobretudo quando se pretende comparar trabalhos conduzidos por laboratórios distintos.

O interesse por painéis multiparamétricos decorre da própria complexidade da fecundação. Para alcançar o oócito e participar da fertilização, o espermatozoide precisa apresentar deslocamento adequado, membranas funcionais, metabolismo compatível com a sobrevivência e integridade nuclear suficiente para sustentar o desenvolvimento embrionário. Silva et al. (2023) forneceram evidência empírica de que reunir indicadores cinéticos e citométricos aumentou o poder explicativo de um modelo de fertilidade em relação a abordagens isoladas. Isso não elimina a necessidade de validação prospectiva e análise do custo-benefício dos exames.

No planejamento experimental, seria recomendável comparar alíquotas do mesmo ejaculado distribuídas entre tratamentos de conservação, controlando touro, dose inseminante, diluidor e tempo de avaliação. Amostras deveriam ser analisadas no início e ao final do período de armazenamento por CASA, citometria de viabilidade e integridade acrossomal, potencial mitocondrial e um ensaio de integridade de DNA. Sempre que possível, a avaliação in vitro deve ser vinculada a dados de prenhez, com ajuste para categoria, condição corporal, estro e lote de inseminação. Trata-se de proposta metodológica derivada da literatura, não de procedimento efetivamente realizado no trabalho revisado.

A escolha prática também deve contemplar disponibilidade do reprodutor, transporte, custo da dose, perdas de armazenamento, uso de nitrogênio líquido e programação das inseminações. O sêmen congelado mantém papel central na difusão genética em grande escala. O refrigerado pode ser vantajoso em circuitos logísticos curtos e programas sincronizados, desde que se mantenham as condições térmicas exigidas. Nenhum resultado isolado de prenhez permite afirmar qual método oferece menor custo por gestação em todos os sistemas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura indica que o sêmen refrigerado pode melhorar a taxa de prenhez em situações específicas, mas a evidência agregada não demonstra superioridade global consistente sobre o sêmen congelado-descongelado. O desempenho depende do protocolo de conservação, do tempo de armazenamento, da dose inseminante e da sincronização entre inseminação e ovulação. Ao lado dessas condições, a qualidade espermática deve ser interpretada como um conjunto de atributos complementares.

A análise computadorizada de cinética (CASA) permite caracterizar trajetórias e velocidades; a citometria de fluxo acrescenta informações sobre viabilidade, integridade de membranas e função mitocondrial; e os testes de fragmentação de DNA, estresse oxidativo e funcionalidade acrossomal ampliam a investigação da competência espermática. A integração desses métodos é mais informativa que avaliações isoladas, mas sua capacidade de predizer fertilidade exige validação com resultados de campo. Assim. pesquisas futuras devem associar painéis laboratoriais padronizados a estudos controlados de prenhez e custos, sobretudo em condições de IATF representativas da bovinocultura brasileira.

REFERÊNCIAS

ATAEI-NAZARI, S. et al. Effects of type of extender and freezing method on bovine semen post-thawed quality characteristics and bacterial contamination. Reproduction in Domestic Animals, v. 61, n. 4, art. e70208, 2026. DOI: https://doi.org/10.1111/rda.70208.

BELTRÃO, Nelma Pinheiro Fragata et al. Thawed-refrigerated bovine semen maintains fertility: a practical strategy for fixed-time artificial insemination in remote regions. Observatório de la Economia Latinoamericana, v. 23, n. 11, 2025. DOI: https://doi.org/10.55905/oelv23n11-112.

BOLLWEIN, H.; MALAMA, E. Review: Evaluation of bull fertility. Functional and molecular approaches. Animal, v. 17, supl. 1, art. 100795, 2023. DOI: https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100795.

BORGES-SILVA, Juliana C. et al. Cooled semen for fixed-time artificial insemination in beef cattle. Reproduction, Fertility and Development, 2015. DOI: https://doi.org/10.1071/RD14185.

DEJARNETTE, J. M.; HARSTINE, B. R.; MCDONALD, K.; MARSHALL, C. E. Commercial application of flow cytometry for evaluating bull sperm. Animal Reproduction Science, v. 246, art. 106838, 2022. DOI: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106838.

GONZÁLEZ-MARÍN, C.; ROSS, P.; BRITO, L. F. C. Effective standardization of bovine frozen semen sperm motility analysis in a multi-laboratory setting. Animal Reproduction Science, v. 274, art. 107793, 2025. DOI: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2025.107793.

KHAN, M. U. et al. Comparative analysis of in vitro aging in liquid-preserved boar and bull semen stored at 5°C and 16°C. Andrology, v. 14, n. 7, p. 2071–2080, 2026. DOI: https://doi.org/10.1111/andr.70318.

MURILLO, L. et al. The effect of male age, extender, cooling time and freezing method on post-thaw Brahman cattle sperm motility. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 55, 2026. DOI: https://doi.org/10.37496/rbz5520250151.

NEUBERT, M. L. et al. Improving long-term storage of liquid-preserved bovine semen: effect of extender, cooling protocol and holding temperature on sperm quality and fertility. Theriogenology, v. 249, art. 117604, 2026. DOI: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2025.117604.

PAPA, Patricia M. et al. Effect of glycerol on the viability and fertility of cooled bovine semen. Theriogenology, v. 83, n. 1, p. 107-113, 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.009.

PINZÓN-OSORIO, César Augusto et al. Pregnancy outcomes after TAI with cooled versus frozen bovine semen: a meta-analysis. Animal Reproduction Science, v. 290, art. 108183, 2026. DOI: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2026.108183.

SATAKE, N.; BOE-HANSEN, G. Flow cytometry in the assessment of sperm function parameters: viability, acrosomal integrity, membrane stability, and mitochondrial status. Methods in Molecular Biology, v. 2897, p. 289–303, 2025. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4406-5_20.

SILVA, Camile Sanches 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, 2023. DOI: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.09.001.

UMAIR, M. et al. In vitro aging of stallion spermatozoa during prolonged storage at 5°C. Cytometry Part A, 2023. DOI: https://doi.org/10.1002/cyto.a.24712.

UMIRBAEVA, Anel et al. Systematic review and meta-analysis of cryopreserved bovine sperm assessment: harnessing imaging flow cytometry for multi-parametric analysis. Frontiers in Veterinary Science, v. 11, art. 1371586, 2024. DOI: https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1371586.