



Fertilidade do touro e Perdas Gestacionais em Bovinos: Impacto de Fatores Genéticos e Ambientais na Eficiência Reprodutiva

Bull Fertility and Gestational Losses in Cattle: Impact of Genetic and Environmental Factors on Reproductive Efficiency

Érikliis Nogueira^{1,2*}, Juan Cuevas², Igor Matheus Amaral Gauna Zenteno², Altair de Souza Rodrigues Neto², Juliana Correa Borges Silva¹, Roberto Augusto de Almeida Torres Junior¹

¹EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande, MS-Brasil.CEP: 79106-550

²CIVET UFMS- Programa de Pós Graduação em Ciência Animal- Universidade Federal de Mato Grosso do Sul- tel +55(67)30682007

Resumo

A fertilidade e as perdas gestacionais em bovinos são temas centrais para a produtividade na pecuária, influenciados por fatores genéticos e ambientais. O sucesso reprodutivo impacta diretamente o rendimento econômico das propriedades, sendo desejável que cada vaca produza um bezerro ao ano. O avanço das biotecnologias, especialmente da IATF, elevou a eficiência do processo, mas a taxa de prenhez ainda é limitada por diversos fatores, como manejo, condição corporal, genética dos animais e sanidade reprodutiva. A fertilidade do touro e a qualidade do sêmen representam pontos críticos e multifatoriais, com impactos expressivos na taxa de concepção e nas perdas gestacionais – estas, por sua vez, apresentando variação entre fazendas, raças e categorias. Estudos recentes mostram que, mesmo partidas de sêmen consideradas de boa qualidade podem apresentar variações importantes em fertilidade devido a fatores moleculares ainda não detectáveis por avaliações convencionais. Avanços nas áreas de genômica, proteômica e análise de microRNAs têm permitido a identificação de biomarcadores promissores ligados à fertilidade e à resistência a perdas gestacionais, possibilitando diagnósticos mais precisos e a seleção de animais superiores para reprodução. Contudo, esses métodos ainda enfrentam desafios quanto à integração de dados ômicos, complexidade das interações genótipo-fenótipo e necessidade de validação em larga escala com dados a campo. O desenvolvimento e aplicação dessas ferramentas na rotina visam aprimorar a acurácia das estimativas de fertilidade, minimizar prejuízos causados por touros subfêrteis ou infêrteis e otimizar o manejo reprodutivo, promovendo maior eficiência e sustentabilidade para a produção bovina.

Palavras-chave: P/IA; perdas gestacionais; biomarcadores; inseminação artificial; ômicas.

Abstract

Fertility and pregnancy loss in cattle are central topics for livestock productivity, influenced by both genetic and environmental factors. Reproductive success directly impacts the economic performance of farms, with the goal of each cow producing one calf per year. Advances in biotechnology, particularly and fixed-time artificial insemination (FTAI), have improved reproductive efficiency; however, conception rates remain limited by various factors such as management, body condition, animal genetics, and reproductive health. Bull fertility and semen quality are critical, multifaceted points with significant effects on conception rates and pregnancy losses, which in turn vary greatly between farms, breeds, and animal categories. Recent studies have shown that even semen batches of acceptable quality can display important variations in field fertility due to molecular factors undetectable by conventional analysis. Advances in genomics, proteomics, and microRNA analysis have enabled the identification of promising biomarkers related to fertility and resistance to pregnancy loss, allowing for more accurate diagnoses and selection of superior breeding animals. Nevertheless, these technologies face challenges regarding the integration of omics data, the complexity of genotype-phenotype interactions, and the need for large-scale field validation. The development and practical implementation of these tools in breeding programs aim to improve the accuracy of fertility estimates, reduce losses due to subfertile or infertile bulls, and optimize reproductive management, promoting greater efficiency and sustainability in cattle production.

Key-words: P/AI; pregnancy loss; biomarkers; artificial insemination; omics.

Introdução

Para o aumento produtivo, é desejável que cada vaca produza um bezerro por ano, diminuindo o intervalo entre partos e aumentando o número de vacas prenhes no início da estação de monta (MORAES et al, 2001). Uma vaca que não produz um bezerro ao ano devido a falha na concepção, perda gestacional ou mortalidade neonatal, eleva o custo médio, impactando o resultado econômica da propriedade (JUNQUEIRA E ALFIERI, 2006; REESE, et al 2019)

Já a inseminação artificial no Brasil vem evoluindo com aumento de vacas inseminadas, alcançando em 2021, aproximadamente 27 milhões de protocolos comercializados (BARUSELLI, 2022). Em relação à técnica de IATF, a taxa de prenhez média esperada é próxima a 45-50%, sendo a fertilidade bovina um processo multifatorial, contando com qualidade do sêmen, fertilidade da fêmea, manejo adequado do rebanho e tempo preciso ao usar a inseminação artificial (IA).

Dentre os fatores inerentes à fêmea, salienta-se o anestro pós-parto, a baixa condição corporal no início do protocolo e categoria, como fatores importantes na determinação da prenhez. Por outro lado, a fertilidade do sêmen e do touro, muitas vezes negligenciada, deve ser considerada, pelo grande impacto que pode promover nas taxas de prenhez. Em outro ponto importante, alguns estudos com avaliação de perdas gestacionais, observaram grande variação nos índices (3,3%-32,3%), que foram também influenciados pela raça, ECC, categoria, fazenda (REESE et al., 2019), sem esquecer das doenças reprodutivas, que podem elevar as perdas quando a propriedade não possui manejo sanitário eficiente. Vale ressaltar que este é um índice difícil de ser avaliado rotineiramente, devido ao aumento de manejo nas propriedades, porém muito impactante na eficiência reprodutiva do rebanho.

O potencial reprodutivo de animais de produção pode ser diagnosticado através da análise de diferentes variáveis, desde a etapa de fertilização até o parto. Partidas de sêmen que apresentam valores de motilidade e morfologia dentro das aceitáveis para o uso na Inseminação Artificial (IA) podem mostrar deficiência no potencial de fertilidade (BARBOSA et al., 2006), existindo grandes diferenças nas taxas de prenhez de acordo com o touro utilizado em IATF, assim como as perdas embrionárias. Essas duas características tem um grande impacto econômico, e machos de baixa fertilidade, quando permanecem longo tempo no rebanho, causam grandes prejuízos na produtividade do sistema, por não serem diagnosticados em tempo hábil.

Assumindo, um touro infértil ou subfértil em monta natural, seu impacto será grande com a diminuição do número de bezerros nascidos (assumimos uma redução de 20 bezerros por ano). Já um touro que carregue algum defeito que cause algum impacto na fertilidade (prenhez ou perda gestacional) e não seja detectado por análises convencionais (motilidade, patologia, CASA), ao ser utilizado em inseminação artificial, pode ter um impacto de milhares de bezerros que deixam de ser produzidos, demonstrando a importância de buscar marcadores que identifiquem tais alterações. Alguns exemplos podem ser citados como no trabalho de Adams et al. (2016) que identificaram o haplótipo HH1 no cromossomo 5- associado a uma taxa reduzida de concepção e a um déficit de homozigotos na população de gado Holstein. O touro Pawnee Farm Arlinda Chief, nascido em 1962 teve mais de 16000 filhas, e a mutação foi responsável por 525.000 abortos espontâneos em todo o mundo nos últimos 35 anos, e perdas estimadas em aproximadamente \$420 milhões. A identificação da mutação permitiu a seleção contra o alelo deletério em esquemas de reprodução, ajudando a eliminar este defeito da população, reduzindo a frequência de portadores de 8% nas décadas passadas para 2% em 2015. Outro exemplo é trabalho de Nogueira et al. (2024), onde foi encontrada uma mutação em touro Angus que promoveu uma alteração sutil em espermatozoide (na região da manchete) e ao ser usado em IATF, produzia baixas taxas de prenhez (22%), onde essa mutação pode ser passada pelo gameta e quando acasalado com fêmeas portadoras do mesmo alelo, podem comprometer o desenvolvimento embrionário.

Fatores de fertilidade em machos são complexos, e o sucesso do gameta só acontece um tempo após a entrada no oócito, sendo necessário compreensão dos fatores que acontecem durante todo período. Devido ao caminho que o espermatozoide precisa percorrer até a fertilização, fatores como motilidade e morfologia são os principais exames realizados, sendo mais evidentes em casos claros de infertilidade ou subfertilidade (DIAS et al., 2009), porém não garantem informações completas sobre a real fertilidade (PAYAN-CARREIRA et al., 2013). A verdadeira eficiência reprodutiva não está somente na capacidade de fertilização, mas também na capacidade de suportar o desenvolvimento embrionário.

A utilização de marcadores moleculares voltados à reprodução em ruminantes apresenta um grande potencial, visto que tais resultados implicam diretamente no incremento do valor comercial do produto oferecido por empresas do ramo de genética animal e inseminação artificial (THUNDATHIL et al., 2016), e novas tecnologias vêm investigando componentes moleculares e sua influência, e as ciências

ômicas, como a genômica, proteômica, metabolômica e transcriptômica (ex: miRNAs) têm desempenhado um papel significativo no esclarecimento dos fatores relacionas a fertilidade de machos. Essas disciplinas científicas analisam e caracterizam as moléculas presentes nos organismos e nas células, na busca de possíveis biomarcadores de fertilidade e proporcionando informações valiosas sobre os processos biológicos subjacentes à fertilidade masculina (KLEIN et al., 2022; LLAVANERA et al., 2022; TIWARI et al., 2024).

Também a aplicação da citometria de fluxo, permite uma análise proteômica no nível de célula única que podem ser combinadas com ferramentas estatísticas poderosas para identificação de subpopulações, que podem levar a diagnósticos mais precisos de fertilidade, além de análise computadorizada do sêmen (CASA). A interpretação de maneira precisa dos dados de uma única ômica é desafiadora devido à complexidade dos fatores bioquímicos envolvidos. A integração de multi-ômicas fornece suporte preenchendo a lacuna da relação genótipo-fenótipo, e tem o potencial de revolucionar o diagnóstico de fertilidade em machos, por proporcionar uma visão mais abrangente dos fatores biológicos relacionados a capacidade reprodutiva, o que possibilita a identificação de biomarcadores (TALLURI et al., 2022). Poucos estudos, porém, têm associados vários testes de diagnóstico de fertilidade no touro, sobretudo ligando estes dados com dados de fertilidade a campo com volume expressivo.

Portanto, é fundamental desenvolver ferramentas para conhecer a relação da prenhez e de perdas gestacionais com a paternidade, sobretudo em bovinos jovens, com genética superior, que não apresentam informações suficientes para prever taxas de prenhez e morte embrionária. Dessa forma, otimizando a utilização desses touros nos programas de seleção e acasalamento que utilizam a inseminação artificial. Assim, este artigo busca discutir os fatores relacionados a prenhez e perdas gestacionais pós IATF, e integração de testes moleculares com dados de fertilidade a campo de touros.

Importância da Determinação correta da Fertilidade do touro

Em estudos de nosso laboratório, onde foram identificados touros Nelore de alta e baixa fertilidade (prenhez à IATF e perdas gestacionais) em extensos bancos de dados, contendo mais de 1000 touros Nelore utilizados em IATF. Os escores de fertilidade dos touros foram determinados usando ASREML (pacote estatístico usado para ajustar modelos lineares mistos usando o método de máxima verossimilhança residual (REML), segundo Berry et al. (2011), com precisões de pelo menos 90%. Esses animais diferem em seu mérito genético médio para perdas gestacionais em 8% (Dados não publicados), e foi encontrado uma diferença entre os 10% melhores e os 10% piores touros resultando em uma mudança na perda gestacional de novilhas, passando de 14,68% para 10,03%, o que representa uma redução de 31%. A Fertilidade de cada touro foi calculado com base nas taxas médias de concepção ou perda com o desvio percentual de suas taxas de concepção ou perdas gestacionais, e foi encontrada uma correlação média (30-40%%) entre a taxas estimadas de fertilidade (prenhez a IATF – Fig 1, e perda gestacional) e as taxas brutas observadas a campo (sem correção para a categoria utilizada, ECC, lote, fazenda, touros utilizados dentro do lote e comparação entre eles, etc), demonstrando a importância desses fatores na correta identificação de fertilidade de touros utilizados em IATF.

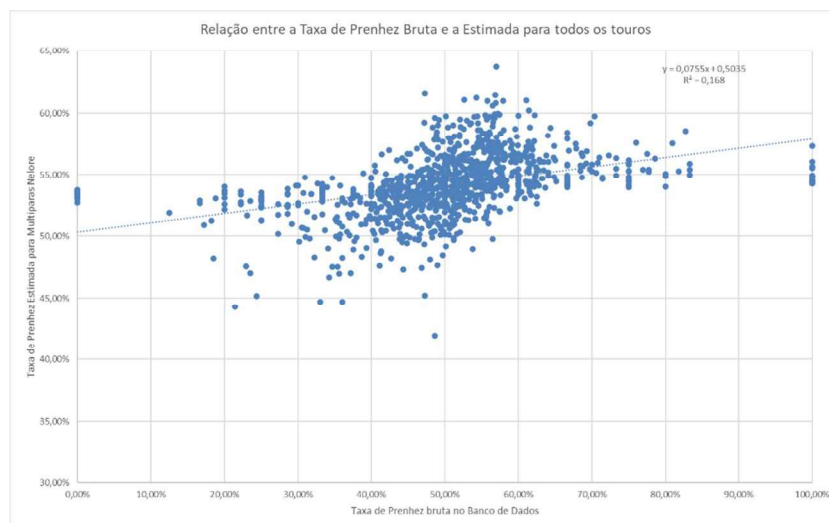


Figura 1. Relação entre a Taxa de prenhez Bruta e Estimada após IATF ($P < 0,01$)

Também, na Fig. 2, é demonstrada a confiabilidade da estimativa de acordo com o número de inseminações, demonstrando que acima de 80 inseminação já é possível obter valores aceitáveis de confiabilidade (acima de 35%) na estimativa de fertilidade de touros usados em IATF, desde que atendidos os requisitos de utilizar dois ou mais touros no lote, em diferentes categorias, lotes e/ou fazendas diferentes para ser possível a comparação entre reprodutores de forma acurada.

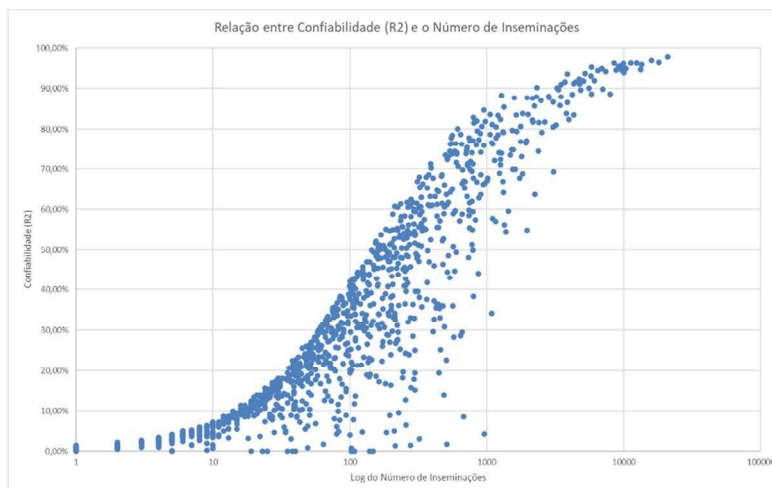


Figura 2. Relação entre confiabilidade e Número de inseminações de IATF.

Nesses touros Nelore com confiabilidade aceitável, a diferença de P/IA entre o melhor e pior touro foi de 29,5 pontos percentuais.

Avaliação de sêmen e predição de fertilidade

As taxas de prenhez na IATF são dependentes de diversos fatores relacionados a matriz, ao ambiente e taxa de concepção do touro, podendo este, ainda ter efeitos da partida utilizada no momento da IATF (MARTINI et al., 2022)

Tradicionalmente, os programas de melhoramento genético focaram principalmente nas características reprodutivas femininas, mas avanços recentes têm evidenciado que fatores paternos desempenham papel fundamental em várias etapas do processo reprodutivo, desde a qualidade do sêmen e a capacidade de fertilização até o desenvolvimento embrionário inicial e a manutenção da gestação (PACHECO et al., 2020).

A capacidade de prever a fertilidade através da avaliação espermática ainda é limitada devido a quantidade de fatores que estão ligados ao potencial reprodutivo (ROSÁRIA et al., 2009), e mesmo dentre as partidas de sêmen que se encontram dentre os parâmetros aceitáveis de morfologia e motilidade podem apresentar deficiência no potencial de fertilidade a campo.

Numerosos são os estudos que buscam correlacionar avaliações laboratoriais de sêmen com taxas de prenhez de IA ou IATF e até mesmo, buscar prever a fertilidade futura do reprodutor, fato este que será cada vez mais demandado, tendo em vista o aumento da utilização de touros jovens selecionados através de avaliações genômicas, tanto em gado de leite quanto em gado de corte. Os parâmetros rotineiramente utilizados para avaliação de sêmen e busca de preditores de fertilidade podem ser observados na Figura 3, que demonstra as principais avaliações das funções do espermatozoide, que poderiam ou deveriam ser observadas.

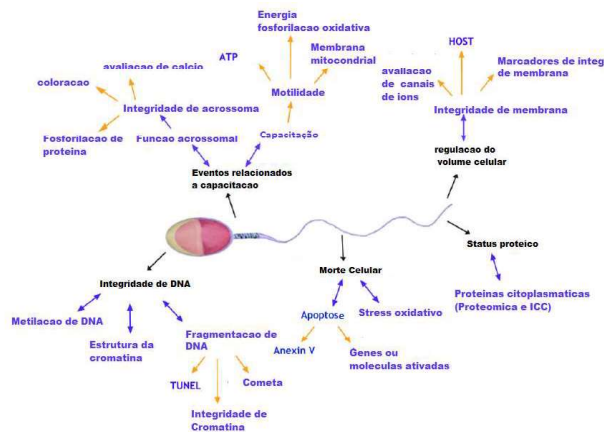


Figura 3-1. Principais funções dos espermatozoides. Adaptado Payan-Carrera.

Em experimento conduzido por nossa equipe, touros de quatro categorias do IFert™ (CRV) foram selecionados e tiveram seus dados retrospectivos de prenhez e índices de fertilidade correlacionados com os resultados de avaliações seminais realizadas por meio de testes convencionais, análise computadorizada de sêmen (CASA) e citometria de fluxo (SANCHES et al., 2023).

A taxa de prenhez de IATF (P/IA; $P = 0,001$) e os pontos do IFERT™ ($P < 0,001$) diferiram por classe de fertilidade dos touros e foram respectivamente de: inferior: 34,74% e -8,94; regular: 45,85% e -1,43; superior: 50,83% e 3,60; elite: 57,68% e 8,32, demonstrando haver correlação positiva ($R^2 = 0,82$) da fertilidade com as classes de IFERT™.

Diferenças na taxa de prenhez por categoria de vaca, de acordo com a classe de fertilidade do touro foram observadas ($P < 0,05$), mostrando diferenças entre touros classificados como Elite ou Inferior. Além da categoria, o escore de condição corporal também exerce influência direta sobre a P/IA, uma vez que os nutrientes são primeiramente direcionados para a manutenção da vaca e do bezerro e, somente após essas supressões é que são destinados para a reprodução das espécies. Apesar disso, observou-se que os touros “Elite” mantiveram alta taxa de prenhez independente do ECC, mas este comportamento foi mais evidente em vacas de menor ECC.

No experimento supracitado conduzido com os touros classificados pelo IFERT™, as amostras foram submetidas a avaliação de motilidade e vigor pós-descongelamento, concentração e análise morfológica, teste hiposmótico (HOST), teste de termo resistência rápida (TTR), análise computadorizada de sêmen (CASA) e citometria de fluxo. Os resultados foram submetidos à análise multivariada de dados por meio da regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS), revelando os componentes de maior importância para a taxa de prenhez, em quatro modelos de avaliação: convencional ($R^2 = 0,154$), citometria de fluxo ($R^2 = 0,259$), CASA ($R^2 = 0,380$) e completo ($R^2 = 0,458$). Nota-se, portanto que o modelo completo apresentou o melhor coeficiente de determinação, incluindo seis parâmetros com avaliações de citometria e CASA, demonstrando que modelos com maior quantidade de parâmetros podem melhorar a predição da fertilidade em programas de IATF. Os resultados de avaliação do sêmen estão demonstrados na Tabela 1, e as equações de predição na Tabela 2.

P/IA e Perda de Prenhez – Efeitos da categoria da matriz e outros fatores

Além das baixas taxas de prenhez, a morte embrionária pode acarretar prejuízos econômicos significativos para os produtores em relação à produção de ruminantes, pois altas taxas de concepção vêm acompanhadas de perdas gestacionais, diminuindo assim o número de bezerros nascidos na propriedade (DISKIN et al., 2016). Denomina-se como morte embrionária precoce aquelas ocorridas entre a concepção até 24 dias de gestação, depois até 50 dias como morte embrionária tardia e aquelas ocorridas após 50 dias como aborto (SANTOS et al., 2004).

A perda embrionária é multifatorial, podendo estar relacionados a fatores maternos, paternos, embrionários ou materno-embrionários (JAINUDEN; HAFEZ, 2004). Em bovinos as principais causas de perda embrionária precoce são: • Deficiência de progesterona; • Endogamia; • Gestação múltipla; • Incompatibilidade; • Aberrações cromossômicas; • Estresse térmico • Doenças reprodutivas (que não serão aqui discutidas)

Tabela 1. Valores descritivos dos parâmetros de qualidade do sêmen de touros obtidos com análise convencional, citometria de fluxo baseada em imagem e análise computadorizada de sêmen (CASA).

Parâmetros	Categoria de Fertilidade (IFERT)					
	Baixa	Média	Superior	Elite	SE	P
Touros	5.00	5.00	9.00	9.00	-	-
Inseminações (IATF)	1998	25892	7500	4044	-	-
P/IA, %	34.74 ^c	45.85 ^b	50.35 ^b	57.68 ^a	1.21	<0.001
IFERT	-8.94 ^d	-1.43 ^c	3.60 ^b	8.32 ^a	0.63	<0.001
Motilidade, %	40.00	36.66	33.50	36.00	1.65	0.185
Vigor (1-5)	3.40	3.00	3.40	3.45	0.15	0.579
Motilidade pos TTR (TRT), %	11.00	11.66	16.50	14.00	2.12	0.448
Vigor pos TTR (1-5)	2.00	2.66	2.75	2.60	0.25	0.400
Defeitos totais %	14.6 ^a	9.67 ^{ab}	10.3 ^{ab}	7.4 ^b	1.85	0.050
Defeitos maiores, %	13.2 ^a	8.67 ^{ab}	8.4 ^{ab}	5.4 ^b	1.70	0.060
Defeitos menores, %	1.40	1.00	1.90	2.00	0.46	0.696
Concentração total- 10 ⁶ /mL	65.12	62.13	56.25	58.5	0.91	0.077
Image-based Flow Cytometry						
Sptx com potencial mitochondrial positivo, % (Polariz)	43.56	58.01	63.76	58.22	6.38	0.271
SPTZ com membrana intacta, % (Intalex)	36.66	32.22	31.48	41.68	5.11	0.558
Vivos e mortos com acrossoma intacto %	76.55	59.55	56.37	65.83	5.79	0.173
Vivo com acrossoma reagido, % (pna-fitc)	46.60 ^a	23.82 ^b	25.18 ^b	30.46 ^{ab}	4.15	0.019
Espermatozoíde morto, % (M540)	67.23 ^{ab}	88.98 ^a	78.17 ^{ab}	68.71 ^b	4.32	0.042
Vivo com membrana estável, % (M540)	32.52 ^a	10.6 ^b	21.73 ^{ab}	31.28 ^a	3.98	0.030
Computer Analysis (CASA)						
MotilidadeTotal, %	57.01	53.50	64.70	70.33	4.73	0.153
Motilidade Progressiva, %	28.20 ^b	28.50 ^b	40.02 ^a	44.77 ^a	2.87	0.006
Velocidade de trajeto (VAP), µm/s	64.97 ^b	69.37 ^b	76.56 ^a	78.68 ^a	2.10	0.004
Velocidade retilinear (VSL), µm/s	49.74 ^c	54.77 ^{bc}	59.77 ^{ab}	61.99 ^a	1.78	0.026
Linearidade (LIN), %	44.20	46.50	46.20	48.11	1.64	0.482
Retilinearidade (STR), %	76.80	79.25	77.80	78.30	1.29	0.828
Amplitude lateral de cabeça (ALH), µm	6.36	6.05	6.61	6.29	0.26	0.598
Velocidade Curvilinear (VCL), µm/s	116.72 ^b	120.85 ^{ab}	134.61 ^a	133.25 ^a	4.21	0.050

Diferenças significativas foram observadas entre os diferentes escores do índice de fertilidade para esses parâmetros (P<0,05).

Tabela 2. Modelos de predição de prenhez à IATF

ANALISES	Parameters	R ²	MODELS
Convencionais	Motilidade pós TTR (MOTTRT), Defeitos Maiores (MDEFECTS)	0.154	$P(\%) = 49.781 + (0.243 \text{ MOTTRT}) - (0.483 \text{ MDEFECTS})$
CASA	Motilidade progressiva (PROG), VAP, VSL.	0.380	$P(\%) = 9.788 + (0.200 \text{ PROG}) + (0.289 \text{ VAP}) + (0.179 \text{ VSL})$
Citômetro de fluxo	Potencial mitocondrial (POLARIZ), estabilidade de membrana (INTALEX) e status acrossomal (LIVERAFITCPNA)	0.259	$P(\%) = 44.059 + (0.101 * \text{POLARIZ}) + (0.273 * \text{INTALEX}) - (0.343 * \text{LIVERAFITCPNA})$

Pensando nessas taxas aceitáveis para perdas gestacionais sem atrapalhar o desempenho produtivo do rebanho, Reese et al. (2019) identificaram em sua meta-análise uma perda gestacional total de 4.9%, com valor maior para as novilhas (8.1%), seguindo das primíparas (5.4%) e múltiparas (5.1%).

Em um trabalho de nosso laboratório (SILVA et al., 2024), em três propriedades do estado de Mato Grosso do Sul, em fazendas com bom manejo genético-sanitário-nutricional (utilizando todas as vacinas para doenças da esfera reprodutiva) que realizam IATF em matrizes Nelore, e diagnóstico de gestação realizado 30 dias pós IATF e repetido aos 90-120 dias após, foram avaliados os principais fatores que influenciaram as taxas de prenhez e perdas gestacionais.

Os resultados gerais de P/IA e perda de gestacional estão resumidos nas Tabelas 3 e 4. Considerando todos os dados coletados, a média de P/IA e perda de prenhez foram 53,11% e 5,78%, respectivamente. A P/IA foi significativamente ($P < 0,001$) afetada pela categoria animal. Secundíparas precoces (64,65%), múltiparas precoces (60,00%) e múltiparas (57,09%) apresentaram as maiores taxas de P/IA, enquanto novilhas precoces (44,50%), primíparas precoces (46,43%) e novilhas convencionais (47,90%) tiveram as menores taxas de P/IA.

Tabela 3. Prenhez pós IATF (P/IA) e perda gestacional de acordo com a categoria da fêmea Nelore e fazenda.

	P/IA (%)	Perda Gestacional(%)
<i>Categoria (n)</i>		
Novilhas 24 meses (7,348)	47.90 ^d	5.03 ^c
Primíparas (8,181)	51.41 ^{bc}	7.11 ^b
Secondíparas (2,914)	56.59 ^b	6.44 ^c
Múltiparas (17,151)	57.09 ^{ab}	4.93 ^c
Solteiras (722)	49.45 ^c	7.19 ^{ab}
Novilhas precoces 14 m (2,582)	44.50 ^e	7.11 ^b
Primíparas precoces (812)	46.43 ^d	10.94 ^a
Secondíparas precoces (314)	64.65 ^a	8.13 ^{ab}
Múltiparas precoces (80)	60.00 ^{ab}	4.26 ^c
<i>P</i>	<0.001	<0.001
<i>Fazenda (n)</i>		
A (923)	55.58% ^a	4.71% ^b
B (8,570)	51.06% ^b	5.77% ^b
C (5,313)	55.51% ^a	4.44% ^b
D (416)	49.28% ^b	3.91% ^b
E (3,936)	54.17% ^a	3.37% ^b
F (20,946)	53.11% ^a	6.89% ^a
<i>P</i>	0.0013	<0.001

$P < 0,05$. Adaptado de Silva et al., 2024

As taxas de perda gestacional também foram afetadas pela categoria animal ($P < 0,001$), com taxas mais altas detectadas em primíparas precoces (10,94%), secundíparas precoces (8,13%) e vacas não lactantes (7,19%). As menores taxas de perda gestacional foram detectadas em múltiparas precoces (4,26%), múltiparas (4,93%), novilhas (5,03%) e secundíparas (6,44%).

Houve um efeito da fazenda ($P = 0,0013$) sobre o índice de prenhez por Inseminação Artificial. As taxas médias de prenhez variaram de 49,28% a 55,58% entre os rebanhos incluídos no estudo. Com relação à perda gestacional, também houve um efeito significativo ($P = 0,001$) da fazenda sobre as taxas de perda gestacional, que variaram de 3,37% a 6,89% entre os rebanhos avaliados.

Animais com baixa pontuação de velocidade de saída do tronco (por exemplo, que saíram andando em vez de correndo) apresentaram maior ($P < 0,001$) P/IA (54,42%) do que aqueles que saíram trotando (52,19%) ou correndo (50,32%) do tronco, demonstrando efeito do manejo ou bem estar dos animais na prenhez. No entanto, a velocidade de saída dos animais do tronco não influenciou as taxas de perda gestacional ($P = 0,2558$, Tabela 4). A presença de cio avaliada com bastões no dia da IATF, também demonstrou efeito na P/IA, conforme já identificado por Nogueira et al. (2019), mas também na perda gestacional, com menores perdas nos animais que apresentaram cio ($P=0.030$; Tabela 4)

Houve efeito significativo ($P < 0,001$) do mês de parto sobre o P/IA e a perda gestacional. Animais que pariram em julho apresentaram o maior P/IA, enquanto as que pariram em dezembro (50,50%) apresentaram as menores P/IA.

Já em relação a raça do touro utilizado na IATF, foi encontrado maior P/IA quando utilizado sêmen de touros Nelore em relação aos Angus, porém o mesmo não foi observado em relação às perdas gestacionais. Discordando em parte de Franco et al. (2018) que utilizou 9 diferentes touros, sendo 3 da raça Nelore e 6 Angus, dividindo-os em grupos de alta perda embrionária e baixa perda embrionária. Após isso inseminou em dois lotes, e ao avaliar a taxa de prenhez e perda gestacional verificaram que os touros da Raça Nelore apresentavam maior taxa de prenhez e maior taxa de perda gestacional e aqueles touros que apresentavam altas taxas de perdas gestacionais continuaram com essa característica nessa estação de monta.

Tabela 4. Prenhez por inseminação artificial (P/IA) e perda de prenhez (%) de acordo com o mês do parto, raça do touro, expressão de estro e pontuação de velocidade para saída do brete.

	P/IA (%)	Perda Gestacional(%)
Mês de parição (n)		
JULHO (165)	68.48% ^a	7.21% ^b
AGOSTO (3,333)	57.67% ^b	5.90% ^d
SETEMBRO (5,127)	56.33% ^b	5.55% ^d
OUTUBRO (5,331)	55.00% ^c	6.01% ^c
NOVEMBRO (4,286)	54.01% ^c	6.80% ^c
DEZEMBRO (1,705)	50.50% ^d	14.29% ^a
<i>P</i>	<0.001	<0.001
Raça do touro (n)		
ANGUS (9,089)	52.24%	5.31%
NELORE (30,988)	53.37%	5.92%
<i>P</i>	<0.001	0.6886
Expressão de cio até a IATF		
SEM CIO	40.9% ^b	6.7 ^a
CIO CIO	58.5% ^a	5.7 ^b
<i>P</i>	<0.001	0.030
Velocidade de saída do brete (n)		
1 (20,367)	54.42% ^a	5.43%
2 (6,611)	52.19% ^b	5.33%
3 (3,283)	50.32% ^b	4.78%
<i>P</i>	<0.001	0.2558

$P < 0,05$. Adaptado de Silva et al., 2024

Houve um efeito significativo do ECC (Escore de Condição Corporal) no início do protocolo sobre a P/IA ($P < 0,001$) e perda de prenhez ($P < 0,001$). A probabilidade de perda diminuiu à medida que o ECC aumentou ($P < 0,05$). Interessantemente, ganhos de ECC durante os 30 dias subsequentes à primeira

medição foram associados a uma probabilidade reduzida de perda de prenhez (Figura 4; $P < 0,05$).

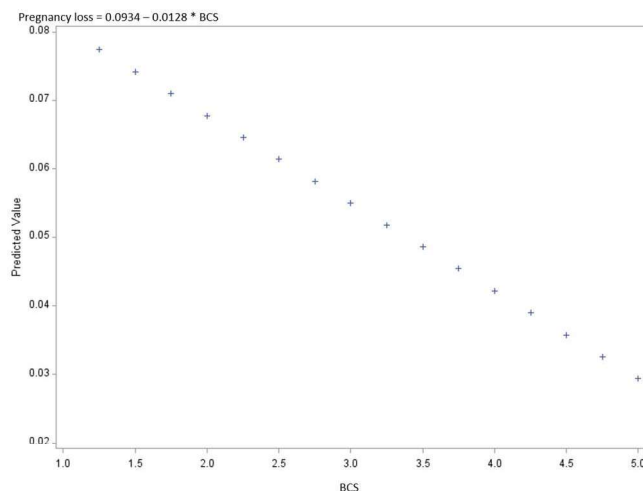


Figura 4. Probabilidade de perda gestacional em função do Escore de condição corporal em fêmeas Nelore submetidas a IATF ($P < 0,05$).

Como esperado, a P/IA foi significativamente diferente ($P > 0,001$) entre touros alocados nas distintas classificações de fertilidade (P/IA: baixa, média, superior e elite). Interessantemente, não houve associação ($P = 0,408$) da classificação do touro baseada na categoria de fertilidade e taxas de perda gestacional (Figura 5), indicando que os mecanismos determinando a taxa de prenhez na IATF e perda gestacional relacionados ao touro possam diferir.

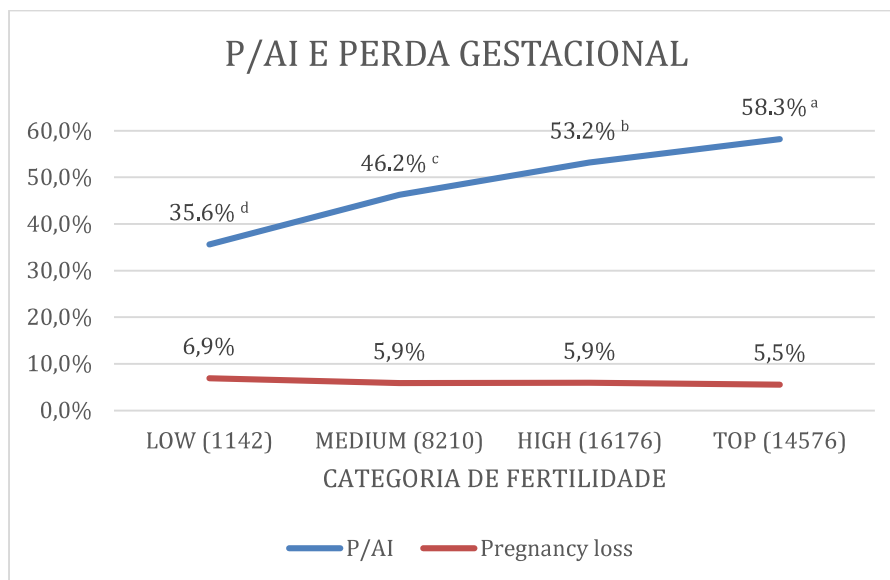


Figura 5. Prenhez de IATF (P/AI) e perda gestacional de acordo com a categoria de fertilidade do touro. (P/AI, $P < 0.001$; Perda gestacional, $P = 0.408$).

Os resultados reforçam a ideia de que a idade no início da estação de reprodução e categoria do animal, o ECC (Escore de Condição Corporal), o ganho de ECC após a IA, a expressão de cio na IATF, o touro e o mês do parto são fatores importantes que influenciam a P/IA e as taxas de mortalidade embrionária em rebanhos de corte. Notavelmente, houve uma ampla variação na P/IA e perda de prenhez entre os touros utilizados no estudo, reforçando a importância da fertilidade do touro no sucesso dos programas de reprodução. O efeito significativo observado do touro nos resultados de fertilidade destaca a importância

de uma maior compreensão da base molecular que orquestra os efeitos paternos no sucesso da prenhez e na mortalidade embrionária.

Efeitos genéticos e genômicos nas perdas gestacionais

O momento que o reconhecimento materno e a proteção do embrião contra o sistema imunológico materno ocorrem, são os fatores mais críticos na manutenção gestacional (ROBERTS E SCHALUE-FRANCIS, 1990; BAUERSACHS E WOLF, 2013; YANG et al., 2014). Porém esse período ainda é pouco avaliado devido ao tempo gestacional, pois tradicionalmente o diagnóstico de gestação ocorre com 30 dias com uso da Ultrassonografia, e métodos de diagnósticos mais precoces envolvem genes estimulados por interferon ou PAGs e tornam ainda difíceis a avaliação em nossos rebanhos (GREEN et al., 2010; PUGLIESI et al., 2014, DISKIN et al., 2016).

Fatores genéticos podem estar associados com as perdas durante esse período inicial da gestação, e segundo um estudo de Bamber et al. (2009), a variação do valor genético dos efeitos embrionários foi três vezes a variação do valor genético dos efeitos maternos, indicando que, no nível dos valores genéticos, a capacidade de sobrevivência do embrião tem um efeito maior na perda gestacional do que a capacidade da vaca de manter a prenhez.

Estudos genômicos demonstram que polimorfismos em genes específicos, assim como padrões de homozigose no genoma, podem influenciar significativamente o desempenho reprodutivo dos touros (REZENDE et al., 2019). Ferramentas como os estudos de associação genômica ampla (GWAS) e a análise de regiões de homozigose (ROH) têm identificado variantes genéticas que afetam a fertilidade, desde polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) até variações estruturais significativas (PACHECO et al., 2023). Estes avanços oferecem uma compreensão mais profunda sobre os fatores genéticos envolvidos na fertilidade masculina e são essenciais para melhorar os programas de seleção de reprodutores, com implicações diretas para a qualidade do sêmen e a taxa de concepção.

De acordo com Taylor et al. (2018) poucos polimorfismos específicos estão associados a fertilidade e menos ainda a perdas gestacionais, porém existem e podemos utilizar como ferramenta para seleção. Ainda salienta sobre o uso de biomarcadores como citometria ou imagens para facilitar e identificar as causas genômicas de formas visuais.

GWAS e Marcadores Genéticos Associados à Fertilidade

Estudos de GWAS em touros Holandeses têm revelado associações significativas entre a taxa de concepção do touro (Sire Conception Rate - SCR) e marcadores genéticos localizados na região pseudoautossômica (PAR) e em regiões específicas do cromossomo X. Pacheco et al. (2020) destacam que marcadores nas regiões PAR (133,4 Mb e 133,8 Mb) estão próximos a genes como FAM9B e TBL1X, que desempenham papéis importantes na regulação da espermatogênese. FAM9B está relacionado à meiose no testículo, enquanto TBL1X é importante para a transcrição genética, essencial para a espermatogênese. Além disso, a análise da região X-específica (55,8 Mb), que inclui o gene PHH1D3, revelou associação com a motilidade espermática, um aspecto crucial para a fertilidade masculina. Mutações nesse gene têm sido associadas à astenozoospermia em humanos, o que destaca a importância de variantes genéticas na qualidade espermática, e sugere que variantes semelhantes possam impactar a fertilidade em touros (OLCESE et al., 2017). O cromossomo Y, por sua vez, apresentou baixa variabilidade genética, possivelmente devido a gargalos populacionais históricos, o que pode limitar seu uso como marcador confiável para prever fertilidade em populações mais reduzidas, especialmente em touros, onde a variabilidade genética pode ser mais restrita devido a práticas de reprodução seletiva (YUE et al., 2015).

Em bovinos Pardo-Suíços, dois SNPs recessivos (rs133071278 e rs41601831), identificados em 2024, foram associados à taxa de concepção (SCR), com um aumento significativo na acurácia preditiva de modelos genômicos, passando de 0,19 para 0,32. Esses SNPs estão próximos de genes como WDR19, que está relacionado à motilidade espermática, e a genes envolvidos na reação acrossômica, fundamental para a fertilização bem-sucedida (PACHECO et al., 2024). Esses achados destacam a importância de marcadores de grande efeito na melhoria das predições de fertilidade, especialmente em relação às características genéticas não aditivas.

Regiões de Homozigose (ROH), Depressão Endogâmica e correlação com Fertilidade

A análise de regiões de homozigose (ROH) em 1.102 touros Pardo-Suíços mostrou uma correlação negativa entre o aumento da homozigose e a taxa de concepção ($\beta = -0,008$; $p < 0,01$). Os touros de baixa

fertilidade apresentaram segmentos de ROH mais longos, sugerindo que a depressão endogâmica, associada ao acúmulo de alelos homozigóticos, pode ter efeitos adversos na qualidade do sêmen e na capacidade de reprodução (PACHECO et al., 2023).

Pacheco et al. (2023) identificaram quatro regiões de homozigose (ROH) identificadas em touros de baixa fertilidade são particularmente notáveis: BTA6: Marcadores em regiões como WDR19 e UBE2K, essenciais para a função ciliar e para processos de ubiquitinação durante a espermatogênese. BTA10: Genes como DPF3, envolvidos no remodelamento da cromatina durante a espermatogênese. BTA11: Marcadores localizados em RNAs não codificantes, como SS-rRNA e 7SK, que são fundamentais para a organização do DNA espermático. BTA14: Uma nova região identificada em estudos recentes, que também está associada à qualidade espermática e fertilidade, embora sua função ainda precise ser explorada mais profundamente em relação à espermatogênese. Essas regiões, frequentemente coincidentes com QTLs conhecidos para fertilidade, evidenciam a importância biológica da homozigose extensiva, uma vez que a acumulação de alelos homozigóticos em regiões críticas, especialmente aquelas associadas à espermatogênese e motilidade espermática, pode reduzir significativamente a qualidade do sêmen e, consequentemente, a fertilidade masculina. Esses achados reforçam a necessidade de monitorar essas características no manejo reprodutivo, evitando a depressão endogâmica e melhorando a seleção de reprodutores para otimizar o desempenho reprodutivo e a saúde genética da população bovina.

A inclusão de marcadores do cromossomo X em modelos aumentou a acurácia da predição da SCR em touros Holandeses em 7,5%, destacando a relevância do cromossomo X para a fertilidade masculina (PACHECO et al., 2020). Além disso, modelos genômicos que incorporam SNPs de grande efeito em Pardo-Suíços apresentaram um aumento significativo na confiabilidade das previsões de fertilidade, alcançando correlações de até 0,32 (PACHECO et al., 2024).

Em touros holandeses e Angus, ou de raças *Bos taurus*, são mais comuns que em animais *Bos indicus* a descrição de genes ou marcadores relacionados a fertilidade, conforme Tabela 5.

Tabela 5. Lista parcial de genes relacionados com a espermatogênese, detectados como tendo SNPs causando substituições únicas de AA em touros Angus

Gene / proteína	N	Símbolo / descrição
Componentes da cabeça	15	WBP2NL/PAWP; CYLC1 & 2; histones H1FNT, H2BW, H1NS, H2Bs); protamines (PRM2&3); MFGE8/ lactadherin; SPACA1,4 &5; SP1
Componentes da cauda	18	CEP57; MOSPD1-3; outer dense fiber ODF1-4, ODF2L, ODF3L, ODF3L2; (TUBA1C); RSPH1; SPEF1; SMCP; MGC128071; similar to Tctex-type 1 (LOC782237)
Canais de Membrana	5	CATSPER1-4SLC26A8
Plasma Seminal e fluido epididimário	8	Binder of Sperm 1, 3, 5 (BSP1, 3, 5); CRISP2; ELSBP1, ELSBP1/s; ST8
Proteínas Redox	4	TXNDC3&8; perox. testis-spec. 1 (LOC100335790); PAOX
Antígenos associados ao Espermatozoide	12	SPAG1, 11B, 16, 17, 4-6, 8, 9; SPA17; SSFA2; similar to SPAG4-like (LOC100300830)
Espermátide - específico	5	RSBN1, 1L (SPERT); SPEM1; STRBP
Espermatogênese - específico	27	SPATA1-9; 2L, 5L1, 13, 17-22, 24; SPATS1, 2, 2L; SOHLH172; similar to spermatogenesis associated 5 (LOC100297992); SPZ1; SRM; SMX; SMS
Azoospermia	4	DAZL; DAZAP2; DEGS1 & 2;

(Adaptado de Taylor J, Schnabel R, Sutovsky P)

Esses avanços genômicos têm várias implicações práticas na seleção e manejo dos touros. A identificação precoce de touros subfêrteis, antes mesmo da puberdade, permite o manejo preventivo, evitando a propagação de características reprodutivas prejudiciais. Além disso, o manejo da endogamia pode ser otimizado, evitando acasalamentos que aumentem as regiões de homozigose em loci críticos para a fertilidade.

Proteômica

A proteômica clínica é uma subárea da proteômica que tem por objetivo identificar biomoléculas proteicas presentes em determinada amostra clínica como um tecido/fluido corporal, por exemplo,

provenientes de um/grupo de indivíduos. Uma vez essas biomoléculas identificadas, elas também são designadas como biomarcadores (HEIN et al., 2013, MISCHAK et al., 2010). A utilização dessa técnica tem grande potencial, uma vez que pode ser usado na qualidade de produtos de origem animal, na clínica e na área de reprodução (ECKERSALL et al., 2012). Há diversas técnicas para identificação de proteínas no ramo da proteômica, como por exemplo uso de eletroforese, bioinformática, cromatografia e espectrometria de massa (MS) (BRAGA EMIDIO et al., 2015). Uma característica da célula espermática é que ela é altamente diferenciada, com citoplasma reduzido e poucas organelas, o que limita sua capacidade de sintetizar proteínas (RAHMAN et al., 2013). Essa característica do gameta masculino concede a proteômica clínica uma área importante para investigar essas biomoléculas, haja visto que os espermatozoides são ejaculados com suas proteínas já sintetizadas.

Um estudo utilizando eletroforese em gel de poliacrilamida bidimensional (2D-PAGE) identificou a presença de proteínas em 2 diferentes grupos de touro com fertilidade conhecida. As seguintes biomoléculas foram encontradas no grupo de alta fertilidade: ATP5B (subunidade ATP sintase presente em mitocôndrias), ASPP2 (apoptosis-stimulating proteína p53 – proteína supressora de tumores), AHSG (alpha-2-HS-glycoprotein 2 – presente na membrana plasmática envolvida com resposta imune e endocitose), ENO1 (enolase 1 – atua na glicólise) e GPx4 (phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase – atua em atividade antioxidantes). Já no grupo de baixa fertilidade foram identificados níveis maiores das proteínas UQCRC2 (subunidade da proteína ubiquinol-Citocromo C redutase – proteína estrutural do complexo 3 da cadeia respiratória mitocondrial) e VDAC2 (voltage-dependent anion channel 2 – atua no metabolismo celular, apoptose mitocondrial e espermatogênese). Esses achados diferentes nos níveis de concentração das proteínas nas amostras podem sugerir que as biomoléculas desempenham papel fundamental na diferença de fertilidade entre o grupo de animais (PARK et al., 2012).

Em outro estudo investigando a diferença de proteínas presentes no fluido epididimal e no plasma seminal ejaculado de touros Angus com fertilidade aprovada, foi observado níveis diferentes das biomoléculas entre as amostras. Foram identificadas 11 proteínas da via da glicólise/gliconeogênese e 5 proteínas da via da fosforilação oxidativa pertencentes exclusivamente do fluido epididimal. Esse número maior de proteínas sugere uma regulação mais severa de produção de energia nesse órgão, impedindo que haja a ativação da motilidade espermática antes da ejaculação e, também, da produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ZOCA et al., 2022). Mosket e colaboradores (2018) utilizando 2D-DIGE e validação de Western Blot observaram as seguintes proteínas no sêmen de maior qualidade de touros: GST, SPADH1, SPADH13, SOD, ADK1 e SUCB onde suas funções são de proteção contra espécies reativas de oxigênio, desenvolvimento embrionário inicial e metabolismo celular. Soler e colaboradores (2016) utilizaram o método de espectrometria de massa MALDI-TOF de célula intacta em grupos de fertilidade a campo conhecida em duas linhagens de frango (carne e ovos). Os resultados identificaram possíveis biomarcadores de fertilidade nessa espécie, como por exemplo, as proteínas CDK5RAP2, LRD e Ubiquitina que estavam presentes no grupo de maior fertilidade conhecida. Além disso, a utilização de 27 picos de m/z advindo da análise do MALDI-TOF de célula intacta resultou num modelo matemático preditivo inédito de fertilidade nessa espécie.

MicroRNAs

Os MicroRNAs (miRNAs) presentes no sêmen podem predizer fatores responsáveis pela subfertilidade ou infertilidade idiopática, dos quais são possíveis de identificar através da técnica de qPCR (DOMINGUES et al., 2020, 2021). MicroRNAs são uma classe de RNA não codificantes de aproximadamente 18 a 22 nucleotídeos, envolvidos na regulação pós-transcricional da expressão gênica. Eles atuam através da degradação ou inibição da tradução de RNA mensageiro (mRNA), e cada microRNA pode regular mais de 100 genes-alvo (FARIAS CAMPOS et al., 2011). Fazendo com que microRNAs estejam envolvidos em diversos processos biológicos incluindo diferenciação celular, apoptose, embriogênese e espermatogênese, entre outros (GROSS; KROPP; KHATIB, 2017; KOTAJA, 2014). Devido ao seu papel fundamental, microRNAs espermáticos são potenciais biomarcadores de fertilidade e podem se tornar mais uma ferramenta no diagnóstico de subfertilidade e infertilidade idiopática em animais e também em humanos (ALVES; CELEGHINI; BELLEANNÉE, 2020). Os microRNAs possuem um alto grau de conservação intraespécie (PERGE et al., 2017; ZHANG et al., 2018), o que facilita na busca de miRNAs com potencial de biomarcadores relacionados a fertilidade de machos mesmo entre diferentes espécies.

Fagerlind e colaboradores em 2015 encontrou 7 microRNAs diferentemente expressos comparando touros de alta fertilidade com touros de moderada e baixa fertilidade. Enquanto em 2017 Capra e colaboradores identificaram 81 microRNAs diferentemente expressos ao investigar amostras de sêmen

bovinos com diferentes perfis de motilidade e cinética espermática. Diversos estudos relacionando a expressão de miRNAs com fertilidade de touros foram desenvolvidos. De Souza et al. (2024) em sua revisão sistemática identificaram 182 miRNAs diferentemente expressos, dos quais 49 foram encontrados em comum em dois ou mais trabalhos, destes 49 é possível que os miRNAs como miR-10a, -10b, -103, -15b, -122, -125b, -126-5p, -151-5p, -193a-5p, -196a, -27a-5p e -99b podem ser potenciais biomarcadores universais para avaliação do potencial reprodutivo de machos. Foram observadas mudanças nos níveis de expressão dos miRNAs baseados em influências externas, tais como a exposição a estresse e experiências adversas no início da vida de humanos e ratos (DICKSON et al., 2018), e o estresse térmico testicular afetando os níveis de expressão de diversos miRNAs presentes nas vesículas extracelulares (ALVES et al., 2021). Também há uma diferença no nível de expressão dos miRNAs no plasma seminal de coelhos férteis em relação a subférteis (SAKR et al., 2023), assim como no sobrenadante de amostras de homens com azoospermia em relação a normozoospermia (WAINSTEIN et al., 2023). Parceiros de mulheres com perda recorrente de gravidez idiopática apresentaram 12 miRNA diferentemente expressos em relação ao grupo controle (THAPLIYAL et al., 2024).

Considerações finais

A fertilidade e as perdas gestacionais em bovinos resultam da interação de componentes genéticos, ambientais e de manejo. O avanço das ciências ômicas tem ampliado a compreensão desses fatores, permitindo diagnósticos mais precisos e seleção mais eficiente de reprodutores, ainda que obstáculos relacionados à integração de dados e validação em campo persistam. Dessa forma, o futuro da reprodução bovina está alicerçado em uma abordagem multidisciplinar, aliando biotecnologia, genética e manejo de precisão. O uso integrado dessas ferramentas contribuirá para a redução das perdas gestacionais, incremento das taxas de concepção, otimização dos recursos zootécnicos e maior retorno econômico para a atividade, promovendo rebanhos mais produtivos, saudáveis e geneticamente superiores.

Agradecimentos

EMBRAPA, UFMS e apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. CNPQ (projetos #421687/2021-5, e 445247/2024-0).

Referências

- Adams, Heather A. et al. Identification of a nonsense mutation in *APAF1* that is likely causal for a decrease in reproductive efficiency in Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, V. 99: 8, 6693 – 6701, 2016.
- Alves, M. B. R. et al. Changes in miRNA levels of sperm and small extracellular vesicles of seminal plasma are associated with transient scrotal heat stress in bulls. *Theriogenology*, v. 161, p. 26–40, 2021.
- Alves, M. B. R.; Celeghini, E. C. C.; Belleannée, C. From Sperm Motility to Sperm-Borne microRNA Signatures: New Approaches to Predict Male Fertility Potential. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020.
- Bamber, R. L., Shook, G. E., Wiltbank, M. C., Santos, J. E. P., & Fricke, P. M. Genetic parameters for anovulation and pregnancy loss in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 92(11), 5739-5753, 2009.
- Barbosa, R. T., Silva, J. D., Bergamaschi, M. A. C. M., Bertan, C. M., Sarti, L. L., Binelli, M. A. Redução da Mortalidade Embrionária - Estratégia Hormonal para Otimizar a Função Luteínica em Bovinos. 51. ed., p. 11, São Carlos: Embrapa, 2006.
- Baruselli, P. S., Santos, G. F. F. D., Crepaldi, G. A., Catussi, B. L. C., Oliveira, A. C. D. S. IATF em números: evolução e projeção futura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 76-83, 2022.
- Berry, D.P., Evans, R.D., Mc Parland, S. Evaluation of bull fertility in dairy and beef cattle using cow field data. *Theriogenology*. 75, 172–181, 2011.
- Braga Emidio, N.; Girardi Carpane, A.; Ramos Quellis, L.; Silva Farani, P.; Gomes Vasconcelos, E.; Faria-Pinto, P. Proteômica: uma introdução aos métodos e aplicações. *HU Revista*, [S. l.], v. 41, n. 3 e 4, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufff.br/index.php/hurevista/article/view/2482>. Acesso em: 17 abr. 2025.
- Capra, E. et al. Small RNA sequencing of cryopreserved semen from single bull revealed altered miRNAs and piRNAs expression between High- and Low-motile sperm populations. *BMC Genomics*, v. 18, n. 1, 2017.
- De Souza, L. P. et al. Expression of sperm microRNAs related to bull fertility: A systematic review. *Research in Veterinary Science*, v. 166, 1 jan. 2024.

- Dias, J. C., Andrade, V. J., Martins, J. A. M., Emerick, L. L., Gonçalves, P. E. M., Vale Filho, V. R.** Classificação Andrológica por Pontos (CAP) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) de dois e três anos de idade, criados sob pastejo. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, p.1094-1099, 2009.
- Dickson, D. A. et al.** Reduced levels of miRNAs 449 and 34 in sperm of mice and men exposed to early life stress. *Translational Psychiatry*, v. 8, n. 1, 2018.
- Diskin, M., Waters, S., Parr, M., Kenny, D.** Pregnancy losses in cattle: potential for improvement. *Reproduction Fertility. Dev.* 28, 83-93, 2016.
- Domingues, W. B. et al. GH.** Overexpression Alters Spermatogenic Cells MicroRNAome Profile in Transgenic Zebrafish. *Frontiers in Genetics*, v. 12, 8 2021.
- Domingues, W. B. et al.** Transfection of exogenous DNA complexed to cationic dendrimer induces alterations of bovine sperm microRNAome. *Theriogenology*, v. 156, p. 11–19, 2020.
- Eckersall, P. D.** Proteomics, a new tool for farm animal. *J Proteomics*, v. 75, n. 14, p. 4187-4189, 2012.
- Fagerlind, M. et al.** Expression of miRNAs in Bull Spermatozoa Correlates with Fertility Rates. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 50, n. 4, p. 587–594, 2015.
- Farias Campos, V. et al.** MicroRNAs and its role in embryonic development. *Cienc. Rural* . n. 1, p. 85–93, 2011.
- Franco, G. A., Peres, R. F. G., Martins, C. F. G., Reese, S. T., Vasconcelos, J. L. M., Pohler, K. G.** Sire contribution to pregnancy loss and pregnancy-associated glycoprotein production in Nelore cows. *Journal of Animal Science*, v. 96, n. 2, p. 632-640, 2018.
- Gross, N.; Kropp, J.; Khatib, H.** MicroRNA signaling in embryo development. *Biology. MDPI*, ;6(3):34, 2017.
- Hein, M. Y. et al.** Chapter 1 – Proteomic Analysis of Cellular Systems. In: WALHOUT, A. J. M, et al. *Handbook of Systems Biology*. San Diego: Academic Press, 2013, p. 3-25.
- Junqueira, J.R.C., Alfieri, A.A.** Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas Infeciosas. *Semina: Ciências Agrárias*. 27, 2, 289-298, 2006.
- KLEIN, E., SWEGEN, A., GUNN, A., STEPHEN, C., AITKEN, R., GIBB, Z.,** The future of assessing bull fertility: Can the ‘omics fields identify usable biomarkers?, *Biology of Reproduction*, V. 106:5, 854–864, 2022.
- Kotaja, N.** MicroRNAs and spermatogenesis. *Fertility and Sterility*. 101(6):1552-62 2014.
- Llavanera, M., Delgado-Bermudes, A., Ribas-Maynou, J., Salas-Huetos, A., Yeste, M.** A systematic review identifying fertility biomarkers in semen: a clinical approach through Omics to diagnose male infertility. *Fertility and Sterility*, V. 118(2): 291 – 313, 2022.
- Martini A.P., Pessoa, G.A., Rubin, M.I.B.** Conception rate according to sire, body condition score and estrus occurrence of suckled *Bos taurus* beef cows submitted to timed artificial insemination. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.74, n.3, p.375-382, 2022.
- Mischak, H. et al.** Recommendations for biomarker and qualification in clinical proteomics. *Science Translational Medicine*, v. 2, n. 46, p. 42-46, 2010.
- Moraes, J. C. F.; De Souza, C. J. H.; Gonçalves, P. B. D.** Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: *Biotecnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo, Livraria, 2001.
- Mostek, A. et al.** Differences in sperm protein abundance and carbonylation level in bull ejaculates of low and high quality. *PLoS ONE*, v. 13, n. 11, 2018.
- Nogueira, E., Silva, M. R., Silva, J. C. B., Abreu, U. P. G., Anache, N. A., Silva, K. C., Rodrigues, W. B.** Timed artificial insemination plus heat I: effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone–estradiol-based protocols. *Animal*, 13, 2305-2312, 2019.
- Nogueira, E., Tirpák, F., Hamilton, L. E. And Zigo, M., Kerns, K., Sutovsky, M., Kim, J., Volkmann, D., Jovine, L., Taylor, J.,F. Schnabel, R.D., Sutovsky, P.** A Non-Synonymous Point Mutation in a WD-40 Domain Repeat of EML5 Leads to Decreased Bovine Sperm Quality and Fertility. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10:872740. doi: 10.3389/fcell.2022.872740 2022
- Olcese, M.; Cozzolino, A.; Manfredi, M.; Silvestrini, F.** PHH1D3 gene mutations and male infertility: A critical review. *Human Reproduction Update*, v.23, n.2, p.216-227, 2017.
- Pacheco, H.A.; Rezende, F.M.; Peñagaricano, F.** Gene mapping and genomic prediction of bull fertility using sex chromosome markers. *Journal of Dairy Science*, v.103, n.4, p.3304-3311, 2020.
- Pacheco, H.A.; Rossoni, A.; Cecchinato, A.; Peñagaricano, F.** Identification of runs of homozygosity associated With Male Fertility In Italian Brown Swiss Cattle. *Frontiers In Genetics*, V.14, P.1227310, 2023.
- Pacheco, H.A.; Rossoni, A.; Cecchinato, A.; Peñagaricano, F.** Genomic prediction of male fertility in Brown Swiss cattle. *JDS Communications*, v.6, n.2, p.1-5, 2024.
- Park, Y.J. et al.** Fertility-related proteomic profiling bull spermatozoa separated by percoll. *J. Proteome Res*, v.11, n. 8, p. 4162–4168, 2012.

- Payan-Carreira, R.; Fontbonne, A.; Mir, F.; Borges, P.** Molecular markers in sperm analysis. In success in artificial insemination - quality of semen and diagnostics employed 6: 93-115, 2013.
- Perge, P. et al.** Potential relevance of microRNAs in inter-species epigenetic communication, and implications for disease pathogenesis. *RNA Biology*, v. 14, n. 4, p. 391-401, 2017.
- Rahman, M. S. et al.** Sperm proteomics: Road to male fertility and contraception. *International Journal of Endocrinology*, V.2013, 360986, 11. [dx.doi.org/10.1155/2013/36098](https://doi.org/10.1155/2013/36098), 2013.
- Reese, S.T., Franco, G.A., Poole, R.K., Hood, R., Fernandez Montero, L., Oliveira Filho, R.V., Cooke, R.F., Pohler, K.G.** Pregnancy loss in beef cattle: a meta-analysis. *Animal Reproduction Science*. V.212, 106251, 2019.
- Rezende, F.M.; Peñagaricano, F.; Pacheco, H.A.** Genomic insights into male fertility in cattle: The role of sex chromosomes and homozygosity. *Journal of Animal Science*, v.97, n.3, p.1255-1263, 2019. Yue, Z.; Guo, H.; Wang, Y.; Liu, Z. Low genetic variability in Y chromosome and its implications for fertility in small populations. *BMC Genomics*, v.16, n.1, p.392- 399, 2015.
- Rosária, R. et al.** Análise de sêmen bovino e sua relação com a fertilidade / Evaluation of bull semen parameters and correlation to fertility. *Rev. bras. reprod. Anim. (Supl. 6)*: 5-10, 2009.
- Sakr, O. G. et al.** Characterization and identification of extracellular vesicles-coupled miRNA profiles in seminal plasma of fertile and subfertile rabbit bucks. *Theriogenology*, v. 209, p. 76-88, 2023.
- Sanches, C., Costa, E., Silva, E.V., Dode, M.A.N., Cunha, A.T.M., Garcia, W.R., Sampaio, B.F.B., Silva, J.C.B., Vaz, F.E.M., Kerns, K., Sutovsky, P., Nogueira, E.** Semen quality of Nelore and Angus bulls classified by fertility indices and relations with field fertility in fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, 212, 148-156, 2023. doi: 10.1016/j.theriogenology.2023.09.001.
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A., Galvão, K.N.** The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs *Animal Reproduction Science*. 82, 513-35. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.015>.
- Silva, L.G., Silva, L.G, Ferreira, L.C.L., Mascarello, J., Moraes, J.G.N., Lucy, M.C. Nogueira, É.** Factors influencing pregnancy per artificial insemination (AI) and embryonic mortality in Nelore females subjected to timed-AI in Brazil, *Animal Reproduction Science*, 265, 107475, 2024. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107475.
- Soler, L. et al.** Intact cell MALDI-TOF MS on sperm: A molecular test for male fertility diagnosis. *Molecular and Cellular Proteomics*, v. 15, n. 6, p. 1998-2010, 2016.
- Talluri, T.R., Kumaresan, A., Sinha, M.K., Paul, N., King, E.S. J. P., Datta, T.K.** Integrated multi-omics analyses reveals molecules governing sperm metabolism potentially influence bull fertility. *Sci Rep* 12(1):10692. 2022. doi.org/10.1038/s41598-022-14589-w
- Taylor, J.F. Schnabel, R.D., Sutovsky, P. Review:** Genomics of bull fertility, *Animal*, v.12, S 1, p.172-183, 2018. doi.org/10.1017/S1751731118000599.
- Taylor, J.F., Schnabel, R.D., Sutovsky, P.** Identification of genomic variants causing sperm abnormalities and reduced male fertility. *Anim. Reprod. Sci.* pii: S0378-4320(17)31072-2, 2018. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.007.
- Thapliyal, A. et al.** Exploring Differentially Expressed Sperm miRNAs in Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss and Their Association with Early Embryonic Development. *Non-coding RNA*, v. 10, n. 4, 2024.
- Thundathil, J. C.; Dance, A. L.; Kastelic, J. P.** Fertility management of bulls to improve beef cattle productivity. *Theriogenology*, 1;86(1):397-405. 2016.
- Tiwari, M., Gujar, G., Shashank, C. G., Sriranga, K. R., Singh, R. J., Singh, N.** Omics strategies for unveiling male fertility-related biomarkers in livestock: A review, *Gene Reports*, V.35, 2024, 101928, ISSN 2452-0144, doi.org/10.1016/j.genrep.2024.101928.
- Wainstein, A. et al.** MicroRNAs expression in semen and testis of azoospermic men. *Andrology*, v. 11, n. 4, p. 687-697, 2023.
- Zhang, Y. et al.** Comparison of miRNA Evolution and Function in Plants and Animals. *MicroRNA*, v. 7, n. 1, p. 4-10, 2018.
- Zoca, S. M. et al.** Proteomic analyses identify differences between bovine epididymal and ejaculated spermatozoa that contribute to longevity. *Theriogenology*, v. 184, p. 51-60, 2022.