

Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2021) e VIII International Symposium on Animal Biology of Reproduction – Joint Meeting, Belo Horizonte, MG, 19 a 22 de outubro de 2021.

Produção de Sêmen em Regime de Central – Muito além do espermograma

Semen production in Semen Collection and Processing Centres – Much more than an ordinary sperm evaluation

André Maciel Crespilho^{1,2}

¹Central Bela Vista, Botucatu, SP, Brasil; ²Universidade Santo Amaro, UNISA, São Paulo, SP, Brasil

Resumo

O mercado de inseminação artificial tem crescido de maneira exponencial nos últimos anos, resultando no inevitável aumento da demanda por sêmen das mais diferentes raças bovinas. Dessa forma, o número de touros em Centrais de Coleta e Congelação de Sêmen (CCCS) tem acompanhado o crescimento do mercado, sendo registrados recordes de produção de doses de sêmen bovino no país. No entanto, mesmo nesse cenário de crescente expansão, diferentes fatores como a própria idade dos reprodutores em coleta, problemas clínico-reprodutivos, estresse e dificuldades de adaptação ambiental e de manejo podem comprometer a plena produção de touros em regime de Central, justificando a abordagem desses temas no presente trabalho. Adicionalmente, algumas estratégias de manejo, diagnóstico ou tratamento de patologias reprodutivas de touros encontram-se abordadas nessa obra, denotando que a produção de sêmen de qualidade em CCCS vai muito além da condução do espermograma bovino.

Palavras-chave: qualidade, produção, sêmen bovino congelado, touro.

Abstract

The artificial insemination market in cattle has developed throughout the years, creating impact and greater demand for cattle semen production in several breeds. Furthermore, there was an increase in number of bulls in semen collection and processing centres (SCPC), followed by a record on production of frozen-thawed semen recently. Despite of this promising scenario, there are important factors that can affect semen production of bulls under SCPC regime, such as bull's age, clinical and reproductive health, management of bulls and its association with stress and environmental adaptation. This study presents strategies for management, diagnosis, and treatment of reproductive pathologies, showing that production of quality semen in bovine SCPC can be affected by several factors which cannot be captured through the ordinary sperm evaluation.

Keywords: bull, frozen-thawed semen, quality, production.

Introdução

Fatores como a crescente valorização da arroba do boi, balança comercial favorável às exportações e maior nível de conscientização e exigência do mercado consumidor interno por produtos de origem animal com altos padrões de qualidade têm impulsionado o segmento da inseminação artificial no Brasil. Acompanhando a dinâmica do mercado, a produção de insumos voltados a inseminação artificial também tem apresentado expressivo retrospecto de crescimento no último ano, sendo observado o aumento de 35% na produção de doses de sêmen bovino no Brasil, segundo levantamentos da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA, 2021). De acordo com dados oficiais também apurados pela ASBIA, houve incremento superior a 100% na produção de doses de sêmen de touros de corte quando comparados o primeiro semestre de 2020 (4.472.219) e o mesmo período de 2021 (9.450.015), denotando o significativo crescimento do mercado impulsionado, sobretudo, pelo segmento da inseminação artificial em tempo-fixo (IATF).

Em virtude da crescente demanda por material genético, a grande maioria das Centrais de Coleta e Congelação de Sêmen (CCCS) bovino no Brasil apresentaram significativo crescimento nos últimos anos, sendo estimuladas a investir na ampliação das áreas de coleta e na expansão do número de piquetes

¹Correspondência: andre.crespilho@centralbelavista.com.br

Recebido: 28 de outubro de 2021 Aceito: 28 de dezembro de 2021



para o alojamento de touros. A industrialização de sêmen bovino representa um processo multifatorial, que depende não apenas de fatores genéticos, fisiológicos e reprodutivos inerentes aos reprodutores, como também de boas práticas de alojamento, manejo geral e nutricional, coleta, processamento e controle de qualidade das doses de sêmen produzidas. Dessa forma, o presente trabalho tem o objetivo de apresentar alguns dos fatores que podem influenciar a produção de sêmen bovino alojados em regime de Central.

Padrões de qualidade para sêmen bovino congelado

Embora existam diferenças para os parâmetros e valores mínimos de qualidade observados para amostras de sêmen bovino pós-descongelação, a grande maioria das CCCS adotam os valores de referência preconizados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), considerando aptas partidas que apresentam valores mínimos de 30% de espermatozoides com motilidade progressiva, vigor 3 (escala de 0 a 5), 70% de células morfologicamente normais, além de concentração espermática a partir de 10 milhões de células para doses de sêmen convencional. Embora tais parâmetros e valores de referência sejam amplamente observados na rotina da análise laboratorial de qualidade do sêmen bovino, atualizações ainda se fazem necessárias para o estabelecimento de novos padrões baseados na utilização da análise computadorizada do movimento espermático e uso de sondas fluorescentes voltadas a avaliação bioquímica e funcional da célula espermática, técnicas que atualmente se encontram incorporadas a rotina de muitas Centrais.

Para que a produção de sêmen atenda plenamente o crescente mercado da inseminação artificial do Brasil, investimentos maciços têm sido realizados, seja na contratação e capacitação de mão de obra, como também na aquisição dos mais modernos equipamentos para análise e processamento de sêmen, de forma a garantir a máxima produtividade com a máxima qualidade. Além da incorporação de técnicas modernas de análise e da observância de padrões bem definidos para avaliação de qualidade, diversos fatores podem influenciar a capacidade de produção de sêmen de uma CCCS, conforme descrevem os tópicos abaixo.

Problemas Clínico-Reprodutivos

Independente da origem, qualquer alteração do trato reprodutor de touros pode resultar em quadros de subfertilidade, infertilidade ou esterilidade (Bicudo et al., 2007). Nesse contexto, diversos são os processos patológicos que podem comprometer a capacidade reprodutiva de touros manejados em regime de Central.

Em nossa rotina, diversos problemas prepuciais como acropostites, edema, estenoses e formação de abscessos são altamente prevalentes, especialmente em animais de raças zebuínas que naturalmente apresentam o prepúcio mais penduloso (Wolf, 2018). Em relação as desordens penianas destacam-se as balanopostites, lacerações e formação de papilomas. Embora levantamento anterior tenha indicado que a avulsão do prepúcio causado pela intromissão peniana durante a tentativa de coleta do sêmen em vagina artificial represente a injúria mais comum em touros manejados em CCCS (Parker et al., 1984) temos observado uma frequência maior de hematomas penianos (ruptura da túnica albugínea peniana, com aumento de volume prepucial, cranial ao escroto), como principal processo traumático de pênis e prepúcio relacionados à coleta do sêmen. Em muitas situações, touros portadores de grandes hematomas sofrem oclusão do orifício prepucial interno e incapacidade de exposição peniana, impossibilitando a coleta e industrialização do sêmen.

Da mesma forma, frequentemente também se realiza o diagnóstico de diversas patologias escrotais e testiculares em bovinos alojados em Centrais. Dermatites escrotais causadas por carrapatos são especialmente frequentes em reprodutores taurinos, especialmente das raças Angus e Holandês causando, além de sérias lesões cutâneas, o comprometimento da termorregulação testicular com consequente prejuízo à espermatogênese (Figura-1).

Em relação às patologias testiculares geralmente se estabelecem diagnósticos voltados à degeneração testicular, embora eventualmente se observe processos congênitos e hereditários como é o caso das hipoplasias.

Em virtude de sua etiologia multifatorial, a degeneração testicular pode ser classificada como síndrome que leva a alterações dos túbulos seminíferos, com comprometimento de funções bioquímicas e estruturais de todos os padrões de células da linhagem espermatogênica (Garcia, 2017). Os fatores envolvidos na patogênese da degeneração incluem problemas de termorregulação, desbalanço (excesso ou



deficiência) nutricional, toxicidade, processos obstrutivos (frequentemente epididimários), processos infecciosos, traumas, atrofia senil (Bart, 2014), além de processos neoplásicos, que frequentemente se manifestam em reprodutores com idade mais avançada (Figura-2).

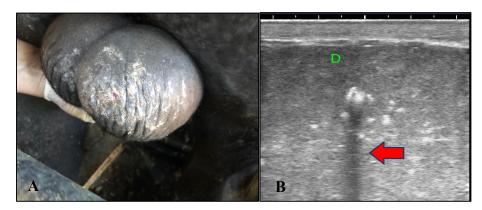


Figura1: Dermatite de bolsa escrotal em touro Angus, secundária a infestação por carrapatos (A). Aspecto ultrassonográfico (modo B) do testículo direito do mesmo animal, denotando heterogeneidade de parênquima, com a presença de pontos hiperecogênicos formadores de sombra acústica (seta), indicativos de processo degenerativo (B). Fonte: o autor (2021).

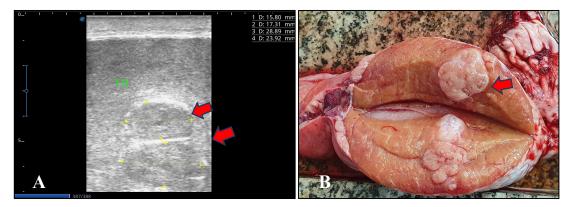


Figura 2: Presença de duas áreas neoplásicos (setas) com contornos bem definidos em parênquima testicular direito de touro Nelore de 12 anos de idade (A). Aspecto macroscópico das áreas nodulares (setas) após a condução da orquiectomia unilateral de touro Girolando de 11 anos de idade (B). Etiologia a esclarecer. Fonte: o autor (2021).

Em virtude de sua forma de manifestação (doença só se torna perceptível quando animal já apresenta alterações clínicas testiculares, problemas de libido, queda na qualidade e congelabilidade do sêmen) e dos diferentes fatores predisponentes, considera-se que a degeneração testicular é de dificil tratamento, muitas vezes com terapêutica restrita a identificação e retirada da causa de base (Batissaco, 2018). No entanto, baseados em resultados recentes que indicaram a segurança e aplicabilidade da terapia celular para tratamentos gonadais em equinos (Papa et al., 2020), novas trabalhos encontram-se em desenvolvimento na Central para avaliação de células tronco mesenquimais como alternativa para tratamento de touros com degeneração testicular.

Além disso, como suporte à degeneração testicular frequentemente se torna indicado a suplementação com fontes de ácidos graxos poliinsaturados, betacarotenos, L-cartina, e antioxidantes como vitamina E, zinco e selênio (Alvarenga et al., 2020). Dessa forma, nas nossas condições, mesmo atendendo 100% das exigências nutricionais dos ativos supramencionados, também ofertamos fonte adicional de todos esses componentes (Allgen Premium®, Allbion Feed, Cajuru/SP) para o manejo/tratamento de touros com degeneração testicular.

Adicionalmente, estudos recentes têm demonstrado que a suplementação com vitaminas e minerais é capaz de aumentar a taxa de concepção (Gouvêa et al., 2018) e o nível de enzimas antioxidantes no plasma sanguíneo de vacas submetidas à IATF (Vedovatto et al., 2019). Explorando os mesmos conceitos voltados ao suporte da esteroidogênese, aumento da atividade antioxidante e estímulo à proliferação celular observado para fêmeas bovinas, iniciamos uma série de trabalhos voltados à



suplementação vitamínica e mineral injetável (Kit Adaptador® Vitamínico e Mineral, Biogénesis Bagó, Curitiba, Brasil) sobre a qualidade e congelabilidade do sêmen de touros em regime de Central. Embora não tenham sido observados efeitos sobre a motilidade espermática pré e pós-descongelação, reprodutores submetidos ao tratamento com 1ml/ 50 kg de formulação vitamínica e mineral injetável (3 aplicações com intervalo de 20 dias), apresentaram menor quantidade (P<0,05) de espécies reativas ao oxigênio no sêmen após o término do protocolo terapêutico (dados não publicados), resultados promissores, que abrem precedente para uma nova opção de tratamento para desordens reprodutiva de touros.

Em função de particularidades inerentes aos próprios processos de melhoramento genético e seleção animal, touros zebuínos com aptidão leiteira, como é o caso de animais das raças Gir e Guzerá, tendem a iniciar mais tardiamente o processo de produção de sêmen em regime de Central, elevando a idade média dos reprodutores em coleta. Nesse contexto, especificamente para animais idosos tem se observado o aumento da incidência dos quadros de varicocele do plexo pampiniforme, patologia caracterizada pela dilatação e tortuosidade dos vasos (veias e artéria testicular) que compõe o cordão espermático (Figura-3A e B), que pode interferir no fluxo sanguíneo local e comprometimento dos mecanismos de termorregulação, eventos que podem culminar com a degeneração testicular (Koivisto et al., 2002).

Em contrapartida, reprodutores jovens frequentemente apresentam maior incidência de patologias relacionadas às glândulas anexas, como é o caso das vesiculites, definidas como processos inflamatórios e infecciosos das glândulas vesiculares (Bicudo et al., 2007). Geralmente a doença se caracteriza por aumento de volume e sensibilidade da glândula vesicular, que perde sua conformação lobular em função do acúmulo local de conteúdo purulento que é expelido durante o processo ejaculatório (Cavalieri, 1997). Dessa forma, touros com vesiculite geralmente apresentam quadros de piospermia, com presença de células inflamatórias, debris celulares e aglutinação de células espermáticas nos ejaculados, fatores que inviabilizam o processo de industrialização do sêmen bovino (Figura-3C).

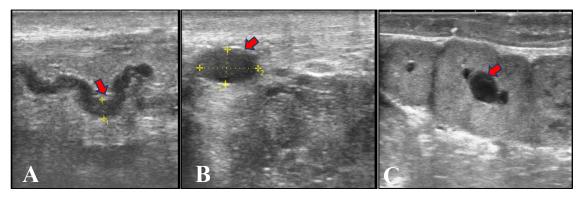


Figura 3: Tortuosidade e dilação (1,2 cm diâmetro) da artéria testicular (setas) de touro Nelore de 8 anos de idade com histórico de queda da qualidade e congelabilidade de sêmen (A e B). Transdutor ultrassonográfico com frequência auto-ajustável entre 6,8 a 10,1 MhZ (Sonoscape E2 PRO-V, China). Dilatação (seta) de glândula vesicular esquerda (conteúdo anecogênico e áreas de aparente depósito de fibrina) de touro Nelore com histórico de piospermia e baixa qualidade dos ejaculados (C). Fonte: o autor (2021).

Idade dos Reprodutores

Em virtude da maior popularização dos programas de melhoramento genético, bem como dos avanços científicos expressivos na área de seleção genômica, reprodutores cada vez mais jovens têm sido encaminhados às Centrais para produção de sêmen congelado. Adicionalmente, fatores cambiais (sobretudo a desvalorização do Real em relação ao Dólar Americano) impactaram nos custos de importação do sêmen bovino. Dessa forma, nos últimos anos tem havido maior fluxo de importação de jovens reprodutores, permitindo que bases genéticas estrangeiras sejam nacionalizadas para produção de sêmen no Brasil, diminuindo consideravelmente os custos de produção.

Embora touros jovens possuam diversos benefícios, incluindo questões de aptidão física e maior capacidade de ambientação frente a mudanças bruscas de temperatura e umidade relativa do ar (Llamas-Luceño et al., 2020), a imaturidade sexual de muitos reprodutores frequentemente se manifesta por maior proporção de espermatozoides portadores de gotas citoplasmáticas proximais, maior grau de fragmentação de DNA espermático e menor proporção de acrossomos intactos (Aman et al., 2000;



Karabinus et al., 1990), fatores que podem impactar negativamente na capacidade de produção de doses de sêmen desses reprodutores.

Especificamente em relação a presença de elevada proporção de gotas proximais, frequentemente associada com imaturidade sexual (Perry, 2021), novos estudos têm buscado alternativas para separação das células portadoras desse tipo anormalidade morfológica. Nesse contexto, em recente estudo conduzido na Central Bela Vista empregando centrifugação a base de solução comercial de sílica coloidal (Equipure®, Nidacon, Suécia) foi observado redução significativa da proporção de gotas proximais quando comparados ejaculados frescos (22,4 \pm 5,94 %) e pós-centrifugação (12,4 \pm 4,39%), demonstrando que esse tipo processamento pode representar uma alternativa promissora para o processamento do sêmen de animais jovens portadores de células espermáticas com alto percentual de anormalidades morfológicas.

Adicionalmente, reprodutores jovens naturalmente apresentam menor volume de massa testicular quando comparados a reprodutores maduros (Schenk, 2018), fator que impacta diretamente na capacidade de produção de espermatozoides (Kowalczyk et al., 2021). Nesse contexto, de acordo com levantamentos também conduzidos na Central Bela Vista, touros Nelore com idade entre 2 e 6 anos apresentam maior produção de doses de sêmen (cerca de 32%) em relação a jovens reprodutores da mesma raça, porém com idade igual ou inferior a 2 anos. Tal panorama denota o impacto que a grande proporção de touros jovens pode ocasionar na produtividade das CCCS.

Temperamento, Estresse e Ambiente

Em virtude do maior grau de conscientização de toda a sociedade a respeito de questões relacionadas ao bem-estar animal e sustentabilidade, diversos trabalhos recentes têm avaliado o impacto do estresse na capacidade de produção e reprodução animal.

Estudos anteriores demonstraram que o estresse é capaz de estimular, além da liberação de catecolaminas, a secreção de cortisol a partir das glândulas adrenais, hormônio que atua na regulação de diferentes vias relacionadas ao anabolismo e catabolismo animal, imunidade e secreção de GnRH hipotalâmico (Fernandez-Novo et al., 2020). Dessa forma, especialmente para bovinos com comportamento mais reativo e submetidos a estresse crônico, pode se observar a queda do desempenho produtivo e do ganho de peso (Braga et al., 2009; Braz et al., 2020), além de prejuízos relacionados à capacidade reprodutiva de machos (Lockwood et al., 2016) e fêmeas (Cooke et al., 2018).

Dessa forma, se atribui grande atenção a este tema para touros alojados em regime de CCCS, já que rotinas simples relacionadas ao manejo e interação com os animais (condições de alojamento nos piquetes, sombreamento, quantidade e periodicidade da oferta de alimentos, número de coletas diárias ou semanais) podem influenciar a qualidade e congelabilidade dos ejaculados. Na tentativa de minimizar situações estressantes relacionadas à interação e hierarquia dos touros, na Central Bela Vista se realiza um manejo racional através de sistema de currais de espera, onde os reprodutores aguardam sua programação para ingresso no galpão de coleta. Tal medida permite a redução da taxa de ocupação de animais dentro da área de coleta, maior distanciamento entre reprodutores e melhor ajuste do perfil e padrão comportamental dos animais dentro da área de manejo, prevenindo que reprodutores mais jovens e/ou submissos sejam contidos nas proximidades de touros mais velhos e/ou dominantes.

Reconhecendo que o simples transporte até CCCS e o alojamento no novo piquete representam fatores determinantes de estrese para os reprodutores, manejo racional também é observado para a área de quarentena da Central. Dessa forma, durante o início da estadia ocorrem trabalhos relacionados ao condicionamento dos reprodutores, promovendo a interação com os coletadores (realização de banhos frequentes, escovação, cabresteamento) e início da interação com o manequim de coleta e com a vagina artificial.

Adicionalmente, grande atenção tem sido atribuída aos efeitos da interação entre mudanças climáticas e aquecimento global com o estresse térmico de animais de produção, sendo relatados prejuízos a capacidade reprodutiva de machos e fêmeas bovinas durante períodos de maior umidade relativa do ar e/ou temperatura ambiente. De acordo com estudo anterior envolvendo mais de 900 touros da raça Holandesa manejados em Centrais situadas em regiões de clima temperado, aumentos sazonais dos índices de temperatura e umidade (THI) não influenciaram a qualidade *in natura* do sêmen bovino; no entanto, elevações no THI durante a fase de espermatogênese foram capazes de diminuir significativamente a criotolerância espermática, expressa por menores índices de motilidade progressiva e maior percentual de defeitos espermáticos, especialmente para touros acima de 36 meses (Llamas-Luceño et al., 2020a).



Além de prejuízos relacionados à espermatogênese e qualidade do sêmen pós-descongelação, estudos recentes demonstraram que sob condição de estresse térmico são produzidos espermatozoides com menor índice de viabilidade e que resultam em menor produção de blastocistos em sistemas de produção *in vitro* (Llamas-Luceño et al., 2020b); da mesma forma, as taxas de concepção em programas de inseminação artificial podem ser afetadas significativamente pelo estresse térmico dos reprodutores (Llamas-Luceño et al., 2020a), resultados que denotam a importância da promoção de conforto térmico para a produção de sêmen bovino com alta qualidade e fertilidade.

Em condições nacionais ainda são escassos os trabalhos que avaliaram estresse térmico e possíveis variações sazonais sobre a qualidade e fertilidade do sêmen de touros manejados em regime de Central. No entanto, em recente estudo da Central Bela Vista (dados não publicados) foi observada importante variação sazonal do número de ejaculados aproveitáveis (sêmen *in natura* que atende os parâmetros mínimos de 60% de motilidade total, percentual de defeitos espermáticos maiores, menores e totais de até 20%, 30% e 30%, respectivamente) para o processo de criopreservação. De acordo com o levantamento, ocorre um aumento sazonal de aproximadamente 12% no aproveitamento de ejaculados produzidos durante o período de inverno (59%, 67% e 61%, respectivamente para os meses de junho, julho e agosto) em comparação aos obtidos durante os meses de verão (53%, 49% e 49%, respectivamente para dezembro, janeiro e fevereiro), resultados que denotam importante sazonalidade da produção de sêmen no Brasil, mesmo para Centrais que possuem condições topográficas (1000 metros de altitude) e climáticas favoráveis para a produção de sêmen bovino.

Considerações finais

A crescente expansão do mercado agropecuário e da inseminação artificial impulsionaram a produção de sêmen bovino no país. Embora as Centrais de Coleta e Congelação de Sêmen tenham acompanhado a expansão do mercado, investindo consideravelmente na contratação e capacitação de mão de obra, em infraestrutura, parque de equipamentos e revisão de processos, muitos são os desafios envolvidos na produção de doses de sêmen com qualidade, como os diversos processos patológicos que podem acometer os touros em coleta, a idade e habilidade física dos reprodutores, além de fatores relacionados ao estresse e ambiência. Dessa forma, conclui-se que para atender o mercado da inseminação artificial em bovinos, que historicamente vive sua maior expansão, é necessário muito mais que um espermograma bem conduzido, é preciso um trabalho multidisciplinar com acompanhamento constante de todas as variáveis envolvidas no processo.

Agradecimentos

A Adriano Roder (Central Bela Vista, Botucatu/SP), Fernando Neves (CRV Lagoa, Sertãozinho/SP), Marcelo Sant'Anna Borges (Instituto de Zootecnia, Sertãozinho/SP) e Renata Elisa Green (Santos e Green Ltda, Dunedin, Nova Zelândia) pela colaboração, respectivamente, no apoio ao levantamento de dados, geração de imagens, análises estatísticas e revisão final do artigo.

Referências

Alvarenga MA, Papa FO, Crespilho AM. Degeneração testicular. In: Papa FO. Reprodução de Garanhões (Ed.1) 2020, São Paulo, MedVet, 2020. p.241-251.

Amann RP, Seidel GE, Mortimer RG. Fertilizing potential *in vitro* of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet. Theriogenology, v.54, p.1499–1515, 2000.

ASBIA, Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Index Asbia, 1º semestre, 2021. p.1-37.

Arruda, RP, Celeghini, ECC, Garcia, AR, Santos, GC, Leite, TG, Oliveira, LZ, Lançoni, R, Rodrigues, MP. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.39, n.1, p.47-60, 2015.

Batissaco L. Melatonina para o tratamento da degeneração testicular em touros e seus efeitos sobre a bioquímica sérica e do plasma seminal, termodinâmica e hemodinâmica testicular e características espermáticas. Tese (Doutorado) Universidade São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ-USP, Pirassununga, SP, 2018, p.103.

Bicudo SD, Siqueira JB, Meira C. Patologias do sistema reprodutor de touros. Biológico, v.69, p.43-48, 2007.



Braga JS, Faucitano L, Macitelli F, Sant'Anna AC, Méthot S, Paranhos da Costa, MJR. Temperament effects on performance and adaptability of Nellore young bulls to the feedlot environment. Livestock Science, v.216, p. 88-93, 2018.

Braz KM, Monteiro FM, Fernandes LG, Rodrigues NN, Peixoto Jr KC, Gren RE, Cortez A, Crespilho AM. Does bull temperament impact growth performance and semen quality? Livestock Science, v.236, p.1-7, 2020.

Carreira JT, Mingoti GZ, Rodrigues LH, Silva C, Perri SHV, Koivisto MB. Impact of proximal cytoplasmic droplets on quality traits and in-vitro embryo production efficiency of cryopreserved bull spermatozoa. Acta Veterinaria Scandinavica, v.54, p.1-7, 2012.

Cavalieri J. Bovine seminal vesiculitis. A review and update. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v.13, p.233-241, 1997.

CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 2013. Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal, 3 ed, Belo Horizonte, 2013. 104p.

Cooke RF, Moriel P, Cappellozza BI, Miranda VFB, Batista LFD, Colombo EA, Ferreira VSM, Miranda MF, Marques RS, Vasconcelos JLM. Effects of temperament on growth, plasma cortisol concentrations and puberty attainment in nelore beef heifers. The Animal Consortium, v.13, p.1-6, 2018.

Fernandez-Novo A, Pérez-Garnelo SS, Villagrá A, Pérez-Villalobos N, Astiz S. The efect of stress on reproduction and reproductive technologies in beef cattle—A review. Animals, v. 10, p.1-23, 2020.

Garcia, **AR.** Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.41, n.1, p.33-39, 2017.

Gouvêa VN, Colli MHA, Gonçales Jr WA, Motta JCL, Acedo TS, Vasconcellos GSFM, Tamassia LFM, Elliff, FM, Mingoti RD, Baruselli PS. The combination of β-carotene and vitamins improve the pregnancy rate at first fixed-time artificial insemination in grazing beef cows. Livestock Science, v.217, p.30-36, 2018.

Karabinus DS, Evenson, DP, Jost LK, Baer, RK. Comparison of semen quality in young and mature Holstein bulls measured by light microscopy and flow cytometry. Journal of Dairy Science, v. 73, p.2364-2371, 1990.

Koivisto MB, Luvizotto MCR, Nogueira GP, Vicente WRR, Costa, MTA. Testosterone concentration in a bovine *Bos indicus* with bilateral varicocele: Case report. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.39, p.27-31, 2002.

Kowalczyk A, Galęska E, Czerniawska-Piątkowska E, Szul A, Hebda L. The impact of regular sperm donation on bulls' seminal plasma hormonal profile and phantom response. Scientific Reports, v.11, p.1-12, 2021.

Llamas-Luceño N, Hostens M, Mullaart E, Broekhuijse M, Lonergan P, Van Soom A. High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. Journal of Dairy Science, v.103, p.9502-9514, 2020.

Llamas-Luceño N, Angrimani DSR, Bicudo LC, Szymanska KJ, Poucke MV, Demeyere K, Meyer E, Peelman L, Mullaart E, Broekhuijse MLWJ, Soom AV. Exposing dairy bulls to high temperature-humidity index during spermatogenesis compromises subsequent embryo development *in vitro*. Theriogenology, v.141, p.16-25, 2020.

Lockwood SA, Kattesh HG, Rhinehart JD, Strickland LG, Krawczel PD, Wilkerson JB, Kirkpatrick FD, Saxton AM. Relationships among temperament, acute and chronic cortisol and testosterone concentrations, and breeding soundness during performance testing of Angus bulls. Theriogenology, v.89, p.140-145, 2016.

Papa PM, Guasti PN, Vita B, Nakazato NG, Maia L, Freitas Dell'Aqua CP, Scheeren VFC, Segabinazzi LGTM, Andrade Junior LRP, Silva LFMC, Araújo EAB, Oliveira SN, Papa FO, Landim-Alvarenga FC, Alvarenga MA. Clinical safety of intratesticular transplantation of allogeneic bone marrow multipotent stromal cells in stallions. Reproduction in Domestic Animals, v.55, p.429-437, 2020.

Parker WG, Braun RK, Bean B, Hillman RB, Larson LL, Wilcox CJ. Avulsion of the bovine prepuce from its attachment to the penile integument during semen collection with an artificial vagina. Theriogenology, v.28, p.237-256, 1987.

Perry, VEA. The role of sperm morphology standards in the laboratory assessment of bull fertility in Australia. Frontiers in Veterinary Science, v.26, p. 1-9, 2021.

Schenk JL. Review: Principles of maximizing bull semen production at genetic centers. Animal, v.12, p.142–147, 2018.

Vedovatto M, Moriel P, Cooke RF, Costa DS, Faria FJC, Cortada Neto IM, Pereira CS, Bento



Crespilho. Produção de Sêmen em Regime de Central – Muito além do espermograma.

ALL, Almeida RG, Santos AS, Franco GL. Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nellore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. Livestock Science, v.225, p.123-128, 2019. Wolfe DF. Review: Abnormalities of the bull – occurrence, diagnosis and treatment of abnormalities of the bull, including structural soundness. Animal, v.12, p.148–157, 2018.