

Sêmen sexado: conhecendo melhor as técnicas e os avanços alcançados nos últimos anos

Sexed semen: learning more about the technologies and advances achieved in the last years

Adolfo Firmo Ferreira¹, Amanda Nonato¹, Ana Clara Faquineli Cavalcante Mendes de Ávila¹,
Sthefano Panazzolo²

¹ABS Brasil, Delta, MG, Brasil

²Sexing Technologies do Brasil, Indaiatuba, SP, Brasil

Resumo

O sêmen sexado é uma biotecnologia valiosa para a pecuária, impactando positivamente o setor no que diz respeito a sustentabilidade e melhoria da eficiência produtiva, econômica e do bem-estar animal. Desde o início dos anos 1970, avanços tecnológicos aprimoraram sua eficiência e viabilidade econômica, tornando-se uma tecnologia cada vez mais presente em fazendas de leite e corte. Biotécnicas como citometria de fluxo, classificação celular fluorescente e a técnica de ablação a laser têm contribuído para taxas de concepção cada vez mais satisfatórias. Essas melhorias contínuas da tecnologia possibilitaram uma pureza de sexagem que é capaz de superar os 90% e taxas de concepção cada vez mais próximas às obtidas com sêmen convencional. Adicionalmente, o uso de sêmen sexado não apenas favorece a produção de animais geneticamente superiores, aumentando significativamente a produção de carne e leite, como também viabiliza o desenvolvimento de estratégias eficazes nas propriedades rurais para maximizar a lucratividade.

Palavras-chave: Seleção do sexo; I nseminação artificial; Biotecnologias; Mérito genético.

Abstract

Sexed semen is a valuable biotechnology for livestock, positively impacting the sector in terms of sustainability and improving productivity, economic efficiency, and animal welfare. Since the early 1970s, technological advancements have enhanced its efficiency and economic viability, making it an increasingly prevalent technology in dairy and beef farms. Biotechniques such as flow cytometry, fluorescent cell sorting, and laser ablation techniques have contributed to increasingly satisfactory conception rates. These continuous improvements in technology have enabled sexing purity that can exceed 90% and conception rates that are increasingly close to those obtained with conventional semen. Additionally, the use of sexed semen not only favors the production of genetically superior animals, significantly increasing meat and milk production, but also enables the development of effective strategies on rural properties to maximize profitability.

Keywords: Gender selection; Artificial insemination; Biotechnologies; Genetic merit.

Introdução

O sêmen sexado representa uma ferramenta valiosa para o avanço da pecuária, com impactos positivos que vão desde o aumento da eficiência produtiva e econômica até melhorias no bem-estar animal e na gestão de recursos genéticos (Holden; Butler, 2018; Ruelle et al. 2021). Essa tecnologia começou a se desenvolver significativamente nos anos 80, passou por avanços importantes que melhoraram a eficiência e a viabilidade econômica do seu uso (Kumar et al., 2024).

Ruelle et al. (2021), destacaram que, independentemente da fertilidade do rebanho, o uso adequado de sêmen sexado resultou em aumento na lucratividade da fazenda e induziu simultaneamente mudanças que melhoram a percepção do consumidor sobre a pecuária leiteira. Também relatam que o uso de sêmen sexado tem um potencial muito grande para ajudar a impulsionar a integração entre os rebanhos leiteiros e de corte, se usado corretamente.

*Correspondência: adolfo.ferreira@genusplc.com; sthefano.panazzolo@stgen.com

Recebido: 29 de abril de 2023

Aceito: 25 de maio de 2023

Muito tem se discutido sobre a utilização de sêmen sexado como estratégia para incrementar e otimizar a produção. Van Vleck e Everett (1978) e Hohenboken (1999) já sugeriam que os produtores de leite poderiam inseminar 50% de suas melhores vacas, buscando acelerar o melhoramento genético, usando sêmen de gado leiteiro com sexado de fêmea, para produzir novilhas de reposição. Enquanto isso, os 50% de vacas com valor genético inferior, poderiam ser inseminadas com sêmen sexado macho visando produzir machos para o mercado de corte.

Baker et al. (1990) relataram que o sêmen sexado possui um papel significativo na eficiência de fazendas leiteiras, dado que bezerros machos têm um valor econômico mínimo ou até negativo. Essa perspectiva é reforçada por Pahmeyer e Britz (2020), que destacaram ainda as vantagens econômicas do uso de sêmen de corte em gado leiteiro como atraentes e benéficas. Berry (2021) observou que essa prática entre os produtores de leite é cada vez mais popular.

Além dos benefícios e estratégias citadas acima, o uso do sêmen sexado também é responsável pelo aumento da produção de leite, uma vez que novilhas e vacas, gestantes de bezerros fêmeas, produzem aproximadamente 445 kg a mais de leite na primeira e segunda lactação, respectivamente (Hinde et al., 2014).

Devido às suas vantagens, a utilização dessa biotecnologia está se expandindo substancialmente no Brasil e no mundo, sendo cada vez mais comum em programas reprodutivos em fazendas de leite e corte (Brito et al., 2019). A adoção dessa tecnologia é percebida como um investimento estratégico para aumentar a eficiência e a sustentabilidade da produção pecuária, em resposta às crescentes demandas econômicas e desafios ambientais (Kumar et al., 2024).

Apesar dos amplos benefícios obtidos com o uso do sêmen sexado, a taxa de concepção é considerada um dos critérios de maior importância para a utilização deste produto em relação ao sêmen convencional. Entretanto, nos últimos anos, esta disparidade de fertilidade parece ter diminuído (Holden; Butler, 2018). Antes de 2014 uma redução da taxa de concepção entre 20% e 30% para o sêmen sexado era considerado aceitável quando comparado ao convencional, no entanto estudos recentes relataram menores porcentagens de redução, atribuídas aos avanços tecnológicos (Wellmann et al., 2024).

Estas melhorias se devem ao fato de que a produção de sêmen sexado apresentou muitos avanços desde o início de sua aplicação comercial, e continua a evoluir rapidamente. A incorporação dos mais recentes avanços na produção de sêmen sexado resultou em produtos inovadores, como o SexedULTRA+™ (Sexing Technologies) e o Sexcel® (ABS Global).

A Sexing Technologies, conhecida por sua atuação no mercado desde o início dos processos de sexagem de sêmen, utiliza a tecnologia de Citometria de Fluxo e Classificação Celular Fluorescente (FACS). Esta técnica envolve a coloração DNA dos espermatozoides com corante específico (H33342) que se liga ao DNA, seguida pela separação dos espermatozoides portadores dos cromossomos X e Y por meio da citometria de fluxo (Brito et al., 2019). Esta tecnologia é capaz de alcançar taxas de sucesso superiores a 90% de pureza na produção de sêmen sexado seja ele macho, para fêmea ou ambos os gêneros, simultaneamente.

Em 2017, a ABS Global, uma divisão da Genus plc, lançou ao mercado o produto sexado para bovinos e bubalinos o Sexcel®, que utiliza um método a laser para eliminar seletivamente espermatozoides indesejados portadores dos cromossomos X ou Y (Loneragan, 2018). Essa inovação representa um avanço significativo na área de sêmen sexado, oferecendo expectativa para melhorias contínuas na eficiência e precisão da sexagem de espermatozoides.

Grandes avanços foram alcançados a partir do desenvolvimento de ferramentas para sexagem de sêmen. Adicionalmente, novas tecnologias têm sido investigadas para seleção no sexo, tais como a utilização de nanopartículas associadas a imunologia e edição gênica. No entanto são tecnologias experimentais que ainda precisam de aprimoramento e autorizações legais para se tornarem aplicáveis em larga escala comercial.

História da Sexagem:

Pesquisadores têm buscado determinar o sexo antes da concepção por muitos anos. As primeiras teorias surgem entre 470 e 402 a.C., e apontavam que o testículo direito produzia espermatozoides masculinos, enquanto o esquerdo gerava espermatozoides femininos. No entanto, anos mais tarde comprovou-se não ser verdade. (Garner e Seidel, 2008).

A tecnologia de sêmen sexado teve origem em centros de pesquisa do governo dos EUA, no Laboratório Nacional Lawrence Livermore na década de 1970. Cientistas que estudavam os efeitos da radiação em camundongos desenvolveram técnicas de citometria de fluxo para medir com precisão o conteúdo de DNA nas células espermáticas. Essa abordagem permitiu a identificação de populações de

espermatozoides X e Y, com base nas diferenças de conteúdo de DNA (Garner e Seidel, 2008).

Na década de 1980 e 1990, o Centro de Pesquisa Agrícola de Beltsville (USDA) refinou a técnica, introduzindo melhorias no método de coloração do DNA e na citometria de fluxo levando a um avanço significativo que resultou nos primeiros nascimentos vivos de coelhos a partir de sêmen sexado (Johnson et al, 1989), demonstrando o potencial comercial da tecnologia.

Conhecida como Beltsville Sperm Sexing Technology, essa técnica foi patenteada pelo USDA, com o inventor Dr. Lawrence Johnson (Garner e Seidel, 2008). Na década de 1990, o USDA licenciou a tecnologia para a XY Inc., uma empresa financiada pela Colorado State University Research Foundation, para uso em espermatozoides de mamíferos não humanos. Desde então, avanços na citometria de fluxo permitiram a sexagem com maiores que 90% de precisão (Johnson e Welch, 1999), e as técnicas de criopreservação asseguraram taxas de concepção aceitáveis após a descongelamento do sêmen (Schenk et al, 1999; Seidel et al, 1999).

Em 2004, a Sexing Technologies (ST/ST Genetics™) obteve a licença para sexagem e começou a estabelecer laboratórios ao redor do mundo. Em 2007, adquiriu a XY Inc., expandindo o acesso ao sêmen sexado para criadores, aumentando a produção e a qualidade, além de promover a redução de custos (Gilligam, 2014).

Essa técnica de citometria pode ser usada na sexagem de qualquer mamífero que tenha diferenças entre os cromossomos X e Y. Atualmente, é aplicada comercialmente na sexagem de cervídeos, suínos, bovinos, bubalinos e equinos, entre outros, além de ser empregada experimentalmente na preservação de espécies em parceria com instituições especializadas.

Hoje, a ST Genetics™ tem como clientes nove das dez maiores empresas de genética bovina do mundo. A companhia opera 53 laboratórios distribuídos em 20 países, além de três centros de pesquisa. Anualmente, produz mais de 23 milhões de doses sexadas de sêmen bovino globalmente.

Recentemente, Faust et al. (2016) relataram um método que elimina por meio de laser espermatozoides indesejados contendo cromossomos X ou Y e identificaram que a presença de espermatozoides imóveis e seus fragmentados não afetaram as taxas de concepção. Essa tecnologia foi lançada no mercado no ano seguinte, em 2017, pela ABS Global, uma divisão da Genus plc (Lonergan, 2018).

Técnica de Sexagem: Sexing Technologies - ST/ST Genetics™

A técnica de seleção do sexo baseia-se na informação entre a diferença do conteúdo de material genético dos espermatozoides X e Y em mamíferos, onde o X é ligeiramente maior. Desta forma, a citometria de fluxo utiliza a força hidrodinâmica para alinhar as células em uma fila única. O corante, que foi adicionado às células sem causar danos, é excitado à medida que as células passam pelo laser, emitindo diferentes intensidades de luminosidade. Esta diferença de intensidade é captada pelos sensores frontais e laterais ao laser. O computador recebe estas informações, processa e informa a máquina se a célula será separada ou não.

A citometria de fluxo possibilita a separação dos espermatozoides Y (machos) dos espermatozoides X (fêmeas) por meio da diferença no conteúdo de DNA entre as duas células espermáticas. Em bovinos, por exemplo o gameta portador do cromossomo X possui, cerca de 4% mais DNA que o gameta portador do cromossomo Y. Garner (2006) identificou diferentes proporções nesta porcentagem de DNA presente nos cromossomos X e Y entre as raças bovinas onde identificou: 4,22% para Jersey, 4,07% para Angus, 4,01% para Holandês, 3,98% para Hereford e 3,7% para Brahman, e que tais diferenças não tem relação com a fertilidade após o processo de sexagem.

Essas diferenças entre DNA dos espermatozoides têm ligação direta com a velocidade do processo, que resulta em uma maior eficiência produtiva de sêmen sexado, mantendo a qualidade final do produto.

Para início do processamento, o DNA do espermatozoide é corado com Hoechst 33342, um tipo de corante permeável à membrana celular intacta, durante o período de incubação. O corante presente na célula, que passa por um fluxo linear, após exposição à um feixe de laser de comprimentos de onda específicos, é estimulado emitindo uma fluorescência de cor azul (Figura 1). A intensidade do brilho é medida usando um fotomultiplicador (PMT) e um software de alta velocidade analisa a fluorescência relativa de cada célula identificando as populações de espermatozoides X e Y, bem como células mortas (Figura 2).

Na sequência do fluxo, um micro cristal vibra em altíssima velocidade, com frequência e amplitude controladas, possibilitando a formação de gotas individuais no fluxo de forma que uma célula é adicionada a cada gota. O programa identifica as populações a serem separadas, colocando cargas opostas no fluido (gotas), contendo espermatozoides X daquelas contendo espermatozoides Y. Este fluxo de gotas

já com cargas elétricas (positivas e negativas) passam centralizadas por duas placas carregadas eletricamente, que forma um campo eletromagnético. Durante a passagem pelo fluxo eletromagnético, as gotas carregadas sofrem deflexão sendo direcionadas para um tubo para serem coletados (Figura 1).

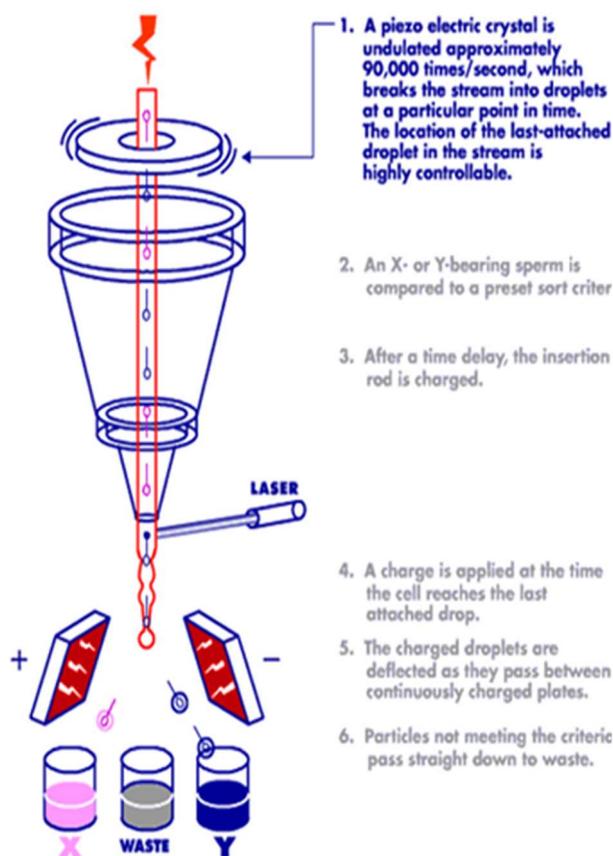


Figura 1. Ilustração do esquema de sexagem de sêmen. (Fonte: Arquivo Pessoal)

Um terceiro fluxo de gotas, sem carga, passa diretamente pelas placas, sem sofrerem deflexão, seguindo o fluxo do descarte. Este fluxo corresponde as gotas que contêm espermatozoides onde a máquina não foi capaz de identificar com precisão (eventos abortados por alguma morfologia espermática, espermatozoide com DNA abnormal, espermatozoide mal direcionado durante a passagem etc.), gotas sem espermatozoides (vazias), com dois espermatozoides, e principalmente com espermatozoides mortos.

O descarte de espermatozoides mortos é um benefício adicional valioso desta tecnologia. Portanto, a técnica é capaz de separar células X, células Y e células X e Y ao mesmo tempo do mesmo ejaculado.

O controle de qualidade se inicia na avaliação do ejaculado recebido no laboratório, onde avalia-se presença de sujidades, urina, água, sangue ou glóbulos brancos. Alguns sinais de contaminação resultam descarte do ejaculado. Além disso, cada ejaculado avalia-se motilidade e a morfologia espermática através do contraste de fase e DIC. Os defeitos da morfológicos dos espermatozoides são classificados como primários (defeitos no acrossoma e na cabeça) e secundários (defeitos na cauda). Apenas ejaculados que atendem aos requisitos mínimos são processados.

Após a sexagem, uma amostra de cada partida é descongelada, incubada por 3 horas a 36°C. Então, é feita a avaliação da motilidade e presença de aglutinação espermática por microscopia de contraste de fase, e a avaliação da integridade acrossômica no DIC. Os vídeos de motilidade são gravados, arquivados e revisados de forma remota por um revisor independente. Além disso, as amostras são levadas para avaliação no CASA.

Resultante do processo de seleção de células vivas resultam em alta motilidade espermática e integridade acrossomal pós-descongelação, mesmo após 3 horas de incubação após a descongelação.

A concentração da partida é determinada usando o nucleoCounter (Chemometec®, Dinamarca).

A contagem bacteriana aeróbica é determinada em todas as partidas através de incubação em placas de ágar sangue mantidas a 37°C por 24 a 36 horas, onde se determina o número de unidades formadoras de colônias (UFC).

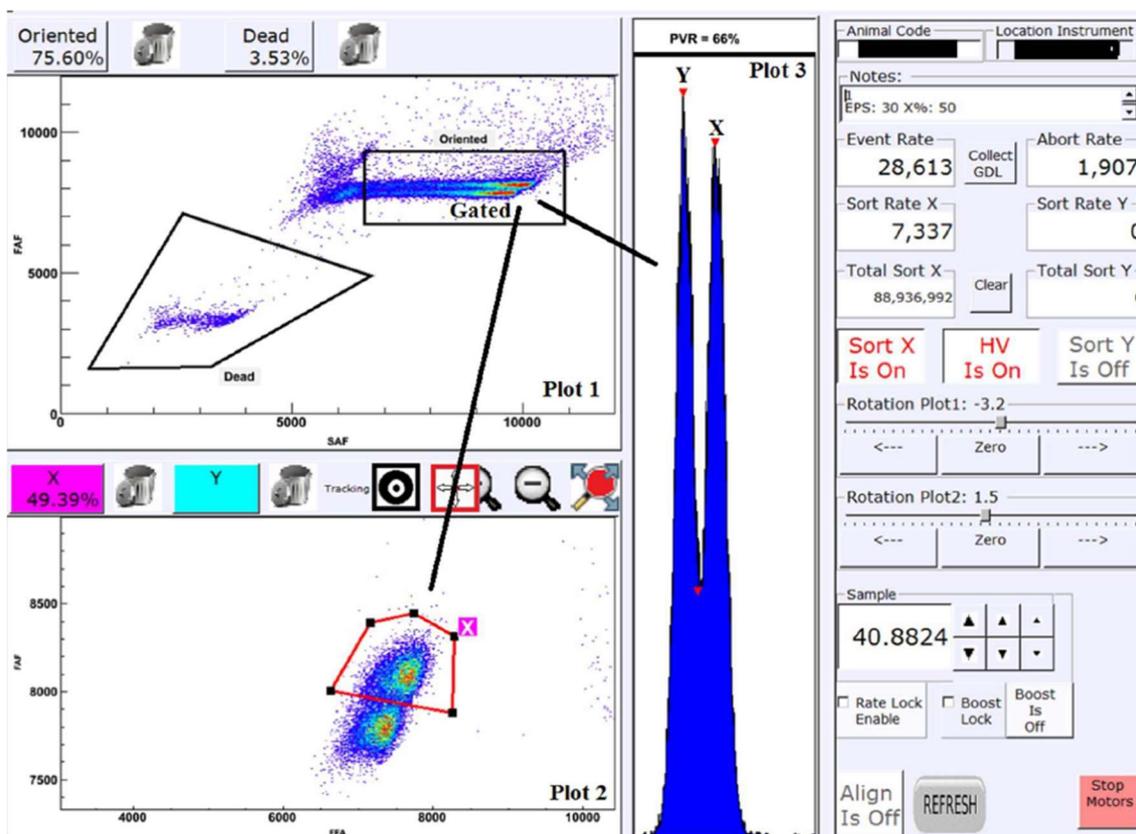


Figura 2. Histograma da sexagem de sêmen, mostrando a separação entre as populações; Plot 01: usado para identificar células X, Y e células mortas; Plot 02: Identifica as populações de células X e Y; Plot 03: Relações entre o grau de separação entre a população de células X e Y avaliado pela relação pico vale (PVR) (Fonte: Vishwanath, et al, 2018).

A pureza do gênero, de toda a partida, é avaliada usando citometria de fluxo de alta resolução Genesis™, que permite a leitura precisa da pureza. As imagens geradas das purezas são registradas e arquivadas (Figura 3). Todas as imagens também são revisadas remotamente por um especialista técnico qualificado localizado nos EUA antes de qualquer lote ser liberado.

A tecnologia continua a avançar em ritmo exponencial, e os resultados obtidos com o uso do sêmen sexado são hoje incontestáveis e comparáveis aos do sêmen convencional. Com o lançamento do SexedULTRA™ em 2013, as avaliações laboratoriais iniciais revelaram que os parâmetros de qualidade do sêmen *in vitro*, incluindo motilidade espermática e integridade acrossômica, foram superiores com o uso desta tecnologia em comparação com a tecnologia "Legacy" anteriormente utilizada pela XY. Além disso, seu uso na FIV resultou em maior produção de blastocistos e maior proporção de embriões congeláveis (Brito, et al, 2019).

Avaliações adicionais da motilidade, viabilidade e integridade acrossômica dos espermatozoides SexedULTRA™ pós-descongelamento revelaram que eles eram iguais ou melhores do que os resultados obtidos no sêmen convencional. A diminuição na qualidade do sêmen após 3 horas de incubação, foi menor no SexedULTRA™ comparado ao sêmen convencional. A fragmentação do DNA no sêmen convencional foi de aproximadamente 2%, mas reduziu para quase zero no sêmen sexado, indicando que os espermatozoides com DNA danificado são removidos durante o processo de sexagem. Além disso, o DNA do espermatozoide foi mais estável no sêmen SexedULTRA™ e a fragmentação não aumentou após período de incubação, tanto para o sêmen congelado quanto para o sêmen fresco, enquanto a fragmentação aumentou significativamente no sêmen convencional (Brito, et al, 2019).

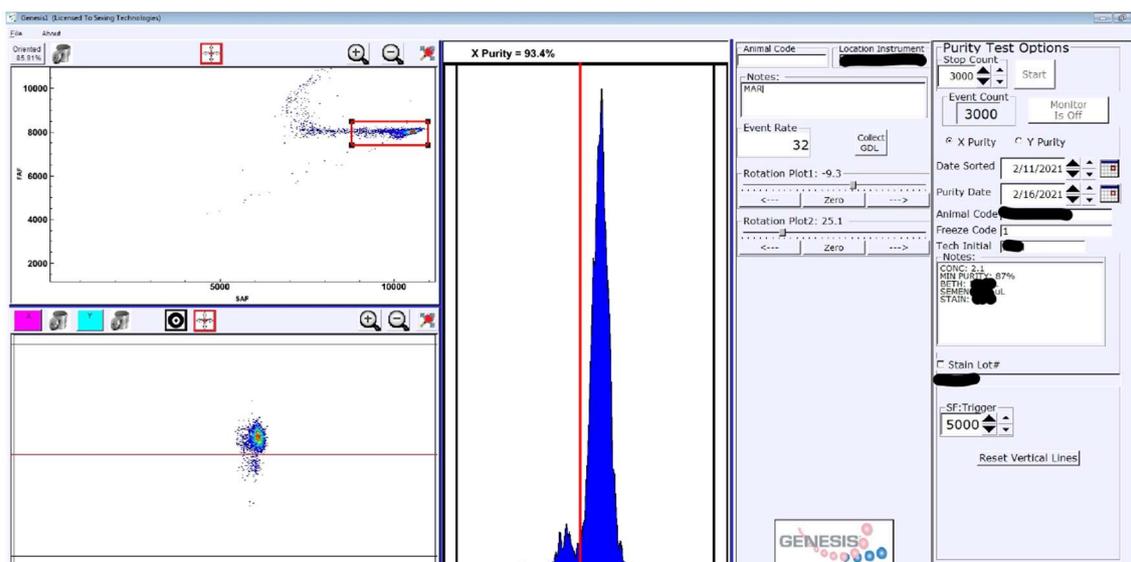


Figura 3. Imagem de análise de pureza após a descongelação mostrando a diferença entre os picos das populações de células X e Y; Pureza de 93,4%. (Fonte: Arquivo Pessoal)

Técnica de sexagem: Genus IntelliGen Technologies® - ABS Global

Em 2017 o grupo Genus plc lançou no mercado uma plataforma tecnológica para a produção de sêmen sexado denominada IntelliGen Technologies® que foi difundida no mercado pela ABS Global com o produto Sexcel® (Lonergan, 2018; Thomas, 2021). Este processo utiliza componentes microfluídicos e ablação celular a laser, para permitir a quantificação precisa de DNA, diferenciação de espermatozoides portadores de cromossomos X e Y, destruição rápida e eficiente de células indesejadas, ao mesmo tempo em que protegem os espermatozoides com o conteúdo cromossômico desejado (Faust et al, 2016).

Os ejaculados que atingem os parâmetros mínimos de qualidade são selecionados para a preparação de amostras coradas para sexagem. Neste processo, adiciona-se um corante fluorescente à amostra, que irá se ligar ao DNA dos espermatozoides. As amostras coradas são inseridas em uma plataforma tecnológica que utiliza a microfluídica para alinhar os espermatozoides em fila única por meio de um chip, orientando a face plana da cabeça de cada espermatozoide para o laser de detecção. Conforme os espermatozoides avançam pelo fluxo laminar, o laser de detecção de feixe contínuo excita o corante e emite fluorescência. Um sensor capta essa fluorescência e envia os dados para um software que processa as informações e cria um histograma para a identificação das populações de células. Um segundo laser, o laser de ablação, é então utilizado para inativar seletivamente os espermatozoides não desejados (Figura 4).



Figura 4. Espermatozoides cortados pelo laser de ablação durante os processos de sexagem pela IntelliGen Technologies® (Fonte: arquivo pessoal)

A fim de evitar etapas de separação durante o processamento, as células cortadas, fragmentos resultantes da ablação e as células vivas são conduzidas para um único tubo e em seguida direcionadas para as demais etapas do processo, tais como refrigeração, diluição, envase e congelação. Essa técnica é considerada mais gentil para as células, sem alta corrente elétrica, alta tensão ou alta pressão aplicada aos espermatozoides (Sharma, 2019).

Com relação a padrões de qualidade, esta tecnologia desafia os parâmetros de motilidade progressiva em porcentagem e total de espermatozoides por dose, comumente utilizados como padrões de qualidade para qualificação de doses a serem comercializadas no mercado, conforme sugerido pelo Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013), e conforme a exigência da Instrução Normativa 35/2007 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). A presença das células cortadas e dos fragmentos de células dificulta as análises para determinação de tais parâmetros, bem como dificultam as análises morfológicas.

A motilidade progressiva pós-descongelamento é analisada sob fluorescência, considerando apenas células vivas, pelo Sistema Computadorizado de Análise Espermática (CASA) Hamilton-Thorne IVOS II. Esse protocolo, otimizado pela IntelliGen Technologies®, permite calcular o número total de células com motilidade progressiva por dose após processo de sexagem. Dados absolutos de espermatozoides com motilidade progressiva superam análises baseadas apenas em porcentagens relativas à quantidade total de células. Isto porque, como não há separação entre células, percentuais relativos à quantidade total de espermatozoides são consideradas análises menos eficazes para a mensuração da qualidade deste produto.

A eficiência do método de sexagem, bem como o padrão de qualidade em número absoluto de células com motilidade progressiva, são validados pelas taxas de concepção obtidas com a utilização deste produto. A ABS Global possui um extenso banco de dados denominado Real World Data® (RWD™) que contém resultados registrados por clientes em todo o mundo, com dados de mais de 37 milhões de animais. Neste banco de dados, utilizando o Sexcel® em novilhas observa-se uma taxa de concepção de 54,4% e 49,5% para as raças Holandesa (n=1,1 M) e Jersey (n=390.000), respectivamente (Figura 5). Já em vacas, as taxas de concepção são de 36,1% para a vacas Holandesas (n=860.000) e 40,4% para Jersey (n=460.000) (Dados não publicados, ABS Global).

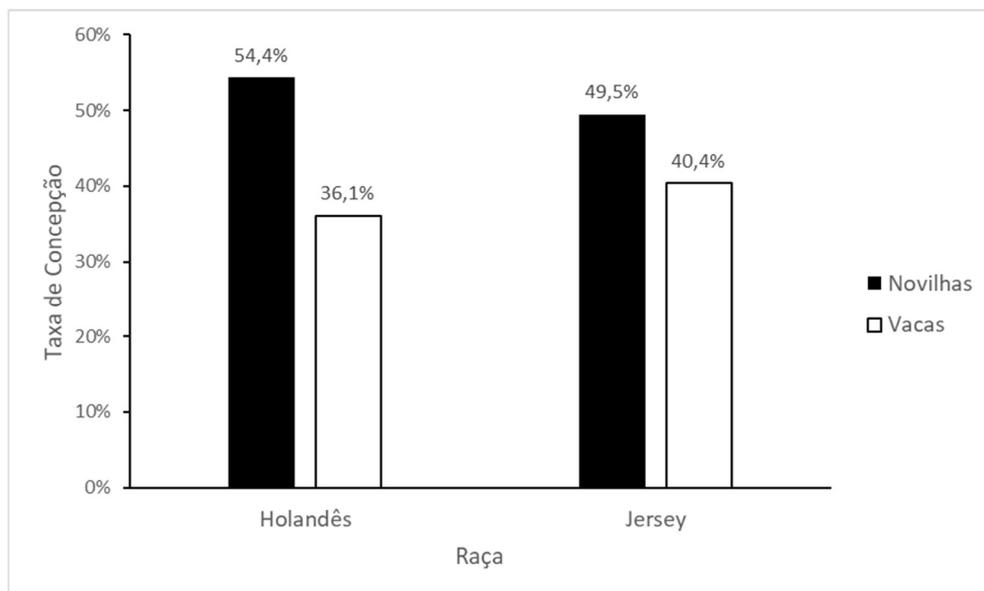


Figura 5. Taxa de concepção média de vacas e novilhas das raças Holandesa e Jersey (Fonte: Real World Data® (RWD™) ABS Global).

No Brasil, a ABS conta com o software denominado SYNC, uma ferramenta para gestão reprodutiva e análise de dados na Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Atualmente, mais de 12 mil inseminações artificiais foram realizadas utilizando Sexcel®, com resultado médio de concepção de 46% considerando várias categorias animais (Figura 6).

Outra análise conduzida pela ABS Brasil com mais de 90.000 embriões produzidos *in vitro* de diferentes raças, demonstrou resultados satisfatórios na taxa de conversão de embriões ao utilizar sêmen ABS Sexcel® ou convencional ABS (Figura 7).

Em estudo realizado na Índia, Sharma et al. (2019), avaliaram a utilização do Sexcel® em 3.034 inseminações, sendo 2.589 inseminações em vacas leiteiras e 445 em búfalas de sete raças distintas, e obtiveram taxas médias de concepção de 49,1% para vacas, variando de 45,1 a 55,3%, e 42,7% para búfalas.

Perry et al. (2019) realizaram avaliação das taxas de concepção utilizando Sexcel® na Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em vacas e novilhas de corte, e obtiveram taxas de concepção geral de

52,4% (n=446) e a melhor taxa de concepção, 65,1% (n=271), foi obtida no grupo em que houve expressão do estro.

Os resultados acima citados evidenciam taxas de concepção satisfatórias indicando que a presença de células cortadas e fragmentos de células não tem efeito negativo para a fertilidade. Isso também foi confirmado por Faust et al. (2016) em que avaliaram as taxas de concepção utilizando doses com cerca de 1,1 a 1,7 milhões de células com motilidade progressiva pós descongelamento, contendo de 69 a 79% de células cortadas, e não observaram impacto nas taxas de concepção em comparação ao grupo controle.

Segundo Akthar et al. (2022), os espermatozoides bovinos interagem com o útero para induzir as respostas imunológicas inatas que são necessárias para eliminação do excesso de espermatozoides, incluindo os mortos e anormais, facilitando assim a implantação embrionária. Os autores sugerem que a ativação do complexo TLR2 (receptores Toll-like) desempenha um papel crucial nesse processo, mas os mecanismos moleculares exatos ainda não foram totalmente compreendidos e ainda há muito a ser aprendido sobre como essa resposta apoia os papéis do útero no processo reprodutivo.

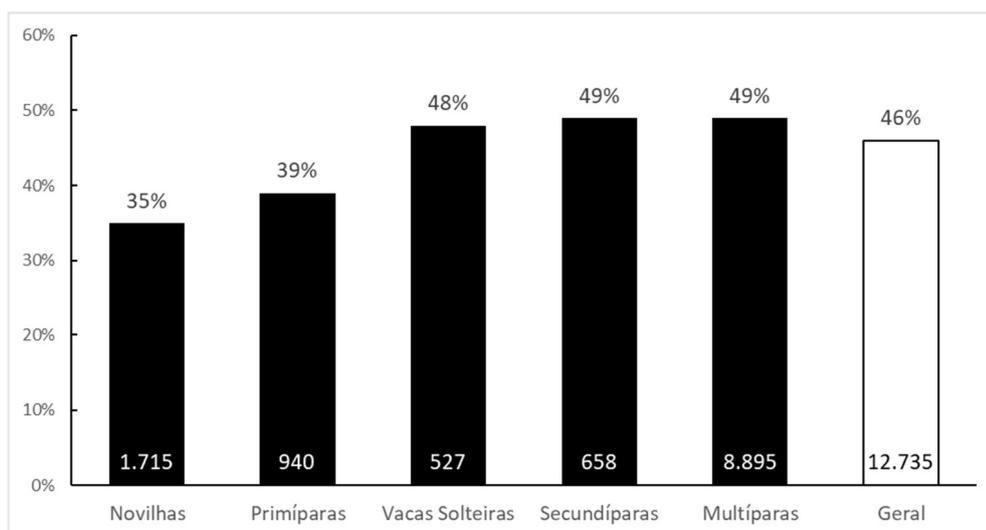


Figura 6. Taxa de concepção média do Sexcel® em várias categorias de fêmeas de corte (Fonte: SYNC, ABS Brasil).

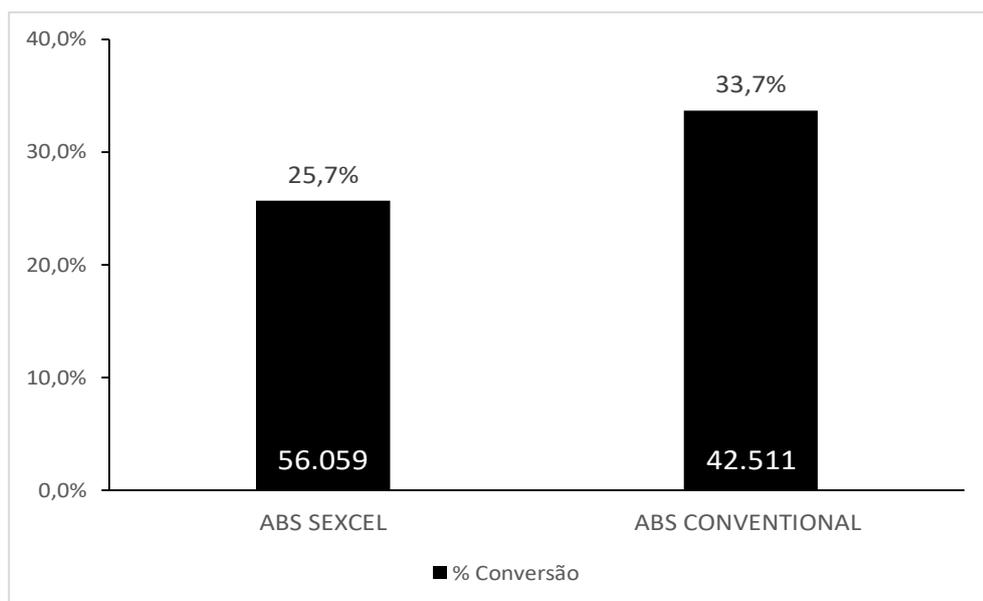


Figura 7. Taxa de produção de embriões *in vitro* utilizando sêmen sexado ABS SEXCEL e sêmen ABS convencional (Fonte: ABS Brasil).

Resultados de taxas de concepção satisfatórias com a utilização de um produto que possui, em sua dose inseminante, a maior parte de células mortas, nos leva a uma reflexão com relação a população de espermatozoides que comumente utilizamos no envase de uma dose de sêmen e idealizada como capaz de atingir resultados adequados de concepção.

Nesse contexto de reflexão, ao se tratar de qualidade da dose inseminante e com a introdução de novas tecnologias no mercado, é essencial revisar os padrões de qualidade considerados ideais, investigar métodos inovadores de análise, e avaliar a possibilidade de incorporá-los na produção e na mensuração da qualidade do produto. Assim como a motilidade progressiva é reconhecida como parâmetro de qualidade utilizando análise computadorizada, a avaliação morfológica também poderia se beneficiar de métodos computadorizados. Embora existam limitações, essa metodologia poderia ser uma ferramenta alternativa capaz de eliminar células defeituosas e estáticas da análise, concentrando-se apenas nos defeitos das células móveis. Neste cenário, a avaliação priorizaria a quantidade e qualidade das células vivas necessárias para a concepção, em vez de focar na quantidade e defeitos e/ou de células mortas. Além disso, outro método complementar que pode fornecer dados valiosos, embora ainda subutilizado na produção, é a avaliação da integridade da membrana celular por meio de sondas fluorescentes.

Com relação a pureza da sexagem, a IntelliGen utiliza a PCR digital em gotas (ddPCR) para analisar cada partida. Esta análise é automatizada e minimiza a subjetividade, assegurando resultados consistentes e confiáveis. Esse método de ddPCR utiliza uma contagem de cópias para quantificar a pureza do sexo (proporção de cromossomos X ou Y). O ensaio quantifica o número de cópias dos cromossomos X e Y junto ao gene autossômico GAPDH, usado como controle interno do ensaio para confirmar o total de cópias de amplificação. Essa análise por ddPCR tem uma variação de 0,5 pontos percentuais para % X ou % Y com uma ampla faixa de detecção linear, de 10% a 95% X, fornecendo resultados reproduzíveis em uma faixa de 9 a 27 ng de DNA genômico. Esta abordagem supera algumas limitações de outros ensaios de pureza, quantificando os números absolutos de cópias dos cromossomos X e Y, fornecendo assim uma avaliação rigorosa e independente do processo de sexagem (Cray et al., 2020).

Esse ensaio preciso e sensível de pureza com uma ampla faixa dinâmica e reprodutibilidade robusta oferece confiança do produto aos clientes. Sharma et al. (2019), observaram uma elevada proporção de nascimentos de fêmeas utilizando o Sexcel® em vacas e búfalas, com percentuais variando de 88,44% a 92,09% entre as diferentes raças. Lauber et al. (2020) realizaram sexagem fetal após a confirmação de gestação com inseminação artificial em tempo fixo utilizando Sexcel® em vacas primíparas holandesas e obtiveram pureza variando de 90 a 92% de fetos fêmea.

Além disso, mesmo que aprovadas nos parâmetros de motilidade pós -descongelamento e na análise de pureza da sexagem, todas as partidas são submetidas a testes bacteriológicos por meio da contagem de UFC's assegurando ainda mais a qualidade do produto Sexcel®.

Os resultados de concepção e de pureza obtidos por meio dessa tecnologia têm favorecido criadores ao redor de todo mundo para aumentar a quantidade de fêmeas de e a lucratividade de seus rebanhos, permitindo uma reposição com animais de elevado mérito genético.

Considerações

O uso do sêmen sexado proporcionou avanços significativos tanto em termos de eficiência produtiva quanto de sustentabilidade ambiental, contribuindo assim para uma pecuária cada vez mais moderna. Essa biotecnologia não só acelera o melhoramento genético dos rebanhos, permitindo uma seleção mais precisa de características desejáveis, mas também contribui para uma produção mais alinhada às demandas de mercado e práticas agropecuárias responsáveis.

A capacidade de aumentar a proporção de fêmeas em rebanhos leiteiros, por exemplo, maximiza a produção de leite. Além disso, nessas propriedades, o direcionamento da utilização do sêmen sexado para as fêmeas de maior valor genético permite o uso de sêmen convencional de corte nas demais fêmeas, minimizando os impactos negativos do nascimento de bezeros machos de baixo valor nas fazendas. Na pecuária de corte, uma estratégia similar também pode ser implementada visando produzir as futuras gerações de matrizes provenientes das fêmeas de maior valor genético e que produzirão bezeros mais pesados, enquanto a produção de machos pode ser direcionada para as demais fêmeas do rebanho, maximizando a produção de quilogramas de bezerro para atender às necessidades de produção de carne e elevando o mérito genético do rebanho de matrizes, melhorando assim a lucratividade das operações. A utilização dessa tecnologia tem se tornado mais comumente utilizada pelos produtores pois os avanços obtidos ao longo dos anos reduziram significativamente a disparidade anterior observada na taxa de concepção com o uso de sêmen sexado, alcançando, portanto, resultados muito próximos aos obtidos por meio do uso de sêmen convencional.

As tecnologias de sexagem, como a citometria de fluxo e a ablação a laser, com os avanços na precisão e eficiência, mostram-se promissoras para continuar evoluindo e oferecer ainda melhores resultados. A aplicação dessas biotecnologias tem nos ajudado a melhor compreender os aspectos morfológicos e funcionais da qualidade do sêmen, bem como sua correlação com a fertilidade e a obtenção de melhores taxas de concepção. A presença de células incapacitadas e seus fragmentos resultantes do processo de sexagem, por exemplo, dificulta a avaliação morfológica tradicional e a análise de parâmetros de motilidade progressiva em porcentagem. Por isso, é fundamental não apenas incorporar métodos mais avançados de análise, mas também revisar regularmente os padrões de qualidade em vigor e as normas para adequá-las aos avanços tecnológicos.

Adicionalmente, novas tecnologias têm sido investigadas para a seleção de sexo, como a utilização de nanopartículas associadas à imunologia e edição gênica. No entanto, essas são tecnologias experimentais que ainda necessitam de aprimoramento e autorizações legais para se tornarem aplicáveis em larga escala comercial. Por essa razão, discussões sobre novas tecnologias, parâmetros, padrões e qualidade espermática serão sempre relevantes e necessárias de modo a permitir que as inovações alcancem maior competitividade e viabilidade comercial em prol de uma pecuária mais moderna, e alinhada com as demandas globais de eficiência e segurança alimentar.

Portanto, é fundamental que a indústria continue investindo em pesquisa e desenvolvimento, e colaborando com entidades acadêmicas e órgãos reguladores para aprimorar ainda mais o uso de sêmen sexado, contribuindo para um futuro de uma pecuária global cada vez mais sustentável.

Referências

- Akthar I, Marey MA, Kim Y, Shimada M, Suarez SS, Miyamoto A.** Sperm interaction with the uterine innate immune system: toll-like receptor 2 (TLR2) is a main sensor in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, v.34, n.1-2, p.139-148, 2022.
- Baker RL, Shannon P, Garrick DJ, Blair HT, Wickham BW.** The future impact of new opportunities in reproductive physiology and molecular biology on genetic improvement programmes. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, v.50, p.197-210, 1990.
- Berry DP.** Invited review: Beef-on-dairy—The generation of crossbred beef × dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.104, n.4, p.3789-3819, 2021.
- Brito L, Vishwanath R, Heuer C, Evans KB.** Bovine sexed semen production and utilization. *Clinical Theriogenology*, v.11, n.3, p.297-310, Sep. 2019. Navasota, Texas: STgenetics.
- Cray N, Wagner M, Hauer J, Roti Roti E.** Technical note: Droplet digital PCR precisely and accurately quantifies sex skew in bovine semen. *Journal of Dairy Science*, v.103, p.6698-6705, 2020.
- Faust MA, Betthausen J, Storch A, Crego SC.** Effects for fertility of processing steps of a new technology platform for producing sexed sperm. *Journal of Animal Science*, v.94, suppl.5, p.544, 2016.
- Garner DL, Seidel Jr GE.** History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, v.69, n.7, p.886-895, 2008.
- Gilligan T.** New advances in high-productivity and high-efficiency sperm sorting. In: *Proceedings of the Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction*, 2014. p.57-61.
- Hinde K, Carpenter A J, Clay JS, Bradford BJ.** Holsteins Favor Heifers, Not Bulls: Biased Milk Production Programmed during Pregnancy as a Function of Fetal Sex. *PLOS ONE*, v. 9, n. 2, e86169, fev. 2014.
- Holden SA, Butler ST.** Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. *Animal*, v.12, n.S1, p.s97-s103, Apr. 2018.
- Johnson LA, Flook JP, hawk HW.** Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting. *Biology of reproduction*, v.41, n.2, p.199-203, 1989.
- Johnson LA, Welch GR.** Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*, v.52, n.8, p.1323-1341, 1999. DOI: 10.1016/s0093-691x(99)00224-1.
- Kumar S, Magotra A, Kumar M, Dalal DS, Kumari S.** Semen sexing and its impact on fertility and genetic gain in cattle. Cambridge: *Cambridge University Press*, 2024.
- Lauber MR, McMullen B, Parrish JJ, Fricke PM.** Effect of timing of induction of ovulation relative to timed artificial insemination using sexed semen on pregnancy outcomes in primiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.103, p.10856-10861, 2020.
- Loneragan P.** Review: Historical and futuristic developments in bovine semen technology. *Animal*, v.12, n.S1, p.s4-s18, Apr. 2018.
- Pahmeyer C, Britz W.** Economic opportunities of using crossbreeding and sexing in Holstein dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.103, n.9, p.8218-8230, 2020.

- Perry GA, Walker JA, Rich JJJ, Northrop EJ, Perkins SD, Beck EE, Sandbulte MD.** Influence of Sexcel™ (gender ablation technology) gender-ablated semen in fixed-time artificial insemination of beef cows and heifers. *Theriogenology*, v.142, p.256-261, 2020.
- Ruelle E, Shalloo L, Butler ST.** Economic impact of different strategies to use sex-sorted sperm for reproductive management in seasonal-calving, pasture-based dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.104, n.11, p.11747-11758, 2021.
- Schenk JL, Suh TK, Cran DG, Seidel Jr GE.** Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa. *Theriogenology*, v.52, n.8, p.1375-1391, 1999.
- Seidel Jr GE, Schenk JL, Herickhoff LA, Doyle SP, Brink Z, Green RD, Cran DG.** Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, v.52, n.8, p.1407-1420, 1999.
- Sharma T, Gupta R, Gautam A, Giram P, Madan J.** Effectiveness and Performance of “Sexcel” - ABS Sexed Semen, in Dairy Heifers, Cows and Buffaloes in Field Conditions in Different Agro-Climatic Zones of India. *Journal of Animal Research*, v.9, n.4, p.1-6, Aug. 2019.
- Thomas J.** Sexed Semen for Artificial Insemination: Recommendations and AI Approaches. *University of Missouri Division of Animal Sciences*, p.1-4, 2021.
- Van Vleck LD, Everett RW, Dale L.** Genetic Value of Sexed Semen to Produce Dairy Heifers. *Journal of Dairy Science*, v.59, n.10, p.1802-1807, Jul. 1975.
- Vishwanath R, Moreno JF.** Semen sexing—current state of the art with emphasis on bovine species. *Animal*, v.12, n.s1, p.s85-s96, 2018.
- Wellmann R, Rolfes A, Rensing S, Bennewitz J.** Economic benefits of herd genotyping and using sexed semen for pure and beef-on-dairy breeding in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.107, p.2983-2998, 2024.
-