

**CENTRO PAULA SOUZA**  
**Etec Prof. Carmelino Corrêa Júnior**  
**Ensino Médio com Habilitação Profissional**  
**de Técnico em Biotecnologia**

**Nathalia Gaspar de Pádua**

**SEXAGEM DE SÊMEN NA REPRODUÇÃO ANIMAL: Uma  
abordagem biotecnológica para a seleção de gênero**

**FRANCA**

**2025**

**Nathalia Gaspar de Pádua**

**SEXAGEM DE SÊMEN NA REPRODUÇÃO ANIMAL: Uma  
abordagem biotecnológica para a seleção de gênero**

Trabalho de Conclusão de curso, apresentado ao Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio da Etec Prof. Carmelino Corrêa Júnior, orientado pelo Profa. Joana D'arc Félix Souza, como requisito parcial para obtenção do título de Técnico em Biotecnologia.

**FRANCA**

**2025**

Aos que acreditam que o conhecimento transforma, liberta, reconstrói o mundo. Aos que, como Paulo Freire, sabem que “quando a educação não é libertadora, o sonho do oprimido é ser o opressor”.

Agradeço profundamente a todos os professores, amigos e familiares que me acompanharam e apoiaram ao longo desta jornada. Em especial, expresso minha gratidão à professora e coordenadora Carol, cuja contribuição foi essencial para a realização deste trabalho. Sua generosidade ao compartilhar materiais de sua tese e seus ensinamentos tornaram todo o processo mais leve e enriquecedor. A todos vocês, o meu sincero muito obrigada.

“Todos os dias quando acordo  
Não tenho mais o tempo que  
passou  
Mas tenho muito tempo  
Temos todo o tema do mundo  
[...]  
Nem foi tempo perdido  
Somos tão jovens”.

LEGIÃO URBANA

## RESUMO

**DE PÁDUA, Nathalia Gaspar. SEXAGEM DE SÊMEN NA REPRODUÇÃO ANIMAL: Uma abordagem biotecnológica para a seleção de gênero.** Trabalho de Conclusão de Curso Apresentado para Obtenção do Título de Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio. ETEC Prof. Carmelino Corrêa Júnior, Franca/SP, 2025.

A sexagem de sêmen é uma das biotecnologias reprodutivas mais avançadas utilizadas na pecuária da contemporaneidade, possibilitando a escolha do sexo da descendência antes mesmo do nascimento e desempenhando um papel crucial na melhoria genética, na eficiência produtiva e na sustentabilidade dos sistemas de criação animal. Este trabalho visa examinar os princípios biológicos, técnicos, éticos e econômicos relacionados ao uso de sêmen sexado, ressaltando sua relevância na criação de bovinos, tanto para leite quanto para corte. A técnica, que se baseia em sua grande maioria, na citometria de fluxo, permite a separação e a seleção dos espermatozoides contendo os cromossomos X e Y com uma precisão que pode ultrapassar 90%, adaptando a produção às necessidades zootécnicas. Apesar de enfrentar obstáculos, como custos elevados e taxas de fertilidade que ficam próximas das observadas com sêmen convencional, pesquisas recentes demonstram que o método é viável quando combinado com boas práticas de manejo e algumas outras biotecnologias reprodutivas, como a fertilização in vitro e a transferência de embriões. Com isso então, a sexagem de sêmen firma-se como uma ferramenta fundamental para a pecuária sustentável, impulsionando e permitindo progressos científicos, econômicos e éticos na reprodução animal.

**Palavras-chave:** reprodução animal; biotecnologia reprodutiva; bovinocultura de leite; sexagem de sêmen; bem-estar animal.

## ABSTRACT

**DE PÁDUA, Nathalia Gaspar. SEMEN SEXING IN ANIMAL REPRODUCTION: A biotechnological approach to gender selection** Course Conclusion Paper Presented for Obtaining the Title of Technician in Biotechnology Integrated in High School. ETEC Prof. Carmelino Correa Junior, Franca/SP, 2025.

Semen sexing is one of the most advanced reproductive biotechnologies used in contemporary livestock farming, enabling the choice of offspring sex even before birth and playing a crucial role in genetic improvement, production efficiency, and the sustainability of animal breeding systems. This study aims to examine the biological, technical, ethical, and economic principles related to the use of sexed semen, highlighting its relevance in cattle breeding, both for milk and beef production. The technique, which is based largely on flow cytometry, allows the separation and selection of sperm containing X and Y chromosomes with an accuracy that can exceed 90%, adapting production to zootechnical needs. Despite facing obstacles such as high costs and fertility rates that are close to those observed with conventional semen, recent research shows that the method is viable when combined with good management practices and some other reproductive biotechnologies, such as in vitro fertilization and embryo transfer. As a result, semen sexing has established itself as a fundamental tool for sustainable livestock farming, driving and enabling scientific, economic, and ethical progress in animal reproduction.

**Keywords:** animal reproduction; reproductive biotechnology; dairy farming; semen sexing; animal welfare.

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	09
1.1	Justificativas.....	06
1.2	Objetivos .....	08
2	Desenvolvimento.....	12
2.1	Referencial Teórico .....	12
2.1.1	Biotecnologias reprodutivas .....	12
2.1.2	Aspectos biológicos da Sexagem de Sêmen.....	12
2.1.3	Histórico da sexagem de sêmen .....	12
2.1.4	Determinação genética do sexo e aspectos reprodutivos.....	12
2.1.5	Técnicas de Sexagem de Sêmen.....	12
2.1.6	Aplicações da Sexagem na Reprodução Animal.....	12
2.1.7	Vantagens e limitações das Técnicas .....	12
2.1.8	Aspectos Econômicos e Éticos da Sexagem.....	12
2.1.9	Estudo de caso, Pesquisas recentes e Resultados Científicos .....	12
2.1.10	Perspectivas futuras para produção animal sustentável e precisa .....	12
3	Conclusão.....	19
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Justificativas

Bórem (2005, p. 12) define biotecnologia como um campo multidisciplinar que investiga e utiliza conhecimentos de várias disciplinas biológicas. Por meio de sua aplicabilidade, a biotecnologia permite avanços em diversos setores, incluindo os farmacêuticos, industrial, ambiental e, especialmente, o agropecuário, com foco atual nas áreas de reprodução, atuando assim como biotecnologia de reprodução. A biotecnologia pode ser definida como "qualquer aplicação tecnológica que utilize sistemas biológicos, organismos vivos ou seus derivados para criar ou modificar produtos e processos para usos específicos", segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). Nas últimas décadas, os avanços biotecnológicos revolucionaram diversos âmbitos, proporcionando o desenvolvimento de técnicas como a clonagem, a transgenia e a edição genômica, trazendo como resultado o papel fundamental no aumento da produtividade e sustentabilidade dos sistemas agropecuários de produção animal.

No contexto da junção entre pecuária e biotecnologia, observa-se diversos meios de atuação, sendo um deles a reprodução animal, ao oferecer ferramentas que otimizam e potencializam o melhoramento genético é permitido uma seleção mais precisa e eficiente dos reprodutores. Técnicas como a Inseminação Artificial (IA), a Fertilização in Vitro (FIV), a Transferência de Embriões (TE), clonagens e, mais recentemente a sexagem de sêmen são exemplos reais e já aplicado da interação entre esses dois setores (MALAJOVICH, M. A, 2011).

A sexagem de sêmen, em especial, representa uma das maiores inovações ao que se refere biotecnologias reprodutivas ao possibilitar a seleção prévia do sexo da progênie, isto é, a linhagem futura ou progenitores, impactando diretamente a eficiência produtiva, econômica e social da cadeia produtiva animal (HOSSEPIAN DE LIMA, 2007). Na pecuária leiteira observa-se uma alta demanda por fêmeas, as quais irão produzir leite, enquanto na pecuária de corte há, em muitos casos, preferência pela produção de machos, os quais irão ter maior potencial de ganho de peso e rendimento de carcaça.

Diante do exposto, justifica-se a realização deste trabalho a necessidade de comprovar a biotecnologia enquanto ciência biológica e reprodutora, assim como ferramenta estratégica na promoção da modernização e sustentabilidade da pecuária, destacando-se a sexagem de sêmen como um dos avanços mais significativos no âmbito, a qual viabiliza a maximização da eficiência produtiva, a racionalização de custos e o emprego do progresso genético dos rebanhos, bem como a redução de quaisquer futuros maus-tratos a animais.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo Geral**

Analisar, sob uma perspectiva biotecnológica, a sexagem de sêmen como uma ferramenta aplicada à reprodução animal, enfatizando suas fundamentações científicas, metodológicas e tecnológicas, bem como suas contribuições para a seleção de gênero, a eficiência produtiva, o melhoramento genético a sustentabilidade e a precisão dos sistemas pecuários no Brasil e internacionalmente.

### **1.2.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar e abordar os princípios biológicos e moleculares que fundamentam a sexagem de sêmen, destacando a diferenciação entre os espermatozoides portadores dos cromossomos sexuais X e Y e sua importância na seleção de gênero.
- Aprofundar a reprodução animal como campo multidisciplinar das áreas biológicas, bem como seus benefícios à sustentabilidade, bem-estar animal e ao agronegócio brasileiro.
- Descrever outras possíveis técnicas similares à sexagem de sêmen, mas com outras metodologias ou resultados diferentes.
- Descrever e analisar os principais métodos e técnicas utilizados na sexagem de sêmen, como a citometria, coragem e purificação, bem como avaliar seus índices de eficiência, precisão e limitações para a atualidade.

- Investigar e apontar os benefícios produtivos, econômicos e sociais da aplicação da sexagem de sêmen na pecuária.
- Estudar as limitações técnicas, éticas, sanitárias e econômicas associadas à utilização da sexagem de sêmen, considerando os desafios enfrentados para sua ampla adoção em diferentes sistemas produtivos, desde o seu difícil acesso até a necessidade de certa tecnificação para manuseio.
- Apontar tendências, novas tecnologias e aplicabilidade da biotecnologia reprodutiva no setor agropecuário relacionadas ao desenvolvimento e aplicação da sexagem de sêmen, focando na possível adoção das biotecnologias reprodutivas.
- Apresentar alguns estudos de casos relatando a eficiência da sexagem de sêmen, assim como pesquisas recentes e resultados científicas.
- Abordar as perspectivas futuras para a produção animal visando, principalmente, ser sustentável, precisa e tecnificada.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Referencial Teórico**

A biotecnologia tem se estendido para diversas áreas, sendo uma delas a biotecnologia reprodutiva, a qual vem desempenhando um papel fundamental na inovação do setor agropecuário moderno, oferecendo soluções inovadoras, alinhando produtividade, sustentabilidade e bem-estar animal. Dentre as atuais biotecnologias reprodutivas aplicadas à produção animal, a sexagem de sêmen é a que mais vem se destacando, por permitir o controle prévio do sexo da progênie, tornando-se uma ferramenta altamente eficaz e viável para melhoramento genético e a eficiência produtiva (LIMA, 2007; HAFEZ, 2016). Essa técnica baseia-se, principalmente, em conceitos biológicos e moleculares, os quais distinguem espermatozoides portadores dos cromossomos X e Y, possibilitando o produtor a ter uma possibilidade de determinação do sexo antes mesmo da IA (inseminação artificial).

O conceito básico da sexagem de sêmen está diretamente ligado à diferença de conteúdo do DNA (ácido deossoribonucleico) entre os espermatozoides

masculinos (Y) e femininos (X). Em bovinos, por exemplo, os espermatozoides X possuem aproximadamente 3,8% a 4% de mais DNA que os Y, possibilitando então a separação por meios físico-químicos (CARVALHO et al., 2009; GARNER, 2009). Essa diferenciação pode ser explorada principalmente pela técnica de citometria de fluxo, a qual utiliza corantes fluorescentes, como o Hoechst 33342, que possibilita a quantificação do DNA e a classificação das células a partir da fluorescência emitidas após serem expostas ao laser. Assim, cada espermatozoide é identificado de acordo com o cromossomo que carrega e, em seguida, separados de formas distintas através de meios eletrônicos, para então serem destinados a coletores diferentes (RATH E JHONSON, 2008; SEIDEL JR., 2006). Todo esse processo pode atingir níveis de pureza de até 90%, o que confere certa confiabilidade.

Apesar de altamente precisa, toda a técnica de citometria de fluxo exige equipamentos altamente qualificados, além de uma mão de obra especializada e condições dentro do laboratório controlada, o que conseqüentemente eleva os custos operacionais e pode restringir sua adoção para pequenos e médios produtores, uma vez que recursos como o conhecimento, ou o próprio poder aquisitivo são fatores limitantes (CARVALHO et al., 2018). Ainda assim, os benefícios biológicos, econômicos e éticos da sexagem de sêmen são cada vez mais evidenciados. Em sistemas leiteiros, por exemplo, a adoção da sexagem para gerar fêmeas reduz significativamente o número de nascimento de machos, aqueles que possuem baixo valor econômico, melhorando então o potencial produtivo e o aproveitamento genético das matrizes, acelerando o progresso reprodutivo do rebanho (CABRAL et al., 2023). Já na pecuária de corte, a escolha do sêmen portador do cromossomo Y irá favorecer o nascimento de bezerras, conseqüentemente, um maior potencial de ganho de peso e rendimento da carcaça, promovendo maior rentabilidade (RUVUNA et al., 1992; LIMA, 2007).

Diversos estudos confirmam que, apesar da redução na taxa de fertilidade quando comparado ao sêmen convencional (SCOTT, 2017), o uso do sêmen sexado ainda apresenta resultados altamente satisfatórios, quando aliado a outras biotécnicas e um manejo intensivo e adequado. Pesquisas conduzidas dentro e fora do Brasil demonstraram que, sob boas práticas de manejo, as taxas de concepção podem alcançar de 80 a 90% daquelas usualmente obtidas somente com o sêmen convencional, evidenciando sua viabilidade prática (CREPALDI et al., 2022;

HUSSAINI et al., 2024). Esses números têm sido atribuídos a integração de outras técnicas, como por exemplo a de criopreservação e ao desenvolvimento de novos protocolos mais eficientes de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (CREPALDI, 2023).

Para além da citometria de fluxo (CF), algumas outras técnicas também vêm sendo estudadas como alternativa para reduzir os custos e danos celulares causados aos espermatozoides, como a desnaturação ou a morte (SCOTT, 2017), técnicas como por exemplo a centrifugação em gradiente de densidade e a imunosexagem. A primeira baseia-se a diferença entre as densidades dos espermatozoides X e Y, enquanto a segunda utiliza anticorpos específicos para identificar antígenos presentes na superfície celular de cada espermatozoide.

No entanto, mesmo que a CF não seja totalmente precisa, quando comparada a não-sexagem, essas duas técnicas citadas agora, ainda são menos eficientes do que a citometria de fluxo, sendo consideradas ainda em fase de testes ou apenas como técnicas complementares (DOMÍNGUEZ, 2018; PHIPHATTANANPHIPHOP, 2022; SCOTT, 2017). Avanços recentes ainda envolvem a descoberta e uso de novas tecnologias para a identificação de espermatozoides, como o uso de nanotecnologias e biossensores, que permitem a diferenciação do material genético a partir de características biofísicas e moleculares, apontando novas possibilidades para o setor (SHARMA, 2022; PANAZOLLO et al., 2024).

A sexagem de sêmen representa um investimento que deve ser avaliado e analisado estrategicamente, considerando o valor, o potencial genético, a produtividade e a rentabilidade, especialmente em rebanhos leiteiros, onde permite a geração de fêmeas superiores e o uso mais eficiente dos recursos (EMBRAPA, 2015; VIANA 2022). Além dos ganhos econômicos, a implementação da técnica permite e favorece a sustentabilidade ao reduzir desperdícios e impactos ambientais, No entanto, seu uso requer responsabilidade ética e o manejo adequado, garantindo o bem-estar animal e a diversidade genética (SÁ FILHO et al., 2013; SHARMA et al., 2019).

Em síntese, o referencial teórico ressalta que a sexagem de sêmen é uma biotecnologia que ainda possui alto impacto e potencial científico e econômico, com ênfase central na reprodução animal. Seus fundamentos biológicos e tecnológicos permitem a aplicação prática em larga escala, principalmente se combinada a outras

técnicas com a fertilização in vitro (FIV), produção in vitro de embriões (PIVE) e a transferência de embriões (TE) (GONÇALVES E VISINTIN, 2002). Ainda que enfrente limitações técnicas e financeiras, seu constante aperfeiçoamento evidencia seu potencial promissor para os setores produtivos e para a pecuária sustentável, reafirmando o papel da biotecnologia como alicerce de inovação e sustentabilidade (CABRAL et al., 2023).

### **2.1.1 Biotecnologias reprodutivas**

A reprodução animal é uma das áreas identificadas com maior importância para a rentabilidade e sustentabilidade dos sistemas produtivos, não somente do agronegócio brasileiro, mas sim no contexto mundial. Apesar da ampla gama de atuais tecnologias presentes no mercado, ainda é possível encontrar gargalos dentro desses sistemas produtivos, ainda que com a disseminação, popularização e maior acesso às técnicas de reprodução assistida (TRA), como as citadas anteriormente, a eficiência reprodutiva das espécies e gêneros de interesse ainda soam alarmantes se analisados sob uma óptica econômica, sustentável e, assim como se mostra um dos objetivos do presente trabalho, bem-estar animal.

As biotecnologias reprodutivas surgem e começam a substituir as técnicas convencionais (que embora as vezes possam ser mais eficazes, como por exemplo a monta natural se comparada com a sexagem de sêmen, nem sempre visam os critérios de avaliação citados anteriormente). Essas novas técnicas, utilizadas tanto em machos quanto em fêmeas, transformaram e permitiram a investigação e a manipulação do processo reprodutivo in vitro e in vivo em várias espécies de gado com a finalidade de melhorar sua eficácia (HAFEZ, 2006). Para além disso, tais tecnologias como essas são cruciais, não somente para a carne e o leite, como citado anteriormente, mas também para tração (isto é, aqueles que ainda realizam tarefas de trabalhos manuais, como para a agricultura e transporte de cargas) e para os animais de reposição (como leitoas ou novilhas, que são animais jovens e futuramente irão substituir animais mais velhos quando perderem seus níveis de produtividade ou virem a falecer).

Uma das técnicas mais conhecidas e amplamente empregadas é a inseminação artificial (IA), que envolve a introdução do sêmen de um macho no

aparelho reprodutor da fêmea, sem que ocorra contato físico entre os animais. Essa técnica possibilita a utilização de sêmen de touros geneticamente superiores em diversas fêmeas simultaneamente, diminuindo custos e propagando características genéticas vantajosas (VIANA, 2022). A fertilização in vitro (FIV) é outra técnica relevante, na qual a fecundação acontece em ambiente laboratorial, e os embriões criados são posteriormente transferidos para fêmeas receptoras. A FIV é particularmente eficaz em fêmeas de alto valor genético que têm problemas para engravidar de forma natural (SAEKI E IRITANI, 2004).

Por meio da transferência de embriões (TE), é possível que uma fêmea tenha vários descendentes anualmente, mesmo sem precisar carregar todas as gestações, o que amplia sua contribuição genética. Apesar de não ser a mais recente, a clonagem de animais é uma das técnicas mais avançadas, ela consiste na criação de um ser geneticamente idêntico a outro. Embora ainda enfrente desafios técnicos e éticos, a clonagem já foi realizada com êxito em várias espécies e pode ser empregada para conservar linhagens genéticas raras, valiosas ou até mesmo já extintas. O nascimento da ovelha Dolly, em 1996, representou um marco nesse campo, destacando tanto o potencial quanto as controvérsias da técnica (HAFEZ, 2016).

Para além dessas, destaca-se a sexagem de sêmen, onde o sêmen é coletado do touro e então preservado, para então ser marcado através de corantes, fluorescentes baseando-se na teoria que os espermatozoides com cromossomo X (que originam as fêmeas) por portarem cerca de 4% a mais de DNA (SHARMA, 2022), para então serem separados e classificados.

### **2.1.2 Aspectos biológicos da Sexagem de Sêmen**

A sexagem de sêmen animal é uma biotecnologia reprodutiva que tem como objetivo distinguir espermatozoides com o cromossomo sexual X dos que têm o cromossomo Y, possibilitando assim a previsão do sexo dos descendentes. O princípio biológico fundamental dessa técnica se apoia na variação do conteúdo de DNA entre os espermatozoides X e Y. No caso dos bovinos, estima-se que os espermatozoides X tenham aproximadamente 4% mais DNA do que os Y,

permitindo assim uma diferenciação quantitativa (CARVALHO E SARTORI et al, 2009), esse número pode variar.

Por exemplo, de acordo com Steinhauser e Graham, autores do artigo *Removing seminal plasma improves bovine sperm sex-sorting* (A remoção do plasma seminal melhora a classificação sexual do espermatozoide bovino, em português), em Holstein (a Holandesa no Brasil, a qual aptidão é leite) é de aproximadamente 3,98%, enquanto a raça Jersey (também aptidão leiteira) é de cerca de 4,24%. Essa diferença também pode ser vista no volume da cabeça espermática, que é ligeiramente maior nos espermatozoides do tipo X. Contudo, as diferenças na motilidade (a capacidade ou facilidade de movimento) ou nos antígenos de superfície ainda são objeto de discussão e não são suficientes para permitir a separação apenas por métodos físicos simples.

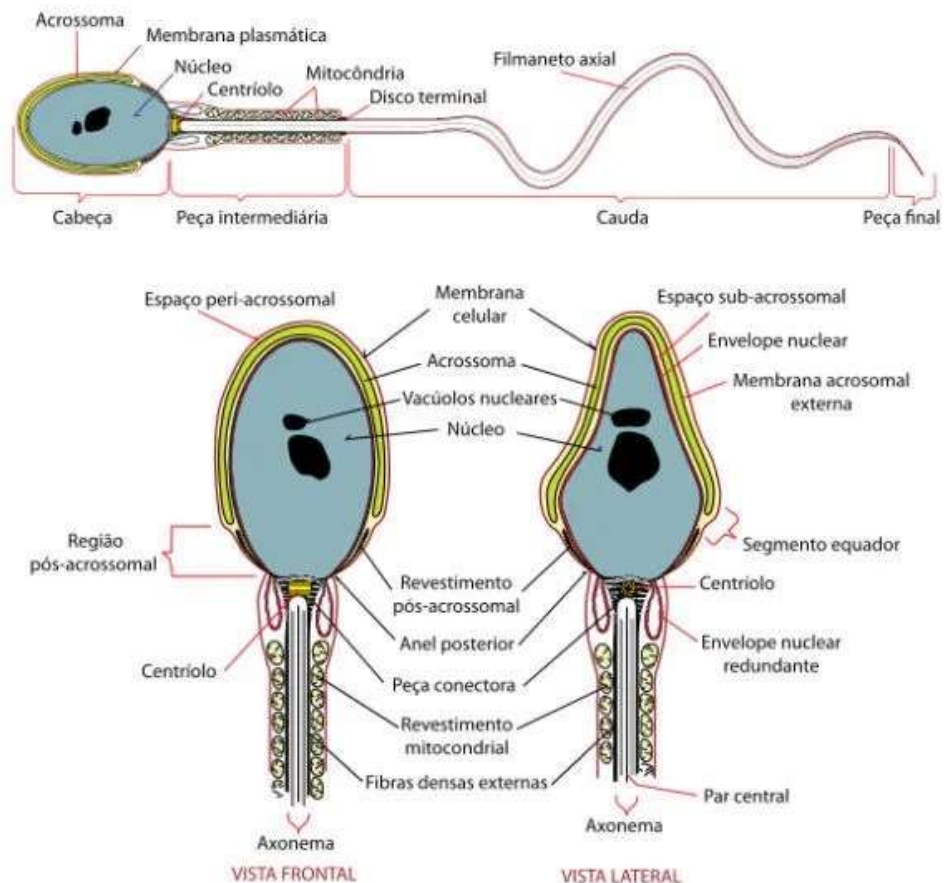
Os antígenos de superfície citados anteriormente são proteínas encontradas nos espermatozoides, mais especificamente na membrana plasmática assim como mostra na Figura 1, e eles podem funcionar como marcadores que podem ser identificados por anticorpos e outras células, eles contribuem em processos como:

- i) Reconhecimento no trato reprodutivo feminino: o espermatozoide, ao entrar no trato reprodutor feminino, precisa sobreviver e para não ser destruído por outras células que não o possa identificar, assim os antígenos participam da modulação do sistema imune.
- ii) Capacitação espermática: é o processo pelo qual o espermatozoide passa por reações bioquímicas para poder fecundar o óvulo, durante essa etapa há alterações na membrana plasmática, como mostra na Figura 2, que fará com que alguns antígenos sejam ativados, preparando então o espermatozoide para entrar na zona pelúcida do óvulo, que é uma camada glicoproteica que envolve o óvulo.
- iii) Reconhecimento e ligação à zona pelúcida: alguns antígenos da membrana plasmática se ligam à zona pelúcida, fazendo com que somente os espermatozoides compatíveis consigam adentrar.

Na sexagem, pesquisadores investigam se também há um diferencial significativo em relação a quantificação de antígenos se comparados os cromossomos X e Y, ou então se há antígenos específicos para algum deles e que,

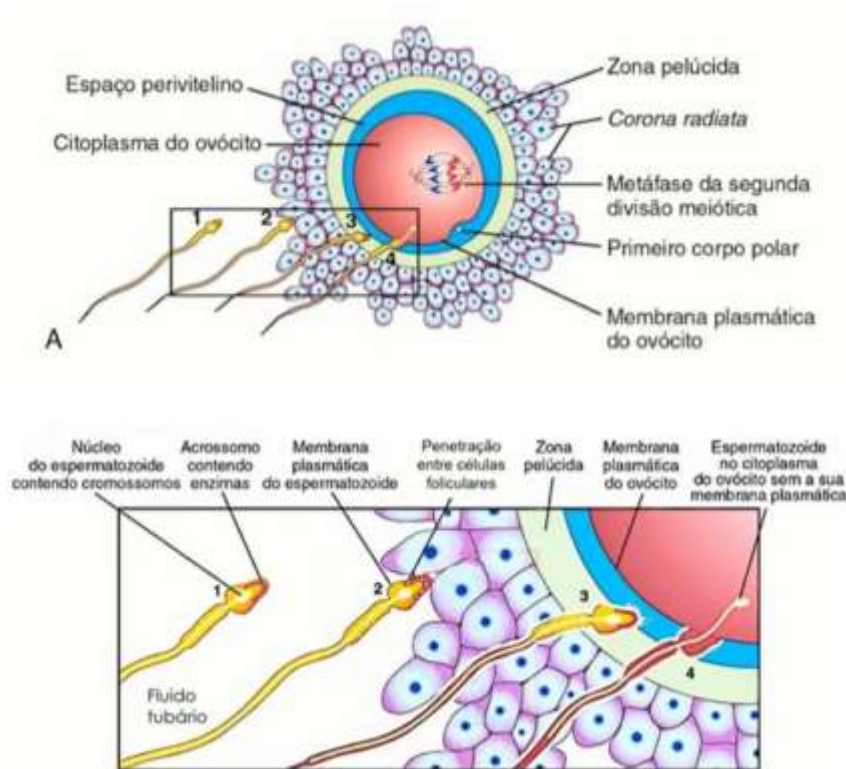
se houvesse e se essa diferenciação fosse claramente definida, poderíamos usar anticorpos específicos (que se ligariam apenas a X ou Y) e, posteriormente, separar essas células por meio de métodos como imuno magnetismo ou centrifugação, entretanto, os resultados são imprecisos ou sutis, não garantindo precisão (GARNER E SEIDEL, 2003).

**Figura 1:** Estrutura do espermatozoide, como citado no texto, é na membrana plasmática onde ficam os antígenos.



**Fonte:** Lana Magalhães em Toda Matéria

**Figura 2:** Espermatozoide realizando fecundação com demonstrativo de interação com antígenos.



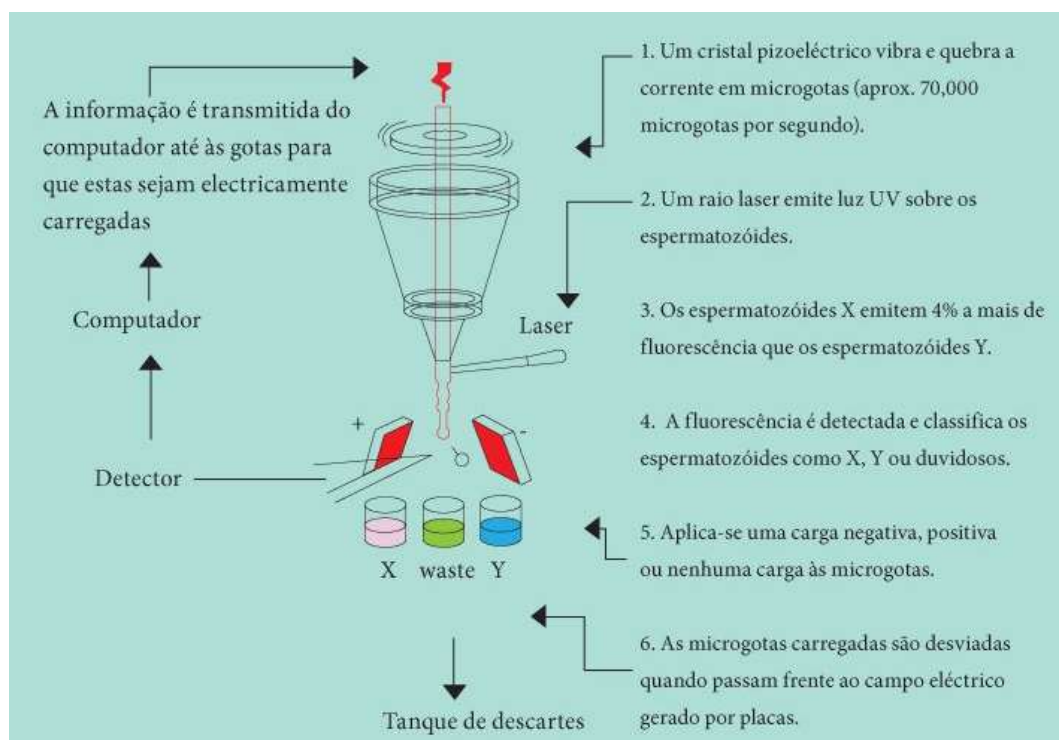
**Fonte:** Mariana Pierri em Passei Direto

A citometria de fluxo, que possibilita a classificação de cada espermatozoide com base na quantidade de DNA, é a técnica mais utilizada no momento. Primeiramente, o sêmen é coletado e processado, frequentemente exigindo a remoção do plasma seminal, que pode afetar a coloração e provocar estresse oxidativo (SEIDEL JR., 2006). A concentração de espermatozoides é modificada, e eles recebem uma coloração fluorescente específica, como o Hoechst 33342, que atravessa a membrana celular e se liga ao DNA. A fluorescência emitida pelos espermatozoides ao serem excitados pelo laser do citômetro indica se eles carregam o cromossomo X ou Y (GARNER 2009; RATH e JOHNSON, 2008).

No citômetro de fluxo, os espermatozoides passam individualmente por um feixe de laser em gotas de fluido, conforme mostra na Figura 3. A fluorescência é detectada, e cada gota é carregada eletricamente de acordo com o tipo de espermatozoide. Um campo eletrostático desvia as gotas carregadas para coletores diferentes, separando os espermatozoides X dos Y. Para que o processo seja eficiente, a orientação dos espermatozoides é

fundamental: as cabeças devem estar alinhadas ao feixe de laser, garantindo que a intensidade de fluorescência represente com precisão o conteúdo de DNA (GARNER, 2009; RATH E JOHNSON, 2008). Após a separação, o sêmen pode ser usado fresco ou submetido à criopreservação, embora o congelamento adicione estresse adicional às células (SEIDEL JR., 2006).

**Figura 3:** Representação do procedimento da sexagem do sêmen através da técnica de citometria de fluxo, utilizando um citômetro.



**Fonte:** Portal Agronegócio

Para reduzir esses impactos, são utilizadas técnicas adicionais, como a seleção de espermatozoides por gradientes de densidade (por exemplo, Percoll), que elimina espermatozoides mortos ou danificados e eleva a quantidade de células funcionais antes da inseminação (EMBRAPA, 2015). Ademais, a remoção do plasma seminal, o controle estrito da temperatura e da osmolaridade, a modificação da concentração do corante e a inclusão de antioxidantes no diluente ajudam a manter a viabilidade dos espermatozoides (GARNER, 2009; RATH E JOHNSON, 2008). Métodos alternativos, como a seleção imunológica com anticorpos ou aptâmeros

direcionados a antígenos específicos de espermatozoides X ou Y, vêm sendo investigados como maneiras de diminuir o dano celular, apesar de geralmente oferecerem menor pureza ou recuperação em relação à citometria de fluxo (DIAS et al., 2018).

A sexagem de sêmen oferece vantagens significativas tanto do ponto de vista econômico quanto zootécnico. Ela possibilita o controle do sexo da prole, otimizando a produtividade em rebanhos de leite ou corte, diminuindo gastos com alimentação, manejo e descarte de animais do sexo menos desejado (SEIDEL JR., 2006; GARNER, 2009). Também possui aplicações na preservação de espécies em risco, ajustando as proporções sexuais e ampliando o potencial reprodutivo de indivíduos raros (PEREIRA et al. 2015). Entretanto, essa técnica requer uma infraestrutura sofisticada, equipe especializada e protocolos ajustados para cada espécie ou raça, levando em conta que a eficácia, a recuperação e a fertilidade do sêmen sexado podem diferir consideravelmente (SEIDEL JR., 2006; DIAS et al, 2018).

### **2.1.3 Histórico da sexagem de sêmen**

O conceito de definir previamente o sexo dos descendentes possui significativas implicações econômicas e genéticas, especialmente na criação de animais, e sua evolução científica levou várias décadas até se estabelecer. É sabido que, mesmo antes da chegada de métodos biomoleculares ou físicos de alta precisão, os criadores já notavam padrões de herança relacionados ao sexo. No entanto, as primeiras pesquisas sistemáticas somente começaram a aparecer com os avanços da genética e da biologia molecular no século XX. Durante a metade do século XX, teorias sobre as diferenças no conteúdo do DNA entre espermatozoides que continham cromossomos X ou Y foram propostas, mas não havia técnicas eficientes para identificar ou separar células vivas (SALINAS, 2016).

Um grande desenvolvimento aconteceu no final dos anos 1970 e no começo dos anos 1980, quando equipes de cientistas mostraram que era viável quantificar com exatidão a quantidade de DNA nos espermatozoides, identificando variações mensuráveis entre aqueles que transportam os cromossomos X e Y. Porém, nessa fase, os espermatozoides ainda eram mortos durante a medição (marcada

demonstração do conteúdo de DNA) (GARNER E SEIDEL, 1980). A partir desse ponto, começou-se a elaborar a citometria de fluxo adaptada para sêmen, uma técnica que possibilita a coloração dos espermatozoides com fluorocromos específicos (normalmente Hoechst 33342), quantificando a fluorescência como um indicativo do conteúdo de DNA, diferenciando entre espermatozoides X e Y, e, em seguida, separando fisicamente as populações viáveis. Essa tecnologia apenas se tornou prática e comercialmente viável após melhorias nos equipamentos, nas taxas de processamento (*throughput*) e nas condições de conservação do sêmen. Em 1989, foram obtidos os primeiros descendentes vivos a partir de sêmen sexado com citometria de fluxo em animais, confirmando na prática que essa abordagem poderia levar à prole viável. Os experimentos iniciais foram realizados em espécies modelo, como coelhos e outros roedores, funcionaram como uma prova de conceito (MORRELL et al., 1988). No entanto, no caso dos bovinos, apesar de já existirem evidências de diferenciação de espermatozoides X e Y a partir de DNA, ainda não havia disponibilização de doses de sêmen sexado que fossem adequadas para inseminação artificial em grande escala ou para criopreservação eficiente.

A transição para uma comercialização bem-sucedida começou na década de 1990, quando instituições privadas e centros de pesquisa passaram a investir em dispositivos de citometria de fluxo rápidos, aprimorar o manejo das células, otimizar os corantes de DNA, garantir a proteção dos espermatozoides durante o procedimento e ajustar os protocolos de modo que o sêmen sexado pudesse ser congelado, guardado e utilizado em inseminações artificiais, apresentando taxas de prenhez que são competitivas em relação ao sêmen tradicional. Em 1999 foi relatado o nascimento da primeira bezerra (filha fêmea) por inseminação artificial utilizando sêmen sexado comercialmente. A empresa *Cogent Breeding* desempenhou papel chave nesse processo, e em 2000 o sêmen sexado comercial foi lançado ao mercado. Esse momento marcou não apenas uma prova de viabilidade técnica, mas também instigou discussões sobre custo-benefício, aceitação pelos produtores, rendimento reprodutivo (prenhez), características de crescimento das crias e impactos associados à dose de espermatozoides.

Nas décadas seguintes, principalmente a partir de 2000, ocorreram avanços notáveis: a pureza do sêmen sexado melhorou (quantidade de espermatozoides X ou Y relacionada ao sexo desejado), a eficácia da classificação aumentou

(quantidade de espermatozoides que podem ser analisados e separados por segundo), o dano aos espermatozoides durante o processo diminuiu (incluindo perdas devido a estresse mecânico, radiação ou exposição ao corante), além de terem sido aprimorados os métodos de criopreservação após a classificação, fazendo com que os índices de prenhez se tornassem mais próximos dos do sêmen convencional. Adicionalmente, pesquisas comparativas revelaram que os bezerros oriundos de sêmen sexado, após o nascimento, mostram crescimento, força, peso ao nascer, índices de mortalidade (neonatal ou até a desmama) e duração da gestação que são similares aos dos bezerros gerados com sêmen não sexado, indicando que a sexagem, por si só, não causa alterações fenotípicas adversas visíveis (JOHNSON, WELCH, RENS et al., 2013).

Para resumir, a trajetória da sexagem de sêmen é caracterizada por:

- i) Os primeiros momentos de descoberta científica fundamental (distinção entre o DNA dos cromossomos X e Y);
- ii) O desenvolvimento de técnicas de citometria de fluxo especificamente para sêmen;
- iii) Experimentos com organismos modelo e validação de conceitos;
- iv) Adaptação para gado bovino e outras espécies de importância econômica;
- v) Início da comercialização no final da década de 1990;
- vi) Constante aperfeiçoamento técnico e ampliação da aplicação. Esse processo ilustra como os progressos em genética, biofísica, instrumentos e técnicas de reprodução se uniram para viabilizar uma tecnologia que antes parecia pertencer ao domínio da ficção científica.

A seguir, na Figura 4, está presente uma linha do tempo com as informações citadas no texto anteriormente:

**Figura 4:** Representação do histórico da sexagem de sêmen desde a invenção até a atualidade.



Fonte: A autora, 2025.

### 2.1.4 Determinação genética do sexo e aspectos reprodutivos

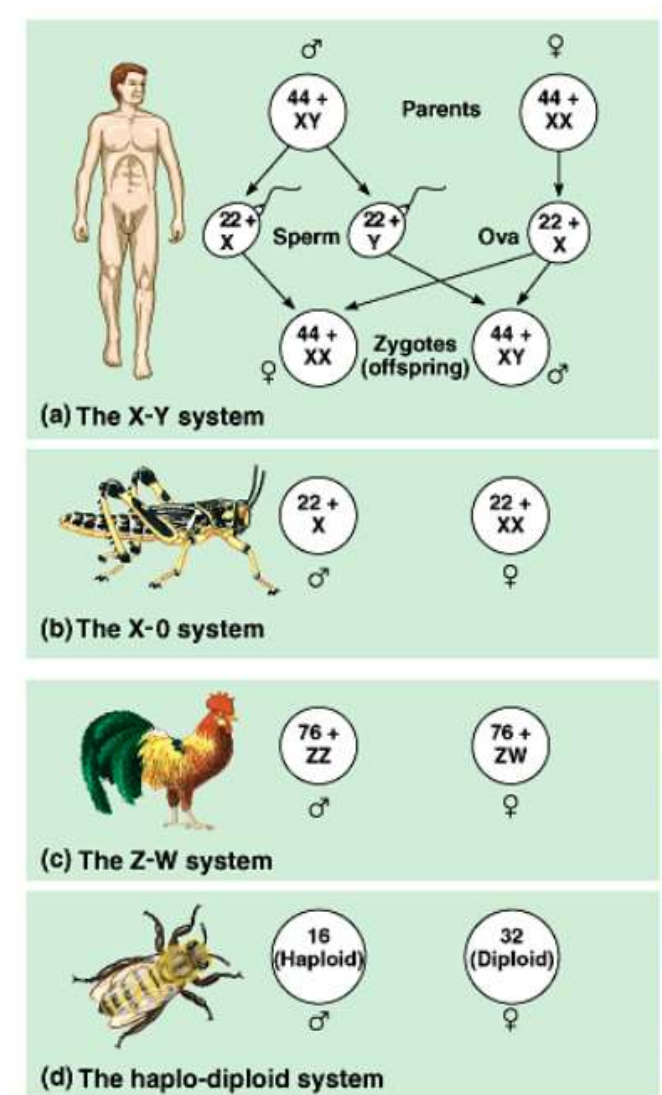
A determinação do sexo nos animais por meio da genética se refere ao processo em que o sexo cromossômico é definido no momento da fertilização, estabelecido pela combinação de cromossomos sexuais transmitidos pelos pais. Em diversos mamíferos, por exemplo, esse mecanismo segue o padrão XY, onde o espermatozoide transporta um cromossomo X ou Y. Um zigoto com a combinação XY se desenvolverá como um macho, enquanto a combinação XX resultará em uma fêmea.

Além dos mamíferos, vertebrados como as aves operam com o sistema ZW, onde o sexo feminino possui um par de cromossomos heterogaméticos (ZW) e o masculino tem um par homogamético (ZZ). Há uma ampla variedade entre peixes, anfíbios e répteis onde alguns utilizam os sistemas genéticos XY ou ZW, enquanto

outros dependem de mecanismos epigenéticos ou de fatores ambientais, como temperatura ou substâncias químicas, que afetam a ativação de genes que definem ou diferenciam o sexo (OLIVEIRA, 2021).

**Figura 5:** Representação dos diferentes sistemas de determinação genética do sexo

e seus aspectos respectivos de cada classe animal.



**Fonte:** Benjamin Cummings em Determinação e Herança do sexo.

Sob o aspecto da reprodução, a definição genética do gênero tem um impacto direto nas características sexuais secundárias, nos padrões de desenvolvimento, na eficácia reprodutiva, no desempenho produtivo e nas qualidades da carcaça. Um exemplo disso pode ser observado em bovinos, onde há

uma diferença considerável na distribuição de tecidos entre os sexos após a puberdade, sendo essa diferença moldada pela testosterona nos machos e pelos hormônios ovarianos nas fêmeas, o que influencia o crescimento dos músculos, a gordura sob a pele, o marmoreio, entre outros fatores (DONOFRE e CASTRO, 2015). Além disso, em iniciativas que fazem uso da separação de sêmen, como a classificação por citometria de fluxo dos espermatozoides (onde se fazem distinções entre os portadores dos cromossomos X e Y), a taxa de acerto na seleção pode chegar a cerca de 90%, ainda que enfrente dificuldades, como altos custos e a diminuição da taxa de fertilidade nas inseminações com sêmen selecionado (SEXING SPERM OF DOMESTIC ANIMALS, 2012).

Um fator relevante é que modificações ou variações nos genes que controlam o sexo ou que regulam a formação gonadal podem causar anomalias ou disgenesias gonadais, resultando em pessoas com discrepância entre o genótipo e o fenótipo sexual, ou com desenvolvimento parcial dos órgãos sexuais. Esses fenômenos contribuem para esclarecer quais são os componentes essenciais da cascata genética de sexo e mostram que a determinação sexual é um processo sólido, embora vulnerável a interferências.

A caracterização sexual secundária abrange a maneira como a gordura é distribuída pelo corpo, a dimensão corporal, o desenvolvimento sexual (a idade em que ocorre a puberdade), a conduta sexual, a capacidade de reprodução e a estrutura dos órgãos reprodutivos. Essas características são afetadas pelos hormônios sexuais que são gerados pelas gônadas (testículos ou ovários) e, por isso, estão vinculadas ao êxito e à saúde do processo de determinação primária. Caso ocorram mutações, deformidades ou intervenções (como inseminação com sêmen separado por sexo, ou inibições enzimáticas que influenciam a produção de estrogênio/aromatase), pode haver efeitos sobre esses atributos (SEXING SPERM OF DOMESTIC ANIMALS, 2012). Para utilizar métodos de sexagem de sêmen, é crucial compreender esses mecanismos genéticos, pois a eficácia e a viabilidade do sêmen sexado (X contra Y nos sistemas XY, ou Z contra W em sistemas ZW) dependerão não apenas de separar os cromossomos, mas também de assegurar que os gametas sejam funcionalmente viáveis, que os processos de separação não causem efeitos adversos e que o embrião gerado possa se desenvolver normalmente de acordo com sua carga genética relacionada ao sexo.

Além disso, aspectos produtivos como aumento de tamanho, ganho de peso, eficiência na alimentação, qualidade da carcaça e reprodução muitas vezes variam entre machos e fêmeas: um animal do sexo masculino pode apresentar crescimento mais acelerado, diferentes padrões de acumulação de gordura ou músculo, e maturação que pode ocorrer mais cedo ou mais tarde, entre outros. Compreender claramente a genética relacionada ao sexo é fundamental para desenvolver programas de melhoramento genético que levem em conta a influência do sexo, assim como para prever possíveis consequências da sexagem do sêmen.

### **2.1.5 Técnicas de Sexagem de Sêmen**

A determinação do sexo do sêmen é uma tecnologia reprodutiva que tem se tornado cada vez mais relevante na produção animal, principalmente por possibilitar que o agricultor decida com antecedência o sexo da descendência, melhorando os resultados zootécnicos e financeiros do sistema de produção. A escolha do sexo dos animais tem impactos diretos na produção, especialmente em espécies de interesse econômico, como gado, suínos e ovelhas, onde machos e fêmeas apresentam desempenhos diferentes em sistemas de leite ou de abate (GARNER E SEIDEL, 2008). Dentro desse cenário, a utilização de métodos para determinar o sexo do sêmen busca satisfazer necessidades específicas, como elevar a proporção de nascimentos de fêmeas em rebanhos destinados à produção de leite ou de machos em sistemas voltados à produção de carne, o que favorece uma seleção genética mais eficaz e resulta em uma maior lucratividade dos sistemas de produção (CARVALHO et al, 2010).

A metodologia mais reconhecida, validada por pesquisas e empregada em larga escala para a sexagem do sêmen é a citometria de fluxo, que é considerada atualmente o método mais exato disponível. Esta técnica se fundamenta em uma distinção quantitativa essencial entre os espermatozoides que possuem o cromossomo X e aqueles que possuem o cromossomo Y: a variação na quantidade de DNA. Dessa forma, os espermatozoides são avaliados e classificados individualmente conforme a intensidade da fluorescência liberada, indicando a sua composição genética sexual (BONDAN, 2012).

A divisão acontece de maneira muito ágil e exata: os espermatozoides transitam individualmente através do feixe de laser e são redirecionados por pequenas cargas elétricas para coletores distintos, de acordo com a identificação como X ou Y. Embora este método seja tecnologia de ponta e extremamente eficaz, enfrenta desafios significativos em sua implementação diária. Um dos principais obstáculos é o alto custo dos equipamentos e dos materiais, o que limita sua utilização a laboratórios especializados e propriedades com maior poder financeiro. Além disso, o método de sexagem utilizando citometria de fluxo prejudica os espermatozoides, diminuindo sua capacidade de movimento e sobrevivência devido ao contato com o corante, à radiação UV e ao tempo excessivo de manuseio, o que pode afetar negativamente as taxas de fertilização, especialmente em inseminações artificiais tradicionais (DEJARNET, 2012).

Devido à quantidade reduzida de espermatozoides nas doses sexadas – que normalmente varia entre 2 e 4 milhões de células viáveis por dose, em comparação com os 10 a 20 milhões das doses tradicionais (não sexadas) – são necessárias abordagens reprodutivas ajustadas para assegurar o êxito da inseminação utilizando sêmen sexado. Entre essas abordagens, ressalta-se a observação minuciosa do ciclo estral, a seleção cuidadosa do tempo para a inseminação e, sempre que viável, o emprego de fêmeas de alta fertilidade, como novilhas no início de sua fase reprodutiva. Apesar dessas restrições, pesquisas indicam que a acurácia da determinação de sexo por citometria de fluxo ultrapassa os 90%, fazendo dessa metodologia bastante confiável quando o intuito é assegurar a prole com sexo determinado de antemão (DE LIMA, 2007).

Além da citometria de fluxo, muitas outras técnicas têm sido exploradas e avaliadas ao longo do tempo, visando encontrar métodos que sejam mais acessíveis, ágeis e que causem menos impacto negativo na viabilidade dos espermatozoides. Uma dessas técnicas é a centrifugação em gradiente de densidade, que se fundamenta na ideia de que os espermatozoides X e Y possuem pequenas variações em densidade e massa, o que poderia viabilizar sua separação em meios de gradiente como o Percoll ou a albumina (TURKER, 2002). Entretanto, mesmo sendo uma abordagem acessível e fácil de implementar, os resultados alcançados são variáveis e sua efetividade na distinção de gêneros é incerta, além de não oferecer a precisão necessária para fins comerciais. Muitas vezes, a taxa de

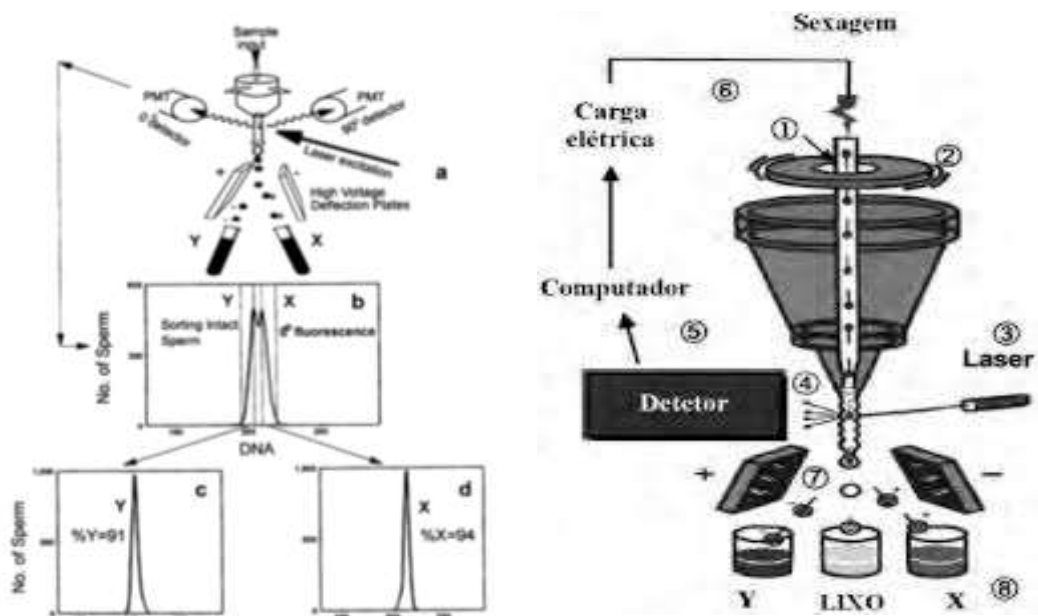
êxito com esse método se aproxima da aleatoriedade, o que prejudica sua utilização prática. Outra opção investigada é a imunosexagem, um método que faz uso de anticorpos específicos que conseguem identificar proteínas que estão apenas na superfície de espermatozoides Y, ou que fazem ligação com elementos particulares do cromossomo sexual (PHIPHATTANAPHIPHOP, 2022). Esses anticorpos são ligados a partículas magnéticas que, ao se unirem aos espermatozoides desejados, possibilitam sua extração por meio de magnetismo, facilitando uma suposta diferenciação entre os tipos de células (DOMÍNGUEZ, 2018). Entretanto, as pesquisas nesse campo ainda estão em fase de testes e os resultados apresentam uma grande variação, existindo desafios técnicos para a obtenção de anticorpos que tenham alta especificidade e para assegurar a integridade das células durante o procedimento. Apesar de promissora, a imunosexagem ainda não atingiu o grau de precisão e eficácia que permitiria considerá-la uma alternativa viável à citometria de fluxo.

Outras propostas inovadoras incluem a aplicação de nanotecnologia e indicadores moleculares para isolar e reconhecer os espermatozoides conforme variações metabólicas, características de carga superficial ou até por meio de modificações genéticas. Uma dessas estratégias, que ainda está em fase de testes, explora o uso de microchips ou nanobiossensores que podem distinguir os espermatozoides instantaneamente com base em suas características físico-químicas. Embora apresentem um imenso potencial, essas inovações ainda precisam de confirmação científica, viabilidade em larga escala e garantias de segurança para uso amplo.

É relevante destacar a utilização da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) como método para identificar o sexo de embriões (ABDULLAH, 2017). Embora isso não seja uma determinação de sêmen em si, possibilita a escolha de embriões baseada no sexo, tornando-se uma alternativa viável quando combinada com programas de fertilização in vitro (FIV) e na transferência de embriões. Neste procedimento, uma pequena amostra celular do embrião é recolhida e submetida a uma análise genética para verificar a presença do cromossomo Y. Com essa informação, é possível decidir quais embriões serão implantados de acordo com o sexo desejado. Contudo, esse método é caro, invasivo e requer um laboratório com alta especialização (KIRKPATRICK, 1993).

De forma geral, mesmo que a citometria de fluxo permaneça como a única técnica amplamente adotada para a sexagem de sêmen com viabilidade comercial e reprodutiva, o progresso constante nas investigações em biologia molecular, nanotecnologia e engenharia genética cria oportunidades para o surgimento de novos métodos que sejam mais acessíveis, ágeis e eficientes, a seguir, na Figura 6 e 7 há um ademonstração sobre a funcionalidade da citometria de fluxo, em um citomêtro:

**Figura 6 e 7:** Representação de um citomêtro, realizando a técnica de CF (citometria de fluxo), utilizada para a sexagem de sêmen.

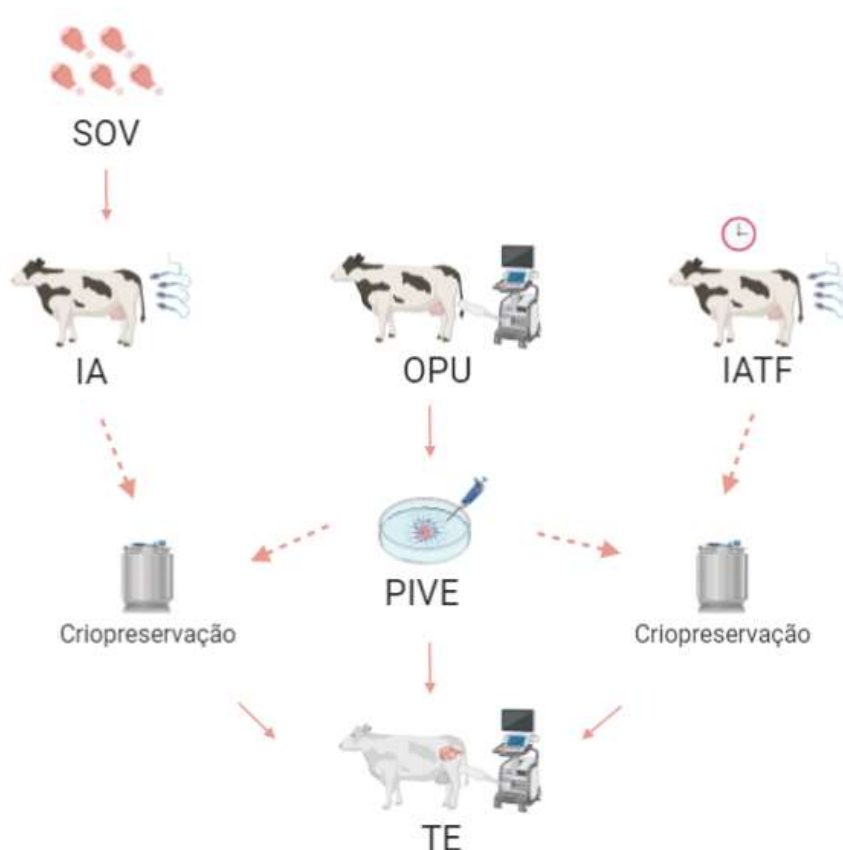


**Fonte:** Fonte: Sêmen sexado através de citometria de fluxo e centrifugação por gradiente de concentração (PDF).

É esperado que, nos anos futuros, essas tecnologias evoluam, possibilitando uma adoção mais extensa, inclusive em propriedades de pequeno e médio porte. Contudo, a decisão de empregar a sexagem de sêmen deve levar em conta aspectos como o investimento financeiro, os objetivos de produção, a taxa de fertilidade do rebanho, a infraestrutura disponível e a formação técnica da equipe envolvida, além da sinergia com outras biotecnologias reprodutivas que estão em prática. O uso racional desta tecnologia, inserido em programas de melhoramento genético bem planejados, pode levar a significativos aumentos na produção, desde

que seja realizado com manejo apropriado, seleção cuidadosa de matrizes e machos reprodutores, além de uma atenção particular às condições de saúde e nutrição dos animais. Assim, a sexagem de sêmen não se limita a ser uma ferramenta para a determinação do sexo, mas se torna um recurso estratégico para a intensificação e modernização da agricultura, promovendo a produtividade, a sustentabilidade e a inovação na área de reprodução animal. A seguir a Figura 8 representa uma ilustração dos meios da biotecnologia de reprodução, junto de um texto explicativo para as siglas:

**Figura 8:** Conexão entre as biotecnologias na reprodução dos animais. As flechas pontilhadas indicam uma opção, enquanto as flechas sólidas demonstram a ordem do processo. A vaca de coloração distinta (TE) não implica obrigatoriamente que se trata de uma fêmea diferente. A ilustração mostra como as biotécnicas mencionadas no texto se relacionam e não os passos de cada uma (para informações específicas sobre cada biotécnica, consulte o artigo e as referências).



**Fonte:** Isabella Maran Pereira, 2020.

- Superovulação (SOV): A superovulação é uma técnica biotecnológica que estimula a liberação de múltiplos folículos, resultando na produção de vários oócitos. Isso difere do processo natural, que normalmente

envolve apenas um folículo dominante liberando um único oócito durante o ciclo estral. Com essa abordagem, é possível realizar a fertilização e o desenvolvimento embrionário, seja por meio da inseminação artificial ou pela produção de embriões em laboratório, até alcançar o estágio de blastocisto, momento em que será implantado no útero da mesma fêmea ou em fêmeas receptoras. Assim, a propagação da genética superior de uma fêmea selecionada e superovulada é mais ampla em comparação à de uma fêmea que se submeteu a outras técnicas biotecnológicas e gerou apenas um embrião (MORAES, 2002).

- **Aspiração folicular guiada por ultrassonografia ou Ovum Pick Up (OPU):** A aspiração transvaginal guiada por ultrassonografia é uma técnica biológica empregada para a obtenção de complexos cumulus-oócito (CCOs) de doadoras vivas, com o objetivo de criar embriões in vitro. O processo de OPU envolve a inserção de um transdutor específico, seguido pela conexão de uma agulha descartável à guia. Após a identificação e a tração dos ovários, o líquido folicular é retirado utilizando um sistema fechado que opera com pressão negativa. Recomenda-se, antes de iniciar o procedimento, que se faça a sincronização da onda de crescimento folicular nas doadoras de oócitos, a fim de maximizar tanto a quantidade quanto a qualidade dos CCOs obtidos (PFEIFER et al, 2009).
- **Inseminação Artificial (IA):** Trata-se de um procedimento onde o sêmen, coletado previamente de um touro selecionado, é inserido manualmente no sistema reprodutivo da fêmea. Antes de realizar essa operação, é preciso monitorar os sinais de cio, que são causados pelo aumento dos níveis de estradiol proveniente do folículo pré-ovulatório na corrente sanguínea. Esse hormônio atua no cérebro e na medula espinhal, resultando em reações fisiológicas como a fêmea permanecer imóvel durante a monta, inchaço da vulva, e hiperemia da mucosa vaginal, dentre outros sinais. Contudo, o reconhecimento do cio pode apresentar desafios que podem ser contornados através da inseminação artificial planejada (MORAES, 2002).
- **Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF):** Este é um procedimento em que o sêmen, coletado previamente de um touro selecionado, é introduzido manualmente no sistema reprodutor da fêmea. Antes de realizar essa técnica, é fundamental observar os sinais de estro, que são provocados pela elevação dos níveis de estradiol no sangue, proveniente do folículo que está prestes a ovular. Essa elevação hormonal provoca reações em áreas do cérebro e da medula espinhal, resultando em sinais físicos, como a fêmea permanecer parada durante a monta, inchaço da vulva e hiperemia na mucosa vaginal, entre outros. Contudo, a detecção do estro pode ser desafiadora, e essas dificuldades podem ser superadas com a aplicação da inseminação artificial em tempo determinado (MOROTTI E BARREIROS, 2016).

- **Produção in vitro de embriões (PIVE):** A técnica de produção de embriões in vitro é um método biotecnológico que cria embriões em um ambiente controlado, compreendendo etapas como maturação in vitro, fertilização in vitro e cultivo in vitro. O processo se inicia com a coleta de oócitos, realizada por meio de OPU ou aspiração folicular de ovários de vacas abatidas. Em seguida, realiza-se a seleção e a maturação dos oócitos mais adequados, preparando os gametas femininos para a fecundação. Após um período específico de incubação, os oócitos são fertilizados com sêmen criopreservado de touros com características genéticas superiores e são mantidos em co-incubação para que a fertilização ocorra efetivamente. Posteriormente, as estruturas resultantes da fertilização in vitro são desnudas e colocadas em um meio de cultivo, onde o embrião permanece incubado por sete dias até alcançar a fase de blastocisto. Os embriões gerados podem ser criopreservados para uma transferência futura ou podem ser transferidos imediatamente para a fêmea que doou os oócitos ou para uma fêmea receptora (GONÇALVES E VISINTIN, 2002).
- **Criopreservação:** A criopreservação é uma técnica biológica que envolve a conservação em nitrogênio líquido a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , permitindo o armazenamento seguro de oócitos, sêmen e embriões por extensos períodos sem reduzir sua viabilidade. Essa técnica pode ser realizada através de dois métodos: Resfriamento Lento ou Vitrificação. O primeiro método envolve uma redução gradual da temperatura de aproximadamente  $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  por minuto e o uso de baixas concentrações de crioprotetores, resultando na formação de cristais de gelo. Em contrapartida, o protocolo de Vitrificação aplica um resfriamento extremamente rápido, fazendo a transição direta dos meios de criopreservação do estado líquido para um estado vítreo e amorfo, evitando a cristalização do meio. Neste processo, a diminuição da temperatura ocorre a uma taxa de cerca de  $10.000\text{ }^{\circ}\text{C}$  por minuto e requer altas concentrações de crioprotetores (SARAGUSTY, 2011).
- **Transferência de Embriões (TE):** A Transferência de Embriões consiste em coletar embriões de uma doadora e implantá-los no útero de uma receptora para que a gestação possa ser concluída, utilizando biotécnicas relacionadas descritas neste artigo e ilustradas na figura 7. Após a obtenção dos embriões, que podem ser extraídos da doadora ou gerados in vitro, eles passam por um tratamento. Os principais processos envolvidos são a análise do desenvolvimento e da viabilidade dos embriões durante o ciclo in vitro, a criopreservação dos embriões, os diagnósticos antes da implantação, a geração de animais geneticamente idênticos, a colocação dos embriões obtidos e tratados no útero das receptoras, bem como a verificação da gestação nas receptoras (REICHENBAC, 2002).

### **2.1.6 Aplicações da Sexagem na Reprodução Animal**

A sexagem de sêmen não se limita a satisfazer interesses científicos; ela se posiciona como um elemento estratégico fundamental para aprimorar o melhoramento genético e aumentar a eficiência tanto produtiva quanto econômica dos rebanhos (LIMA, 2007). A capacidade de influenciar o nascimento de machos ou fêmeas de acordo com a produtividade da espécie e as metas individuais de cada sistema de produção destaca o inquestionável potencial desta biotecnologia, que já se estabeleceu como uma prática comum na produção comercial, com ênfase particular na criação de bovinos (CABRAL et al., 2023).

Em rebanhos dedicados à produção de leite, a utilização da sexagem de sêmen se destaca de maneira mais clara e gera um impacto econômico significativo. O objetivo central é a geração de fêmeas, que funcionam como as principais unidades produtivas. A sustentação de gestações e o subsequente nascimento de machos, que possuem um valor econômico inferior ou, em certos casos, até negativo, acarreta um custo operacional que reduz a eficiência total do rebanho (LIMA, 2007). A aplicação de sêmen sexado enriquecido com espermatozoides que contêm o cromossomo X possibilita ao criador garantir o nascimento de fêmeas, o que melhora a taxa de renovação das matrizes com elevado padrão genético e acelera o avanço do progresso genético no rebanho (VAN VLECK et al., 1976). A habilidade de regular a razão de sexos durante o processo de inseminação artificial é essencial para programas de seleção que buscam excelência na produção de leite. Além disso, a combinação da sexagem com outras biotecnologias, como a produção de embriões *in vitro*, pode reduzir os custos associados ao teste de progênie, já que permite a transferência única de embriões do sexo desejado (NICHOLAS, 2007). Embora o preço por dose seja maior e a taxa de concepção historicamente menor quando comparada ao sêmen convencional, os constantes progressos nas técnicas de sexagem, incluindo a citometria de fluxo e a ablação a laser, têm levado a taxas de concepção que se aproximam cada vez mais das obtidas com sêmen não sexado (PANAZZOLO et al., 2024). Essa evolução na eficiência torna o investimento mais justificável, especialmente em novilhas com alto valor genético, onde o nascimento de uma fêmea de reposição é fundamental.

Nos sistemas destinados à produção de carne, a utilização da sexagem visa aumentar a quantidade de machos, que possuem um desempenho zootécnico mais

elevado em relação ao ganho de peso e às características da carcaça. Em estratégias de cruzamento industrial, a escolha de sêmen que contenha espermatozoides com cromossomo Y facilita a obtenção de uma quantidade maior de machos, oferecendo uma vantagem econômica. As diferenças naturais entre os sexos resultam em um peso abatido de machos que pode ser consideravelmente superior ao das fêmeas da mesma idade, resultando em um valor de progênie muito mais elevado (RUVUNA et al., 1992, conforme LIMA, 2007).

A utilização da sexagem de sêmen não se limita apenas à criação de bovinos. Essa técnica encontra aplicabilidade em várias outras espécies de interesse na zootecnia, como cabras e ovelhas, podendo ser empregada para orientar a produção de leite ou carne (CABRAL et al., 2023). Adicionalmente, a sexagem de espermatozoides é fundamental em iniciativas de preservação de espécies que estão em risco de extinção. Em espécies de fauna selvagem, a habilidade de regular a proporção de sexos na descendência é fundamental para a gestão de populações em ambientes de cativeiro. Nos casos em que há um desbalanceamento entre os sexos ou se houver a necessidade de aumentar rapidamente a quantidade de fêmeas para reforçar a base reprodutiva, a seleção de sêmen e, em certas situações, de embriões, torna-se uma ferramenta essencial para a preservação da diversidade genética e a sustentabilidade a longo prazo dessas populações (WILLHELM, 2014).

Em resumo, a seleção de sêmen representa uma biotecnologia que proporciona um nível inédito de controle sobre a genética e a demografia dos rebanhos. Seu valor é evidenciado pela capacidade de:

- a. Acelerar o progresso genético ao intensificar a seleção das fêmeas;
- b. Aumentar a eficiência econômica ao diminuir os gastos relacionados à criação de animais indesejados;
- c. Atuar como uma ferramenta estratégica para a conservação e gestão tanto de populações domésticas quanto selvagens.

### **2.1.7 Vantagens e limitações das Técnicas**

Um dos principais aspectos positivos é a capacidade de escolher o sexo da prole antes do nascimento, permitindo que os produtores organizem a produção

conforme as metas do sistema de criação. Em rebanhos voltados à produção de leite, por exemplo, é preferível ter filhas, já que são elas que participam do ciclo de produção do leite. Dessa forma, o emprego de sêmen sexado ajuda a otimizar a eficiência do rebanho, favorecendo a renovação de matrizes e acelerando o progresso genético. Ademais, essa técnica possibilita um melhor aproveitamento de animais com elevado potencial genético, tanto machos quanto fêmeas, tornando a seleção mais acurada e as estratégias de reprodução mais adequadas às necessidades comerciais (PATEL E JETHVA, 2019). Outro ponto favorável diz respeito ao efeito benéfico sobre o bem-estar dos animais e a sustentabilidade geral. Através da criação de animais do sexo desejado, consegue-se prevenir o nascimento de indivíduos que muitas vezes não serão comercialmente viáveis, como o que acontece com bezerros machos em rebanhos destinados à produção de leite. Essa gestão do nascimento ajuda a diminuir desperdícios, potencializa a eficiência no uso de recursos e reduz a quantidade de animais que são descartados, promovendo práticas mais éticas e ambientalmente sustentáveis na agropecuária (SHARMA et al., 2019).

Apesar dos avanços tecnológicos, a sexagem de sêmen ainda enfrenta desafios significativos. A principal questão refere-se à diminuição da taxa de fertilidade quando comparada ao sêmen tradicional. O método de separação dos espermatozoides, normalmente realizado através da citometria de fluxo, pode prejudicar as células, comprometendo sua motilidade e viabilidade. Além disso, a quantidade de espermatozoides por dose tende a ser menor no sêmen sexado, o que pode impactar de forma negativa a taxa de concepção, principalmente em vacas em lactação ou em animais com condições reprodutivas inferiores. Essa situação limita a aplicação generalizada da técnica e implica a necessidade de uma seleção cuidadosa dos animais que receberão o sêmen sexado, favorecendo novilhas jovens e saudáveis, que possuem alta fertilidade. Uma outra limitação significativa é o custo associado à tecnologia, que abrange o preço do sêmen sexado, que costuma ser superior ao do sêmen convencional, além dos investimentos requeridos em infraestrutura, normas reprodutivas e treinamento da equipe técnica. Ademais, esse método demanda um manejo reprodutivo extremamente cuidadoso, com protocolos rigorosamente definidos para inseminação artificial e sincronização do estro, além de um controle meticuloso do momento ideal para a inseminação. Em sistemas de

produção que são menos avançados tecnologicamente ou que possuem recursos escassos, a implementação da sexagem de sêmen pode não ser uma alternativa financeiramente viável.

Assim, embora a sexagem de sêmen traga vantagens importantes para a reprodução animal, preciso ter cuidado na hora de usar técnica. É importante planejar bem, investir de maneira e seguir boas práticas de manejo. Ela deve aplicada de forma racional, levando em conta as características do rebanho, os objetivos de produção e a viabilidade econômica. Assim, é possível aproveitar ao máximo os benefícios e reduzir possíveis limitações.

### **2.1.8 Aspectos Econômicos e Éticos da Sexagem**

A sexagem de sêmen surge como uma importante tecnologia reprodutiva com elevado impacto econômico, embora envolva dilemas éticos significativos. Sob a perspectiva econômica, a utilização de sêmen sexado demanda um investimento inicial elevado, tanto em termos de tecnologia quanto de operacionalização. A técnica de citometria de fluxo, por sua vez, necessita de equipamentos avançados, equipe capacitada, manutenção rigorosa e, muitas vezes, apresenta perdas maiores na viabilidade dos espermatozoides em comparação com o sêmen convencional. Isso resulta em um aumento dos custos por dose efetiva disponível (CARVALHO et al., 2018). Dadas essas circunstâncias, a taxa de gravidez torna-se um fator crucial para que o produtor determine a viabilidade do investimento.

Uma pesquisa realizada com fêmeas Girolandas na Estação Experimental Seropédica da Pesagro-RJ comparou os índices de gravidez entre o sêmen convencional e o sêmen sexado: o grupo que recebeu sêmen convencional alcançou um índice de concepção de aproximadamente 53,85%, enquanto o grupo com sêmen sexado conseguiu apenas cerca de 17,86% em condições menos ideais (realizando a inseminação artificial doze horas após a identificação do cio e sem cuidados específicos na descongelação) (GERHARDT et al., 2012). Essa diferença, quando bastante significativa, pode tornar a técnica financeiramente inviável para propriedades menores ou que tenham limitações de manejo. Por outro lado, há novas evidências que indicam que, com a gestão correta, a eficácia do sêmen

sexado se aproxima bastante da do sêmen tradicional, diminuindo a sua desvantagem.

No que diz respeito ao retorno sobre investimento, os lucros provêm principalmente da diminuição dos custos associados à manutenção de animais de sexo indesejado, como machos em operações leiteiras ou fêmeas destinadas ao corte. Além disso, há um ganho genético mais rápido ao aplicar sêmen de alto valor que favorece um sexo desejado para a produção. Também se observa uma maior previsibilidade na programação reprodutiva. No entanto, é crucial ressaltar que esses benefícios só serão alcançados se as diretrizes de manejo reprodutivo forem seguidas, incluindo a detecção de cio ou sincronização eficaz, inseminação no tempo adequado, uso correto do sêmen (armazenamento, descongelamento e transporte), e o fornecimento de condições nutricionais e sanitárias apropriadas para as matrizes, entre outras.

O risco econômico é bastante real: criadores que investem em sêmen sexado esperando um desempenho semelhante ao do sêmen tradicional, mas que enfrentam taxas de concepção muito inferiores (como em situações de manejo inadequado ou em rebanhos com fêmeas mais velhas ou com problemas reprodutivos) podem sofrer prejuízos, uma vez que o custo por prenhez se torna muito mais elevado.

Além disso, a utilização de sêmen sexado ainda é menos comum na pecuária de corte, em parte devido a esses desafios financeiros; para muitos criadores de gado de corte, a diferença de preço não justifica a redução prevista na taxa de concepção ou o risco de prejuízos (CANAL RURAL, 2020). Sob uma perspectiva ética, a separação de sêmen traz à tona importantes considerações sobre o bem-estar dos animais, equidade social, diversidade genética e impactos culturais. Em relação ao bem-estar, há informações que indicam que o método de separação (como citometria de fluxo e técnicas similares) pode diminuir a viabilidade dos espermatozoides, influenciar sua longevidade e prejudicar sua habilidade de se unir às células do oviduto, levando à necessidade de mais inseminações ou ao uso de uma quantidade maior de material biológico, resultando em intervenções mais frequentes nos animais que fornecem o sêmen. Além disso, em sistemas de produção intensiva, pode existir a pressão para otimizar a aplicação da técnica,

mesmo em condições inadequadas, o que pode afetar a saúde ou o bem-estar dos animais.

Outra perspectiva ética aborda a escolha do sexo como uma maneira de utilizar os animais: ao favorecer sistematicamente um sexo, os indivíduos do sexo menos preferido podem ser tratados como "excedentes", com um valor econômico reduzido ou até mesmo expostos a práticas indesejadas. Isso pode diminuir o valor intrínseco do animal, transformando-o em uma função produtiva em vez de respeitar sua integridade. Além disso, existem riscos ligados à redução da diversidade genética: se numerosos criadores decidirem usar apenas alguns touros sexados elite para gerar fêmeas, por exemplo, isso pode acarretar um "efeito gargalo" genético, diminuição da variabilidade, maior vulnerabilidade a doenças ou baixa adaptabilidade ao meio ambiente, resultando em efeitos prejudiciais a longo prazo para o rebanho (SÁ FILHO et al., 2013).

No que diz respeito a normas e responsabilidades, o Brasil apresenta deficiências: embora existam diretrizes para a inseminação artificial e a utilização de sêmen geneticamente modificado, existem poucas regras específicas que abordem os limites do uso de sexagem, a exigência de certificação de pureza, a clareza sobre os resultados previstos, ou a responsabilização em situações de desempenho inferior ao prometido. A ausência de regulamentação pode resultar em expectativas irreais ou propagandas enganadoras, prejudicando a confiança por parte dos produtores.

Finalmente, ética e economia se encontram na ideia de sustentabilidade: para que a seleção de sêmen seja financeiramente viável, seu uso precisa ser feito de maneira responsável, considerando os efeitos sobre os animais, a variedade genética e a equidade social. Somente dessa forma, será viável que os ganhos econômicos não resultem em custos éticos inaceitáveis, assegurando que a tecnologia ajude na produção animal de forma sustentável, justa e eficiente.

### **2.1.9 Estudo de caso, Pesquisas recentes e Resultados Científicos**

Em outra pesquisa, *Fresh sexed semen reaches pregnancy rate like conventional frozen semen on timed AI* (O sêmen sexado fresco atinge taxa de gestação semelhante ao sêmen congelado convencional em IAT programada,

traduzindo para o português) (CREPALDI et al., 2022), no estado de Mato Grosso do Sul, foram sincronizadas via IATF 567 fêmeas zebuínas (novilhas e vacas). O sêmen sexado fresco (mantido entre 15-20 °C) foi comparado ao sêmen congelado convencional, e os resultados mostraram que as taxas de prenhez com sêmen sexado fresco em IATF foram equivalentes às do sêmen congelado convencional. Isso demonstra que com manejo adequado, o sêmen sexado fresco pode ter desempenho próximo ao do sêmen tradicional congelado. Esse dado é bastante importante pois reduz uma das desvantagens comuns associadas ao sêmen sexado: a deterioração associada ao congelamento e à perda de viabilidade espermática.

No Brasil, levantamento de 120 fazendas revelou que, em uso do sêmen sexado em IATF no gado de corte, a taxa de concepção foi de 46 %, o que representa cerca de 90 % da taxa de concepção obtida com sêmen convencional. Foram mais de 17 mil diagnósticos de gestação realizados, em diferentes categorias de matrizes (novilhas superprecoces, primíparas etc.), em várias regiões do país. Isso indica que o sêmen sexado, com tecnologia moderna de sexagem, tem aproximação relevante do sêmen convencional quando se fala de efetividade reprodutiva em campo.

Em nível internacional, um estudo com vacas novilhas comparou uso de sêmen sexado e convencional sob condições de campo. Foram avaliados 97 animais (novilhas e vacas), com diferentes condições corporais e de trato reprodutivo. As taxas de concepção ao primeiro serviço foram de 55,24 % para sêmen sexado e 63,63 % para sêmen convencional; depois, nos dias 35 e 75 pós-inseminação, as taxas foram levemente menores para sêmen sexado, mas sem diferença estatística (HUSSAINI et al., 2024). Também se destaca trabalho que avaliou a cinética de sêmen bovino criopreservado sexado X e Y comparado ao não sexado, antes e depois de seleção espermática por gradiente de Percoll. Esse estudo demonstrou redução em algumas variáveis cinéticas após sexagem, especialmente motilidade progressiva e parâmetros relacionados à velocidade, mas indicou que, após período de recuperação ou seleção adicional, alguns parâmetros se aproximavam do sêmen não sexado (CARVALHO et al., data antiga mas relevante).

- Desempenho crescente: com melhorias nos protocolos, uso de sêmen sexado fresco/refrigerado, manejo adequado, sincronização eficaz, é possível obter taxas de concepção bastante próximas àquelas do sêmen convencional (ex: ~ 90 % do convencional em gado de corte no Brasil). Isso indica que barreiras técnicas estão sendo superadas. (Levantamento 120 fazendas, gado de corte, Brasil) (MOITINHO, 2025).
- Variabilidade conforme condições: há queda de desempenho (menores taxas de prenhez) quando se usa sêmen sexado em situações de primeiro serviço, ou em animais com condições reprodutivas não ideais, ou quando a conservação/refrigeração/congelamento não é ideal.
- Fatores moduladores importantes: idade, puberdade precoce, condições corporais, manejo da sincronização e do momento da IA, tempo de uso/refrigeração do sêmen, concentração de espermatozoides, tipo de sêmen (fresco, refrigerado, congelado) influenciam fortemente os resultados. Por exemplo, no estudo de Crepaldi (2023), reduzir tempo entre retirada de dispositivo de progesterona e inseminação com sêmen sexado refrigerado ajudou a manter taxas de prenhez aceitáveis (CREPALDI, BARUSSELI, 2023)
- Potencial genético, econômico e aplicabilidade em campo: os levantamentos em grandes fazendas, análises de mercado e exportações crescentes indicam que existe demanda e que os ganhos genéticos e econômicos justificam investimentos, desde que as condições sejam favoráveis. O mercado de sêmen bovino no Brasil mostra aumento consistente de produção, exportação, e adoção de biotecnologias reprodutivas.

### **2.1.10 Perspectivas futuras para produção animal sustentável e precisa**

A sexagem de sêmen, recentemente, se mostrou como uma das revelações e tecnologias mais importantes para a reprodução animal moderna. Visto que, de acordo com os tópicos expostos anteriormente, é possível determinar de forma prévia o sexo da progênie, abrindo caminho para uma produção mais direcionada, eficiente e sustentável. Essa evolução significa menos consumo de alimento e água,

menor geração de resíduos e, por sua vez, redução nos gases de efeito estufa, reforçando novamente esta técnica como promissora, principalmente com o compromisso do setor com práticas ambientalmente responsáveis (SILVA et al., 2021).

Nas próximas décadas é previsto que a sexagem de sêmen torne-se tendência no sentido de integração em programas de melhoramento genético e às ferramentas da pecuária de precisão. Com a integração de outras tecnologias e novas técnicas, como o apoio de tecnologias como sensores, inteligência artificial e a análise genômica, será possível não apenas escolher o sexo, mas também suas características produtivas, sanitárias e adaptativas, transformando o agronegócio em um setor mais produtivo, sustentável e assertivo (SOUZA, 2022).

Outro ponto importante é o avanço rumo à democratização e assebilidade dessa biotecnologia. À medida que novas técnicas mais baratas e rápidas forem desenvolvidas, como métodos baseados em marcadores moleculares e espectroscopia, a sexagem de sêmen poderá e deverá se tornar acessível também a pequenos e médios produtores, ampliando seu impacto positivo em diferentes cadeias produtivas (MARTINS; ALMEIDA, 2020). Em um futuro próximo, o uso preciso e ético da sexagem pode representar um divisor de águas para a produção animal. Direcionando o nascimento de machos ou fêmeas conforme a finalidade (aptidão) produtiva, fêmeas para o leite e machos para o corte, reduzindo desperdício de recursos, evitando o descarte de animais e contribuindo para práticas mais humanas e conscientes (COSTA; RIBEIRO, 2023).

### **3 CONCLUSÃO**

A sexagem de sêmen firmou-se como uma das inovações mais significativas no campo da biotecnologia reprodutiva contemporânea, marcando um avanço crucial na melhoria genética e na produtividade da pecuária atual. Sua utilização permite prever o sexo da progênie, capacitando os sistemas de produção a ajustarem a eficiência zootécnica e econômica de acordo com os objetivos específicos de cada propriedade. Na criação de gado leiteiro, a aplicação de sêmen sexado resulta diretamente em uma maior produção de fêmeas com elevado potencial genético, diminuindo a necessidade de descarte de machos e promovendo

uma administração mais eficiente dos recursos disponíveis (Carvalho et al., 2018; Cabral et al., 2023). No contexto da pecuária de corte, essa técnica favorece o nascimento de machos que apresentam melhor capacidade de ganho de peso e rendimento de carcaça, o que, por sua vez, repercute positivamente no desempenho e na rentabilidade da atividade (Ruvuna et al., 1992 apud Lima, 2007).

Os progressos na ciência e na tecnologia, especialmente nas últimas décadas, foram essenciais para aprimorar a eficácia das técnicas de separação de esperma, com destaque para a citometria de fluxo, que atinge níveis de precisão superiores a 90% na identificação do sexo (Garner e Seidel, 2008; Panazzolo et al., 2024). Pesquisas recentes indicam que, se utilizadas em condições adequadas de manejo, as taxas de concepção com sêmen sexado podem chegar a até 90% das taxas conseguidas com sêmen convencional, evidenciando a viabilidade prática dessa biotecnologia (Crepaldi et al., 2022; Hussaini et al., 2024). Além de seu impacto financeiro, a sexagem de sêmen também traz vantagens éticas e ambientais, uma vez que previne a criação de animais em excesso, diminui o desperdício e promove o bem-estar animal, alinhando-se às diretrizes de produção responsável e sustentabilidade (Sharma et al., 2019; Patel e Jethva, 2019).

Apesar dos progressos alcançados, ainda persistem dificuldades relacionadas ao elevado preço dos equipamentos, à carência de profissionais qualificados e à queda ocasional na fertilidade quando comparada ao sêmen convencional. Contudo, a expectativa é de que, à medida que novas estratégias, como o uso de sêmen sexado a frio e a melhoria das técnicas de criopreservação, sejam desenvolvidas, esses obstáculos sejam superados gradualmente, facilitando uma adoção mais ampla e acessível. Além disso, a combinação da sexagem de sêmen com outras biotecnologias, como a fertilização in vitro e a transferência de embriões, cria oportunidades promissoras para uma reprodução animal que seja mais precisa, eficiente e sustentável.

Assim, pode-se concluir que a sexagem de sêmen se configura como uma estratégia fundamental para o futuro da pecuária. Isso ocorre não apenas devido à sua capacidade de elevar a produtividade e o retorno financeiro, mas também por incentivar uma abordagem ética e sustentável dentro do setor agrícola. Ao integrar inovações científicas com compromisso ambiental e eficiência na produção, essa biotecnologia reforça a importância da biotecnologia na evolução da reprodução

animal, além de promover o desenvolvimento de sistemas agropecuários que sejam mais modernos, exatos e sustentáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CABRAL, Leonardo Alves Rodrigues et al. Técnicas de sexagem espermática e sua importância na produção animal. **Ciência Animal**, v. 33, n. 2, p. 118 a 130-118 a 130, 2023.

LIMA, Vera Fernanda Martins Hossepián de. Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozoides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 219-228, 2007.

SCOTT, Caroline et al. Estudo sobre as diferentes técnicas de sexagem de espermatozoides. **Veterinária e Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 21-29, 2018.

Produção de embriões bovinos in vitro com sêmen sexado. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 8–15, 2013. DOI: [10.36440/recmvz.v11i3.17370](https://doi.org/10.36440/recmvz.v11i3.17370). Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/17370>.

Acesso em: 20 ago. 2025.

**HOSSEPIAN DE LIMA, Vera Fernanda Martins.** Methodological advances on spermatozoa sexing for using in genetic improvement and animal production. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Jaboticabal, v. 36, suplemento, p. 219–228, jul. 2007. DOI: 10.1590/S151635982007001000020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbz/a/5jL68Zbkr4GgWBPh9qkhQFh/?lang=pt->>.

**ROCHA, Carolina Camargo.** *Avaliações ultrassonográficas, morfométricas e histológicas testiculares de touros Bos taurus taurus submetidos à insulação escrotal sob o tratamento sistêmico com antioxidante e suplementado com ácidos graxos poli-insaturados.* 2013. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013. DOI: 10.11606/D.10.2013.tde-01072013-112224. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-01072013-112224/pt-br.php>. Acesso em: 10 set. 2025.

**BORÉM, A. A** história da biotecnologia. *Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento*, n. 34, p. 12, jan./jun. 2005.

PEREIRA, Ricardo José Garcia; BLANK, Marcel Henrique; ROISMANN, Julia. A contribuição das biotecnologias reprodutivas na conservação de espécies selvagens. **Rev. bras. reprod. anim**, v. 48, p. 46-52, 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Manual técnico de reprodução animal*. Brasília: MAPA, 2020.

VIANA, J. H. M. Biotecnologia da Reprodução Animal. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2022.

COMIZZOLI, P. Biotechnologies for Wildlife Conservation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 753, p. 97–110, 2015.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. *Reprodução Animal*. 7. ed. São Paulo: Manole, 2016.

TECHAKUMPHU, M.; THARASANIT, T. *Assisted reproductive technologies in domestic animals and wildlife*. **Veterinary World**, v. 9, n. 6, 2016.

ZANON, José Eduardo de Oliveira. Uso de aptâmeros na sexagem de sêmen bovino. 2016.

**STEINHAUSER, C. B.; GRAHAM, J. K.; LENZ, R. W.; SEIDEL JR, G. E.** *Removal of seminal plasma improves sex-sorting of bovine sperm*. *Andrologia*, Malden, v. 48, n. 10, p. 1131-1137, 2016.

Garner, D. L., & Seidel, G. E. (2003). *Past, present and future perspectives on sexing sperm*. *Theriogenology*, 59(2), 571–589. DOI: 10.1016/S0093-691X(02)01241-3

DIAS, A. F. et al. Aptamers for sperm sexing: advances and challenges. *Biology*, v. 7, n. 12, 2018.

EMBRAPA. Comparativo de sêmen bovino criopreservado sexado e não sexado. *Artigos Embrapa*, 2015.

JOHNSON, L. A. et al. Flow cytometric sorting of mammalian sperm. *Reproduction Fertility and Development*, v. 12, p. 581–595, 2000.

PEREIRA, R. P. et al. Functional evaluation of sexed bull sperm. *Theriogenology*, v. 83, p. 123–131, 2015.

RATH, D. et al. Effects of sperm sexing on bull sperm quality. *Animal Reproduction Science*, v. 119, p. 1–12, 2010.

- SEIDEL Jr., G. E. Overview of sexing sperm and its application in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 41, p. 45–50, 2006.
- CARREIRO, Carlos Riedel Porto. Inovações tecnológicas na sexagem, manejo reprodutivo e crescimento do pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz, 1822), (Actinopterygii, Arapaimidae) cultivado no centro de pesquisas em aquicultura Rodolpho Von Ihering (cpa) do DNOCS, Pentecoste, Estado do Ceará. 2012.
- LIMA, Vera Fernanda Martins Hossepian de et al. Sexagem de espermatozoides bovinos por centrifugação em gradiente descontínuo de densidade de Percoll. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, p. 1680-1685, 2011.
- Cabral, L. A. R., Pacheco, W. B., Santos, S. S. A., Prado, A. S., & Nunes, J. F. (2023). TÉCNICAS DE SEXAGEM ESPERMÁTICA E SUA IMPORTÂNCIA NA PRODUÇÃO ANIMAL. *Ciência Animal*, 33(2), 118-130.
- Lima, V. F. M. H. (2007). Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozóides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(supl.), 219-228.
- Panazzolo, S., Nonato, A., Ávila, A. C. F. C. M., & Ferreira, A. F. (2024). Sêmen sexado: conhecendo melhor as técnicas e os avanços alcançados nos últimos anos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 48(1), 77-87. Acesso em 14 do 10 de 2025.
- Willhelm, B. R. (2014). Sexagem de sêmen por citometria de fluxo e sua aplicabilidade em animais selvagens (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- Nicholas, F. W. (1996). The role of sexing in the dairy industry. *Theriogenology*, 45(1), 173-176. (Citado por Lima, 2007).
- Ruvuna, F., Taylor, J. F., & Taylor, R. E. (1992). Economic evaluation of sex preselection in beef cattle breeding programs. *Journal of Animal Science*, 70(10), 3004-3011. (Citado por Lima, 2007).
- Hohenboken, W. D. (1999). Application of sexed semen to beef cattle production. *Theriogenology*, 52(8), 1443-1453. (Citado por Lima, 2007).
- CANAL DO CRIADOR. Sêmen Sexado: Taxa de Concepção Chega a 90% do Convencional. Canal do Criador, 14 jan. 2025. Acesso em 14 do 10 de 2025.

CARVALHO, José de Oliveira et al. Flow cytometry sex sorting affects bull sperm longevity and compromises their capacity to bind to oviductal cells. *Livestock Science*, v. 207, p. 30-37, 2018.

GERHARDT, B.; TSinedino, L. D. P.; DOURADO, A. P.; ALVES, P. A. M.; NOGUEIRA, L. A. Taxa de concepção com sêmen sexado ou convencional e viabilidade econômica em vacas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal, Seropédica, Pesagro-RJ*, 2012.