

PERFIL EM SDS-PAGE DAS PROTEÍNAS DO PLASMA SEMINAL E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE DO SÊMEN DE TOUROS DA RAÇA NELORE (*Bos taurus indicus*)

Marcelo George Mungai Chacur¹, Ana Ines Sanchez Martinez²,
Nelson Barbosa Machado Neto³

RESUMO

A proposta desse estudo foi de investigar a presença e incidência de bandas proteicas específicas do plasma seminal em touros Nelore aptos e parcialmente aptos para a atividade reprodutiva. Foram utilizados 68 touros Nelore, sendo 20 da variedade padrão e 48 mochos, com idade média de 4 anos. Para o perímetro escrotal ($35,05 \pm 0,49$ cm e $33,30 \pm 0,39$ cm) e índice de massa corpórea ($302,62 \pm 5,87$ e $284,19 \pm 5,15$ Kg|m²) houve diferença ($p < 0,05$) entre as variedades padrão e mocho, respectivamente. O peso corpóreo ($627,70 \pm 11,37$ e $611,58 \pm 8,66$ Kg); altura da cernelha ($1,44 \pm 0,01$ e $1,47 \pm 0,01$ m); volume do ejaculado ($5,82 \pm 0,48$ e $5,17 \pm 0,29$ mL), motilidade espermática progressiva ($73,50 \pm 2,81\%$ e $75,62 \pm 0,97\%$), vigor espermático ($4,30 \pm 0,19$ e $4,27 \pm 0,11$) e turbilhão ($4,27 \pm 0,11$ e $3,33 \pm 0,23$) não diferiram ($p > 0,05$) entre as duas variedades de touros. Para a morfologia espermática, não houve diferença entre as variedades padrão e mocho, respectivamente com $5,06 \pm 8,20\%$ e $5,32 \pm 6,40\%$ de defeitos maiores; $9,91 \pm 6,74\%$ e $8,36 \pm 6,06\%$ para os defeitos menores; e $14,76 \pm 13,20\%$ e $13,82 \pm 12,61\%$ para os defeitos totais. A eletroforese do plasma seminal revelou bandas proteicas com pesos entre 5 a 105KDa. Em 100% dos touros aptos para a reprodução, a proteína com peso de 13KDa esteve presente, o mesmo ocorrendo com as bandas de 18 e 20KDa. O restante das bandas proteicas revelaram presença com diferentes percentagens de incidência em touros aptos ou parcialmente aptos a atividade reprodutiva. As variedades padrão e mocho revelaram adaptação repro-

ductiva similares perante as condições de clima, mostrando muita eficiência.

Palavras-Chave: zebu, massa corpórea, qualidade seminal, proteínas do plasma seminal

INTRODUÇÃO

A seleção de touros é um fator importante para o criador que deseja melhorar seu rebanho. O exame andrológico permite avaliar machos destinados à reprodução, eliminando do plantel àqueles inaptos para essa finalidade.

Pela monta natural um touro fértil deixa cerca de 120 a 400 descendentes, quando selecionado por meio da avaliação andrológica. Com a utilização da inseminação artificial, esse número ultrapassa os 100.000 descendentes, onde se revela a importância de utilizar os indivíduos com características desejáveis segundo a Associação Brasileira de Inseminação Artificial – ASBIA (2003).

Um dos parâmetros morfométricos utilizados na seleção de touros é o perímetro escrotal (PE), facilmente mensurável e de alta repetibilidade. Este permite prever o potencial reprodutivo de machos jovens, por estar associado ao desenvolvimento testicular, à produção diária de espermatozoides e à puberdade (PINEDA et al., 2000; SMITH, 1989 e SILVA, 1993). Fields (1979) observou maior volume testicular por unidade de peso corporal em animais precoces, com peso aproximado de 300 Kg e idades entre 8 e 30 meses.

O índice da massa corpórea (IMC) asso-

¹ Médico Veterinário. Professor. Doutor. Depto. Reprodução Animal. Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente, chacur@unoeste.br.

² Médica Veterinária. Mestrado – UNOESTE, Presidente Prudente. SP Brasil.

³ Engenheiro Agrônomo Professor. Doutor. Departamento Fitotecnia. Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente.

ciado ao perímetro escrotal e a qualidade do sêmen em touros jovens tem sido de importância para a seleção de animais com maior potencial para as produções qualitativa e quantitativa de sêmen e conseqüentemente melhor fertilidade (PINHO, 2000).

A partir da década 90 até os dias de hoje, estudos relativos à composição do plasma seminal, visando determinar marcadores bioquímicos de fertilidade vem sendo desenvolvidos, para prever o potencial reprodutivo de um animal.

O plasma seminal serve como veículo para os espermatozoides ejaculados, consistindo em uma mistura de secreções dos testículos e glândulas sexuais acessórias, com função carreadora dos gametas masculinos até o trato genital feminino; viabilizando a fertilização. De acordo com Manjunath (1987); Gasset (1997); Mortarino (1998); Einspanier (1991); Roncoletta; Franceschini (1999) os perfis eletroforéticos do plasma seminal auxiliam na avaliação clínica em casos de infertilidade em touros. Já as proteínas solúveis e estruturais têm um importante papel no metabolismo do espermatozoide, com interferência na fertilidade dos touros (KILLIAN, 1999 e RONCOLETTA; FRANCESCHINI, 1999).

O plasma seminal em mamíferos, contém um grupo de proteínas que se ligam aos espermatozoides, sendo conhecidas como BSP-A1, BSP-A2, BSP-A3 e BSP-30KDa, que possivelmente induzem alterações moleculares na membrana plasmática, essenciais para a capacitação (THERIEN, 1998 e BERGERON, 2004).

A biologia molecular na área da reprodução animal traz novas ferramentas para o melhoramento genético, a utilização de marcadores bioquímicos em líquidos orgânicos que demonstrem potencial genético de um animal cuja seleção de genótipos superiores para determinadas características reprodutivas possam ser incrementadas (RONCOLETTA; FRANCESCHINI, 1999).

A proposta desse estudo foi de investigar a presença e incidência de bandas proteicas específicas do plasma seminal em touros Nelore aptos e parcialmente aptos para a atividade reprodutiva.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em agosto de

2003, no município de Coxim-MS, latitude de 18°30'24" Sul e longitude de 54°45'36" Oeste, altitude de 127 metros e temperatura mínima de 24°C e máxima de 36°C. Foram utilizados 68 touros Nelore, sendo 20 da variedade padrão e 48 da variedade mocha, com idade média de 48 meses, pesando entre 400 e 700 Kg; e médias de 627Kg e 611Kg para o Nelore padrão e mocho, respectivamente, criados extensivamente, em pasto de *Brachiaria decumbens*, sal mineral e água "ad libitum".

As medidas de PE foram tomadas por meio de fita escrotal graduada em centímetros (cm), aferida na região de maior diâmetro. A altura da cernelha (AC) em metros (m) foi mensurada com régua graduada; o peso obtido com a utilização de balança mecânica; IMC calculado por meio da seguinte expressão: $IMC = \text{peso (Kg)} / \text{altura (m)}$.

Foi efetuada uma coleta de sêmen de cada touro, por meio da eletroejaculação¹, mantendo as amostras em banho-maria² entre 32 e 35°C, para as análises imediatas da motilidade progressiva, vigor espermático e turbilhão. Com posterior diluição do sêmen em formol salino tamponado (1:100), para obtenção da concentração espermática em câmara de Neubauer e da morfologia espermática frente a avaliação de 200 células com microscopia óptica de contraste de fase.

Os touros foram classificados segundo as avaliações clínicas e espermáticas em aptos, parcialmente aptos e inaptos para efeito de seleção para monta natural, segundo as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (1998).

Os ejaculados foram centrifugados³ a 1500g por 15 minutos, separando e estocando 1mL do plasma seminal em tubos "ependorf", armazenados a -20°C até a extração e quantificação das proteínas (LAEMILLI, 1970 e BRADFORD, 1976). Posteriormente, foi realizada a eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) em cuba vertical⁴ ligada à fonte elétrica⁵ (50V x 50 mA por 30 minutos; e 300 V x 16 mA por 12 horas). A revelação das bandas proteicas foi feita em solução a 2% de Coomassie blue R-250⁶ até a visualização das mesmas, com posterior utilização de transminador⁷ permitindo a captura, visualização e o processamento de imagens de bandas proteicas reveladas nos géis.

¹ Modelo El macho, Santa Lydia Laboratórios, Presidente Prudente, SP.

² Modelo 100, Fanem, São Paulo, SP.

³ Excelsa baby II – Modelo 206-R – FANEM® SP – Brasil.

⁴ Mightysmall SE 250 / SE 260, cód. 80 – 6149 – 73.

⁵ Electrophoresis – Power Supply – EPS 301, Amersham Pharmacia Biotech.

⁶ USB, 1173, Amersham Life Science.

⁷ Econo Image light cabinet, Alpha Innotech Corporation.

O modelo matemático utilizado foi:

$$x_{ij} = m + g_i + e_{ij}$$

onde:

x_{ij} – é o valor observado na parcela que pertence ao grupo i , na repetição j .

m – média geral

g_i – efeito do grupo i

e_{ij} – efeito do acaso

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com dois grupos, Nelore mocho e Nelore padrão. O grupo Nelore mocho com 48 repetições e 20 para o Nelore padrão. Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F (BANZATTO; KRONKA, 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Frente às mensurações do PE e IMC houve diferença entre as variedades padrão e mocho ($p < 0,05$). No Nelore padrão, o PE foi de $35,05 \pm 0,49$ cm; e de $33,30 \pm 0,39$ cm para o Nelore mocho. O valor médio do IMC para o Nelore padrão foi $302,62 \pm 5,87$ Kg / m²; e de $284,19 \pm 5,15$ Kg/m² para a variedade mocho.

Não houve diferença ($p > 0,05$) para os seguintes parâmetros entre as variedades padrão e mocho, respectivamente: peso $627,70 \pm 11,34$ Kg e $611,58 \pm 8,66$ Kg; AC $1,44 \pm 0,14$ m e $1,47 \pm 0,08$ m; volume do ejaculado $5,82 \pm 0,48$ mL e $5,17 \pm 0,29$ mL; turbilhonamento $4,27 \pm 0,11$ e $3,33 \pm 0,23$; motilidade espermática progressiva $73,50 \pm 2,81\%$ e $75,62 \pm 0,97\%$; e vigor espermático $4,30 \pm 0,19$ e $4,27 \pm 0,11$.

Com relação às médias para a morfologia espermática nas variedades padrão e mocho não houve diferença ($p > 0,05$) sendo de: $5,06 \pm 8,20\%$ e $5,32 \pm 6,40\%$ para os defeitos maiores; $9,91 \pm 6,74\%$ e $8,36 \pm 6,06\%$ para os defeitos menores; e para os defeitos totais $14,76 \pm 13,20\%$ e $13,82 \pm 12,61\%$, respectivamente.

Diferenças individuais entre os perfis em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal foram observadas nos géis corados, estando presentes cadeias polipeptídicas com pesos entre 5 e 105 KDa.

O PE em touros é um parâmetro obtido com praticidade e repetibilidade, apresentando relação com o peso e a idade. As médias obtidas para o PE foram de 33,5 e 37,6 cm para a faixa etária de 36 a 48 meses, segundo a classificação andrológica

de touros *Bos taurus indicus*, predominantemente da raça Nelore, baseado no perímetro escrotal (FONSECA, 1997); sendo superiores à média de 32,2 cm descrita por Pineda et al., (2000). Portanto, observa-se desenvolvimento corporal satisfatório dos touros de ambas variedades utilizados no presente experimento; ratificando as observações de Evans (1996) sugerindo que a maturidade sexual está mais intimamente relacionada ao peso do animal do que a idade, sofrendo a influência de fatores como raça, heterose, balanceamento hormonal e manejo.

O IMC para as variedades padrão e mocho para a raça Nelore foi similar ao valor intermediário de 293,9Kg/m² relatado em touros Limousin, com idades entre 20 e 28 meses (RABESQUINE et al., 2003) e na raça Nelore com idades de 48 meses, com valor médio de 290,0Kg/m² (SANCHEZ et al., 2004).

Todos os touros do presente trabalho apresentaram qualidade seminal satisfatória, concordando com Rabesquine et al. (2003) que relataram que o IMC em torno de 300Kg/m² é um importante fator na produção de espermatozoides. Para a AC Fernandes (1996) verificou herdabilidade alta (0,56) em touros da raça Brahman, entre 8 e 24 meses de idade, criados no clima tropical. A utilização do IMC se mostrou útil para a escolha de indivíduos mais homogêneos do ponto de vista corporal, evitando a presença de animais distoantes da média do rebanho.

O volume dos ejaculados foi semelhante ao descrito por Silva (2002) de 4,0 mL e inferior aos 12 mL citado por Martinez et al. (2000). Estando esse aspecto quantitativo sujeito à variações, principalmente frente ao método de coleta por meio da eletroejaculação. A característica motilidade espermática apresentou média superior às relatadas por Silva (1993) com 65,3% e Sarreiro (2002) com 62,7%; em touros zebuínos. O valor médio para a percentagem de espermatozoides com morfologia normal se mostrou dentro dos limites preconizados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). A morfologia espermática supostamente é influenciada pelos constituintes do plasma seminal, sendo o mesmo um dos responsáveis pela fertilidade observada em touros Limousin (CHACUR et al., 2003) e na raça Nelore (CHACUR et al., 2004).

As bandas correspondentes às proteínas entre 9 e 12 KDa mostraram uma uniformidade de expressão nos touros Nelore padrão e mocho com quadros espermáticos satisfatórios, segundo os critérios adotados pelo CBRA (1998). A Eletroforese revelou proteínas de 13 KDa em 100% dos animais

aptos no exame andrológico. Desnoyers (1994) e Romão (2002) descreveram esta proteína como PDC-109, conferindo alta fertilidade aos touros, agindo de forma direta no metabolismo dos espermatozoides.

A proteína de 18 KDa se apresentou nos touros mochos, com 100% de aptidão reprodutiva; e a proteína de 20 KDa estava presente em 100% nos géis das eletroforeses dos touros da variedade padrão. Sendo a de 20 KDa descrita como seminal-plasmin, e relatada como promotora de alta fertilidade, com ação antimicrobiana no sêmen (KEMME, 1984) e promotora de proteção à membrana plasmática dos espermatozoides de ovinos submetidos ao choque térmico (BARRIOS et al., 2000).

Por outro lado, a proteína de 26 KDa se apresentou em 25% das amostras de plasma seminal dos animais aptos para a reprodução; e em 75% dos touros parcialmente aptos pertencentes às duas variedades. Esta proteína tem sido alvo de estudos por conferir baixa fertilidade aos touros, quando presente no plasma seminal (KILLIAN, 1999; RONCOLETTA; FRANCESCHINI, 1999 e CHACUR et al., 2003). Gerena (2000) descreveu esta proteína como lipocalin; na mesma ocasião Thedeschi (2000) relatou que a mesma liga-se na superfície do espermatozoide no momento da ejaculação, descrevendo-a como Z13.

Hipótese de semelhança entre as proteínas séricas com as do plasma seminal foi levantada, uma vez que essas apresentam mobilidades relativas semelhantes (RATTAN, 1972) aventando a possibilidade da seleção de animais para monta natural ou em coletas do sêmen, ainda antes da puberdade por meio do estudo das proteínas séricas.

No presente estudo, a proteína de 30 KDa apresentou ocorrência em 25% dos animais aptos e em 75% dos parcialmente aptos para a atividade reprodutiva. A proteína de 30 KDa denominada BSP-1 está presente no plasma seminal de touros, estimulando a capacitação espermática (MANJUNATH, 1987). Seguindo o mesmo raciocínio, Therien (1998) relata que a mesma atua na capacitação espermática com a ação conjunta do colesterol. Calvete (1999) associou a ação dessa proteína com a PDC-109.

A proteína de 35 KDa esteve presente em 25% dos animais aptos e em 75% dos parcialmente aptos. Vierula (1983) afirmou que esta proteína ativa o espermatozoide e a reação acrossômica.

A osteopontina, uma proteína de 55 KDa, está associada com a fertilidade quando presente no plasma seminal de bovinos. Esta modula a

função celular pelos receptores e modifica as características da membrana plasmática do espermatozoide, favorecendo a fertilidade, além de participar da capacitação espermática (KILLIAM, 1993; MORANI, 1998; CANCEL, 1999 e GERENA, 2000). No presente estudo essa proteína esteve presente nos animais de ambas variedades que apresentaram quadro espermático satisfatório.

Observou-se no presente trabalho, a presença de uma proteína de 66 KDa, conhecida como albumina (MORANI, 1998 e KILLIAN, 1999). Foi identificada em 66,6% dos animais aptos à reprodução e em 33,3% dos parcialmente aptos. De acordo com Jobim; Mattos (2002) esta auxilia na gametogênese e no metabolismo das células de Sertoli.

A eletroforese revelou a existência de uma proteína de 80KDa, provavelmente a Lactoferrina, presente em 16,6% dos touros aptos; e em 83,3% dos animais parcialmente aptos para a reprodução. Esta proteína atua como antioxidante, protegendo a membrana plasmática dos espermatozoides (FOUCHECOUR et al., 2002).

Neste estudo, a proteína identificada com maior peso molecular foi de 105 KDa, encontrada em 50 % dos animais aptos e em 50 % nos parcialmente aptos à reprodução. Gatti (1999) relatou que esta proteína esteve presente no plasma seminal de bovinos e nas células haplóides da linhagem germinativa, colaborando na gametogênese.

CONCLUSÕES

A presença dos peptídeos de 13, 18 e 20 KDa está diretamente relacionada com a qualidade do sêmen;

Peptídeos de 12, 30, 55, 66, 80, 90 e 105 KDa, quando presentes no plasma seminal, contribuem positivamente com o quadro espermático;

A presença dos peptídeos de 10, 16 e 26 KDa no plasma seminal, interfere de forma negativa frente à aptidão reprodutiva;

A ação conjunta dos peptídeos do plasma seminal auxilia na espermatogênese.

SDS-Page seminal plasma proteins pattern and its relationship with the quality of nelore bull (*bos taurus indicus*) semen

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the

presence and incidence of proteic specific bands of seminal plasma in apt and partially apt Nelore bulls to reproductive activity. Sixty-eight Nelore bulls were used, with twenty of standard variety and forty-eight of mocho variety with average of 4 years old. For the scrotal perimeter (35.05 ± 0.49 cm and 33.30 ± 0.39 cm) and for corporal mass index (302.62 ± 5.89 and 284.19 ± 5.15 Kg/m²) there was difference ($p < 0.05$) between the two varieties standard and mocho, respectively. The corporal weight (627.70 ± 11.34 and 611.58 ± 8.66 Kg), cross height (1.44 ± 0.01 and 1.47 ± 0.01 m); ejaculate volume (5.82 ± 0.48 and 5.17 ± 0.29 mL); progressive spermatic motility (73.50 ± 2.81 and $75.62 \pm 0.97\%$); spermatic vigor (4.30 ± 0.19 and 4.27 ± 0.11) and turbulence (4.27 ± 0.11 and 3.33 ± 0.23) did not differ between the two varieties of bulls. There was no difference ($p > 0.05$) for spermatic morphology between standard and mocho varieties, respectively with $5.06 \pm 8.20\%$ and $5.32 \pm 6.40\%$ for major defects; $9.91 \pm 6.7\%$ and $8.36 \pm 6.06\%$ for minor defects; and $14.76 \pm 13.20\%$ and $13.82 \pm 12.61\%$ for the total defects. The electrophoresis of the seminal plasma showed protein bands weight between 5 and 105 KDa. In 100% of bulls apt for reproduction, the 13 KDa protein weight was present, the same happened with the 18 and 20 KDa bands. The rest of the present protein bands revealed different percentages of incidence in apt or partially apt bulls to reproductive activity. Both varieties, standard and mocho, showed similar and efficient reproductive adaptation for handling and weather conditions.

Keywords: zebu, corporal mass, seminal quality, seminal plasma proteins

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA). **Manual de Inseminação Artificial**. São Paulo, 2003. 42p.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 44p.
- BARRIOS, B.; PÉREZ-PÉ, R.; GALLEGO, M.; TATO, A.; OSADA, J.; MUIÑO-BLANCO, T.; CEBRIÁN-PÉREZ, J.A. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage of ram sperm membrane. **Biology of Reproduction**, New York, v.63, p.1531-1537, 2000.
- BERGERON, A. Comparative study on the phospholipid-binding proteins in seminal plasma of different species. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15., 2004, Porto Seguro. **Abstracts...** Belo Horizonte; Brazilian College of Animal Reproduction, 2004. v.1, p.226.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p.248-54, 1976.
- CALVETE, J.J. Characterization of the conformational and quaternary structure-dependent heparin-binding region of bovine seminal plasma protein PDC-109. **Fabs Letters**, Valencia, v.3, p.260-264, 1999.
- CANCEL, A.M. Osteopontin localization in the Holstein bull reproductive tract. **Biology of Reproduction**, New York, v.60, p.454-460, 1999.
- CHACUR, M.G.M.; RABESQUINE, M.M.; MACHADO NETO, N. B. Seleção da fertilidade em touros e proteínas do plasma seminal: correlação com o quadro espermático. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.27, n.2, p.185-186, 2003.
- CHACUR, M.G.M.; MACHADO NETO, N.B.; RABESQUINE, M.M. Season influence upon seminal plasma proteins in bulls. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, Porto Seguro, 2004 **Abstracts...** Porto Seguro: Brazilian College of Animal Reproduction, 2004, v.1, p.236.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte, 1998. 49p.
- DESNOYERS, L. Characterization of the major proteins of bovine seminal fluid by two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. **Molecular Reproduction and development**, Quebec, v.37, p.425-435, 1994.
- EINSPANIER, R. Characterization of a new bioactive protein from bovine seminal fluid. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Gattinigen, v.179, n.2 p.1006-1010, 1991.

- EVANS, A.C.O. Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. **Theriogenology**, London, v.46, p.345-357, 1996.
- FERNANDES, A. Estimativas de parâmetros genéticos e ambientais de medidas corporais e peso em bovinos da raça Brahman nos trópicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., Fortaleza. 1996. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p.136-138.
- FIELDS, M.J. Age, season and breed effect of testicular volume and semen trails in young beef bull. **Journal of Animal Science**, London, v. 48, p. 1299-1304, 1979.
- FONSECA, V.O. Classificação andrológica de touros zebus (*Bos taurus indicus*) com base no perímetro escrotal e características morfo-físicas do sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.21, n.2, p.36-39, 1997.
- FOUCHECOURT, S.; MÉTAYER, S.; LOCATELLI, A.; DACHEUX, F.; DACHEUX, J.L. Mammalian lipocalin-type prostaglandin D2 synthesis in the fluids of the male genital tract: Putative Biochemical and physiological functions. **Biology of Reproduction**, New York, v.66, n.3, p.468-467, 2002.
- GASSET, M. Conformational features and thermal stability of bovine seminal plasma protein PDC-109 oligomers and phosphorycholine-bound complexes. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 250 p.735-744, 1997.
- GATTI, J.L. A 105 to 94 Kilodalton protein in epididymal fluids of domestic mammals in angiotensin – I covering enzyme (ACE) evidence that sperm are the source of this ace. **Biology of Reproduction**, Monnaie, v.60, p.937-945, 1999.
- GERENA, R.L. Inmunocytochemical localization of lipocalin. Type prostaglandin D, synthase in the bull testis and epididymis and on ejaculated sperm. **Biology of Reproduction**, Pennsylvania, v.62, p.547-556, 2000.
- JOBIM, M.I.; MATTOS, R.C. Albumin and osteopontin — proteins seminal plasma related whit semen freezability. **Brazilian Journal of Animal Reproduction**, São Paulo, v.26, p.296-305, 2002.
- KEMME, M. Characterization of basic proteins of bull seminal plasma. **Hoppe-seyers Physiological Chemical Biology**, Berlin, v.36, p.1173-1181, Oct., 1984.
- KILLIAN, G.J. Fertility-Associated proteins in Holstein bull seminal plasma. **Biology of Reproduction**, Pennsylvania, v.49, p.1202-1207, 1993.
- KILLIAN, G.J. The role of marker protein in reproductive efficiency. Pennsylvania **Veterinary Science Extension**, Pennsylvania, v 29, p.1112-1120, 1999.
- LAEMILLI, U.K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of the bacteriophage T. **Nature**, London, v.277. p.680-685, 1970.
- MANJUNATH, P. Purification and biochemical characterization of three major acidic protein (BSP-A₁, BSP-A₂, and BSP-A₃) from bovine seminal plasma. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.241, p.685-692, 1987.
- MARTINEZ L.M.; VERNEQUE, R.S.; TEODORO, R.L.; PAULA, L.R.O.; CRUZ, M.; CAMPOS, J.P.; RODRIGUES, L.H.; OLIVEIRA, J.; VIEIRA, F.; BRUSCHI, J.H.; DURÃES, M. C. Correlações entre características da qualidade do sêmen e circunferência escrotal de reprodutores da raça Gir. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.3, p.1-15, 2000.
- MORANI, C.V. Polimorfismo da transferrina e albumina e as associações na precocidade sexual em bovinos da raça Nelore doadores de sêmen. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.33, n.6, 1015-1021, 1998.
- MORTARINO, M. Two-dimensional polyacrilamide gel electrophoresis map of Bull seminal plasma proteins. **Electrophoresis**, Milano, v.19, p.797-801, 1998.
- PINEDA, N.R.; FONSECA, V.O.; ALBUQUERQUE, L.G. Estudo preliminar da influência do perímetro escrotal sobre a libido em touros jovens da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.1, p.4-11, fev. 2000.
- PINHO, T.G. Características seminais de touros jovens (Nelore) *Bos taurus indicus* de acordo com

a biometria e morfologia testicular. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.25, p.187-189, 2000.

RABESQUINE, M.M.; CHACUR, M.G.M.; GARCIA, J.P. Morfometria testicular, aspectos seminais e influência do peso corpóreo Sobre a morfologia espermática na raça Limousin. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n.2, 2003.

RATTAN, P.J.S. Electrophoretic studies on bovine semen. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v.42, n.2, p.77-84, 1972.

ROMÃO, M. Crystal structure of acidic seminal fluid protein (a SFP) at 1.9 resolution a bovine polypeptide of the spermadhesin family 1. **Journal of Molecular Biology**, New York, v.274, n.4, p.650-660, may 2002.

RONCOLETTA, M.; FRANCESCHINI, P.H. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros doadores da raça Gir. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.36, n.2, 1999.

SANCHEZ, A.I.; CHACUR, M.G.M.; COUTINHO, N.V. Semen physical and morphological characteristics and corporal mass index of Nelore (*Bos taurus indicus*). In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, Porto Seguro, 2004. **Abstracts...** Porto Seguro: Brazilian College of Animal Reproduction, 2004. v.1, p.196.

SARREIRO, L.C. Herdabilidade e correlação genética entre perímetro escrotal, libido e características seminais de touros Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.54, n.6, 2002.

SILVA, A. **Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidade e fatores que a influenciam**. Campo Grande: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1993. (Relatório).

SILVA, A. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n. 3, 2002.

SMITH, M.F. Estimulation of genetic parameters among soondress examination components and growth traits in pearling bulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, p.2892-2896, 1989.

TEDESCHI, G. Purification and primary structure of a new bovine spermadhesin. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.267, p.6175-6179, 2000.

THERIEN, I. Major protein of bovine seminal plasma and high-density lipoprotein induce cholesterol efflux from epididymal sperm. **Biology of Reproduction**, New York, v.59, p.768-776, 1998.

VIERULA, M. Effect of Seminal Plasma and Calcium on the Stability of the Surface Protein Composition of Ejaculated Bull Spermatozoa. **Andrologia**, Berlin, v.15, p.435-445, Dec., 1983.