

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/04/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PROTEOMA DO PLASMA SEMINAL, FLUIDO EPIDIDIMÁRIO E DOS
ESPERMATOZOIDES COLHIDOS DO EJACULADO E DA CAUDA DO
EPIDÍDIMO DE TOUROS**

DANIEL SAMITH SALGADO CÁRDENAS

Botucatu - SP

Abril/2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PROTEOMA DO PLASMA SEMINAL, FLUIDO EPIDIDIMÁRIO E DOS
ESPERMATOZOIDES COLHIDOS DO EJACULADO E DA CAUDA DO
EPIDÍDIMO DE TOUROS**

DANIEL SAMITH SALGADO CÁRDENAS

Dissertação apresentada á Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
a Defesa de Mestrado do Programa de
Pós-graduação em Biotecnologia Animal

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Ferreira
de Souza

Botucatu – SP

Abril/2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cárdenas, Daniel Samith Salgado.

Proteoma do plasma seminal, fluido epididimário e dos espermatozoides colhidos do ejaculado e da cauda do epidídimo de touros / Daniel Samith Salgado Cárdenas. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Fabiana Ferreira de Souza

Capes: 50504002

1. Touro. 2. Sêmen. 3. Espermatozoides. 4. Epidídimo. 5. Proteômica. 6. Reação acrossômica.

Palavras-chave: Capacitação; Célula-espermática; Epidídimo; Proteômica; Reação-acrossomo.

Nome do autor: Daniel Samith Salgado Cárdenas

PROTEOMA DO PLASMA SEMINAL, FLUIDO EPIDIDIMÁRIO E DOS
ESPERMATOZOIDES COLHIDOS DO EJACULADO E DA CAUDA DO
EPIDÍDIMO DE TOUROS

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Presidente e orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP
- Botucatu /SP

Profa. Dra. Lucilene Delazari Dos Santos

Membro

Departamento Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos
(CEVAP) - UNESP - Botucatu /SP

Dra. Priscilla Nascimento Guasti

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP
- Botucatu /SP

Data da Defesa: 24 de Abril de 2017.

Dedico

*A os meus pais, pela oportunidade da vida, pelo incentivo ao estudo, pelo
amor, carinho e respeito.*

Minha filha que vem em caminho, que é o mais precioso que deus me deu.

Minha irmã pelo apoio incondicional.

*À mim, por realmente acreditar que os sonhos são possíveis de cumprir e de
fazer-se realidade.*

AGRADECIMENTOS

Chegou o momento de escrever e relatar em poucas palavras e escrever em algumas folhas, tantos sentimentos, vivencia aprendidas e experiências de estes anos, desde que se iniciou á ilusão e o sonho de cursar meus estudos de mestrado. Tenho em minha mente tantas coisas que lembrar gratos momentos vividos e também de momentos difíceis como meu trabalho de laboratório.

Foram muitas as pessoas que contribuíram para que eu conseguira este objetivo, por isso eu quero expresar meus agradecimentos.

A Deus por me permitir fazer uma realidade este sonho e pela perseverância que me deu para poder alcançar esta meta, que desde que era uma criança sonhava em fazer um Mestrado, que me tem permitido crescer pessoal e profissionalmente.

A meus pais. Por seu apoio incondicional durante toda minha vida, por seus sábios conselhos, seus ensinamentos, sua formação em valores e por estar sempre ali para que este sonho não falhasse ante as dificuldades, por permitirme ter tido a experiência de viver neste lindo país, e por ter conhecido a tantas maravilhosas pessoas ao longo de minha estadía, amigos que levo no meu coração com infinito carinho.

A minha irmã. Por sua companhia, apoio e por estar me incentivando cada etapa, cada momento de felicidade ou dificuldade, por estos momentos compartilhados na distância de este sonho vivido em Brasil.

Aos familiares, minha namorada Marcela Betin e amigos, que não participaram diretamente deste trabalho, mas que sempre me apoiaram incondicionalmente desde á distancia, para eu ter forças para não desistir e continuar com meus sonhos.

A professora Eunice Oba pela oportunidade que me deu de fazer o mestrado, meus mais sinceros e profundos agradecimentos.

A professora Fabiana Ferreira de Souza. Agradeço pela incansável dedicação e valiosa contribuição na minha formação, por dar-me a oportunidade de iniciar meus estudos de Mestrado, por seus ensinamentos, seu constante apoio científico e confiança no desenvolvimento do meu trabalho de dissertação, é para mim um orgulho de ter como orientadora a uma excelente pessoa, mãe e grande investigadora.

Ao professor Angelo Gardim de Cesar por facilitarme os animais para a colheita do material necessário para a realização do meu projeto, por que pessoas como ele fizeram a diferença para que meu sonho de ser Mestre seja uma realidade de vida.

A Dra Bertha Irina Gastelbondo Pastrana, por contribuir a que este projeto hoje seja uma realidade e por esse apoio a não desistir.

Ao grupo de Pesquisa da Reprodução Animal, pelo apoio durante a realização desse trabalho. Aos incríveis colegas Viviana, Carol, Laiza, que fizeram tudo ser mais fácil e animado.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
RNA _r	Acido ribonucleico ribossomal
MIF	Macrophage migration inhibitory fator
MiRNA	Micro ácido ribonucleico
PGs	Prostaglandinas
pH	Potencial hidrogeniônico, escala logarítmica que mede o grau de acidez, neutralidade ou alcalinidade de uma determinada solução
AMP _c	Adenosina monofosfato cíclico
EROS	Espécie reativa de oxigênio
TP	Proteínas de transição nuclear
HBP	Proteínas de ligação a heparina
OPN	Osteopontina
BSP	Proteína do plasma seminal bovino, Proteínas de ligação espermática
aSFP	Proteína ácida do fluido seminal
pI	Ponto isoelétrico
PLA-2	Fosfolipase A2
SPLN	Plasma seminal
GAG	Glicosaminoglicanos
HDL	Lipoproteína de alta densidade
ELSPBP1	Proteína ligadora do espermatozoide epididimal
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
BLVRA	Biliverdina reductase A
ADAM	Disintegrina A and metaloprotease
MDC	Desintegrina metaloprotease rica em cisteína
RA	Reação acrossomal
PDGS	Prostaglandina D-sintetase tipo Lipocalina
SPP1	Fosfoproteína secretória 1

SUMARIO

CAPÍTULO 1	
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1. Características morfológicas e fisiológicas das células espermáticas	2
2.2. Síntese proteica na célula espermática.....	4
2.3. O epidídimo	6
2.3.1. Transporte dos espermatozoides no epidídimo.....	6
2.3.2. Maturação espermática no epidídimo	7
2.3.3. Armazenamento de espermatozoides no epidídimo.....	8
2.3.4. Proteção dos espermatozoides no epidídimo.....	9
2.3.5. Fluido epididimário.....	10
2.4. Glândulas sexuais acessórias.....	10
2.5. Formação e componentes do ejaculado	11
2.6. Proteômica espermática e dos fluidos do trato reprodutor masculino	11
2.6.1. Proteínas espermáticas	12
2.6.2. Proteínas flagelares	14
2.6.3. Proteínas do fluido epididimário	15
2.6.4. Proteínas do plasma seminal.....	18
REFERÊNCIAS.....	23
HIPÓTESE.....	37
OBJETIVO GERAL	37
OBJETIVOS ESPECIFICOS	37
CAPÍTULO 2	
ARTIGO	36
RESUMO	37
ABSTRACT	38
1. Introdução	39
2. Material e métodos.....	40
2.1. Reagentes	40
2.2. Aspectos éticos.....	40
2.3. Animais.....	40
2.4. Colheita dos espermatozoides do ejaculado e da cauda do epidídimo	40
2.5. Análise seminal.....	41

2.6. Preparação das amostras para análise de proteínas	41
2.8. Precipitação de proteínas em acetona	42
2.9. Digestão trípica dos peptídeos e espectrometria de massas	42
Análise estatística	44
3. Resultados	45
4. Discussão.....	53
Referências.....	62

RESUMO

SALGADO, D. S. PROTEOMA DO PLASMA SEMINAL, FLUIDO EPIDIDIMÁRIO E DOS ESPERMATOZOIDES COLHIDOS DO EJACULADO E DA CAUDA DO EPIDÍDIMO DE TOUROS. Botucatu – SP. 2017, p. 102. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

As proteínas dos fluido e células do sistema reprodutor são constantes objetos de estudo, a fim de elucidar eventos fisiológicos e buscar biomarcadores das funções reprodutivas, facilitando a escolha de reprodutores. Em vista disso, este estudo objetivou caracterizar as proteínas dos espermatozoides do ejaculado e da cauda do epidídimo, do plasma seminal e do fluido epididimário de touros. Foram utilizados 10 touros adultos da raça Brangus. O sêmen foi colhido por eletroejaculação e, posteriormente os machos foram orquiectomizados para a colheita dos espermatozoides e fluido do epidídimo. As células do ejaculado e da cauda do epidídimo foram analisadas subjetivamente após a colheita, e o plasma seminal e fluido do epidídimo foram separados por centrifugação. Então, as amostras foram preparadas para a espectrometria de massas (ESI-QToF MS/MS), com um pool de cada grupo. A concentração de proteínas totais não diferiu entre os grupos. Foram encontradas 67 e 66 proteínas nos espermatozoides do ejaculado e da cauda do epidídimo, e 20 e 16 no plasma seminal e líquido epididimário, respectivamente. Além disso, 52 proteínas foram comuns entre os espermatozoides obtidos do ejaculado e epidídimo, e 9 entre o plasma seminal e fluido epididimário. Atividade catalítica foi a principal função molecular nas células espermáticas; já no plasma seminal foi de ligação e no fluido epididimário, atividade catalítica. As proteínas que se destacaram foram: 14-3-3 protein zeta/delta, A-kinase anchor protein, Calmodulin, Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial, Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 2, Fibronectin type III domain-containing protein 8, Glucose-6-phosphate isomerase, L-amino-acid oxidase, Phosphoglycerate mutase 2, Ropporin-1, Seminal ribonuclease, T-complex protein 1 subunit epsilon, Clusterin, Epididymal secretory protein E1, Serum albumin. Com base nos resultados, conclui-se que há uma importante contribuição das proteínas do plasma seminal para a célula espermática, fornecendo macromoléculas essenciais para a capacitação espermática, reação do acrossomo, ligação espermatozoide-oócito e fertilização; já o fluido epididimário apresenta como principal função manter a integridade e imobilidade dos espermatozoides.

Palavras-chaves: Célula-espermática; Capacitação; Epidídimo; Proteômica; Reação-acrossomo

ABSTRACT

SALGADO, D. S. PROTEOMICS OF SEMINAL PLASMA, EPIDIDYMAL FLUID, SPERMATOZOA COLLECTED OF EJACULATED AND CAUDA OF EPIDIDYMIS. Botucatu – SP. 2017, p. 102. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Proteins of fluid and cells from reproductive system are constant objects of study, in order to elucidate physiological events and to search biomarkers of the reproductive functions, facilitating the breeding selection. Thus, this study aimed to characterize the proteins of the ejaculate and epididymis spermatozoa, the seminal plasma and the epididymal fluid of bulls. Ten adult Brangus bulls were used. The semen was collected by electroejaculation and then, the males were orchietomized for collection of spermatozoa and fluid from the epididymis. The ejaculate and epididymis cells were subjectively analyzed after collection, and the seminal plasma and epididymis fluid were separated by centrifugation. The samples were prepared for mass spectrometry (ESI-QTOF MS/MS), with a pool of each group. Total protein concentration did not differ between groups. We found 67 and 66 proteins in the ejaculate and epididymis spermatozoa, and 20 and 16 in the seminal plasma and epididymal fluid, respectively. Moreover, 52 proteins were common in the spermatozoa obtained from ejaculate and epididymis, and 9 in the seminal plasma and epididymal fluid. Catalytic activity was the main molecular function in sperm cells and epididymal fluid; in the seminal plasma was binding. The main proteins found were: 14-3-3 protein zeta/delta, A-kinase anchor protein, Calmodulin, Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial, Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 2, Fibronectin type III domain-containing protein 8, Glucose-6-phosphate isomerase, L-amino-acid oxidase, Phosphoglycerate mutase 2, Ropporin-1, Seminal ribonuclease, T-complex protein 1 subunit epsilon, Clusterin, Epididymal secretory protein E1, Serum albumin. Based on the results, we concluded that there is an important contribution of seminal plasma proteins to the sperm cell, providing macromolecules essential for sperm capacitation, acrosome reaction, spermatozoa-oocyte binding and fertilization; whereas the epididymal fluid has main function maintained the integrity and nonmotile sperm cells.

Keywords: Acrosome-reaction; Capacitation; Epididymus; Proteomic; Sperm-cell;

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Em vista da necessidade de identificar touros de alta fertilidade, seja para utilização em centrais de comercialização do sêmen, assim como para aplicação em propriedades rurais, ferramentas moleculares têm sido estudadas. Estas ferramentas visam substituir o teste de progênie, um método utilizado para avaliar a capacidade reprodutiva de um macho, o qual é oneroso e demanda tempo para ser conduzido (LARSSON, 2000). Além disso, defeitos subcelulares nas células espermáticas, como as alterações nos componentes da sua superfície, só podem ser estudados utilizando métodos de avaliação molecular (LARSSON, 2000; SARSAIFI et al., 2015).

Tanto a célula espermática como o oócito possuem proteínas indispensáveis para a fertilização (ALBERTS et al., 2002). Assim, as transformações ou modificações sofridas na célula espermática, para a fertilização, incluem várias fases, tais como maturação pós-testicular no epidídimo, capacitação, reação do acrossomo e ligação entre os gametas. Em cada uma dessas fases estão envolvidas proteínas específicas, que exercerão funções na célula espermática durante a fecundação (YANAGIMACHI, 1993).

A adição de proteínas às membranas durante a passagem dos espermatozoides pelo epidídimo e na ejaculação influencia sua capacidade fertilizante (ROBAIRE et al., 2006; MOURA et al., 2007; MOURA et al., 2010). Desta maneira, a análise das proteínas associadas ao espermatozoide durante a espermatogênese ou seu trânsito pelo trato reprodutor masculino, pode ser considerada uma ferramenta multiparamétrica, que além de apresentar uma visão global, também pode identificar marcadores proteicos específicos (BISSONETTE et al., 2009). Em vista disso, os espermatozoides ejaculados diferem dos espermatozoides do epidídimo em muitos fatores, incluindo os tipos de proteínas que estão ligadas à membrana plasmática e as suas características (GOOVAERTS et al., 2006). Apesar disto, as proteínas espermáticas ligadas no epidídimo e sua associação com a fertilidade têm sido pouco estudadas.

Estabelecer a composição das proteínas espermáticas e entender sua relação com a fertilidade, pode ser um ponto de partida para alcançar resultados mais favoráveis nos sistemas de produção bovina (BELLIN et al., 1994), já que a subfertilidade tem que ser avaliada tendo como base transcritos e proteínas

codificadas e adicionadas aos espermatozoides, embora a maioria destas informações sejam consideradas resultado da formação da célula durante a espermatogênese, mas que pode refletir o potencial de fertilidade do ejaculado (BISSONETTE et al., 2009).

Desta maneira, o objetivo deste estudo foi descrever as proteínas do plasma seminal, fluido epididimário e das células espermáticas colhidas do ejaculado e da cauda do epidídimo de touros, a fim de identificar a relação das células com os fluidos do trato reprodutor durante sua armazenagem e na ejaculação.

REFERÊNCIAS*

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the Cell*. 4. ed. New York: Garland Science, 2002.

AMANN, R.; KAVANAUGH, J.; GRIEL L.; VOGLMAYR, J. Sperm production of Holstein bulls determined from testicular spermatid reserves, after cannulation of rete testis or vas deferens, and by daily ejaculation. *J Dairy Sci*. v. 57, n. 1, p. 93-9. 1974.

AMANN, R.P., HAMMERSTEDT, R.H., SHABANOWITZ, R.B. Exposure of human, boar, or bull sperm to a synthetic peptide increases binding to an egg-membrane substrate. *J Androl*. v. 20, n. 1, p. 34-41, 1999.

ASLAM, M. M.; KUMARESAN, A.; SHARMA, V. K.; TAJMUL, M.; CHHILLAR, S.; CHAKRAVARTY, A. K.; YADAV, S. Identification of putative fertility markers in seminal plasma of crossbred bulls through differential proteomics. *Theriogenology*, v. 82, n. 9, p. 1254-1262, 2014.

BABA, T., AZUMA, S., KASHIWABARA, S. I., TOYODA, Y. Sperm from mice carrying a targeted mutation of the acrosin gene can penetrate the oocyte zona pellucida and effect fertilization. *J Biol Chem*, v. 269, n. 50, p. 31845-31849, 1994.

BALHORN, R. The protamine family of sperm nuclear proteins. *Genome Biol*, v. 8, n. 9, p. 1, 2007.

BARBOSA, E. B., VIDOTTO, A., POLACHINI, G. M., HENRIQUE, T., DE MARQUI, A. B. T., TAJARA, E. H. Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. *Rev Assoc Med Bras*, v. 58, n. 3, p. 366-375, 2012.

BELLIN, M. E., HAWKINS, H. E., AX, R. L. Fertility of range beef bulls grouped according to presence or absence of heparin-binding proteins in sperm membranes and seminal fluid. *J Anim Sci*, v. 72, n. 9, p. 2441-2448, 1994.

BENCH, G.S., FRIZ, A.M., CORZETT, M.H., MORSE, D.H., BALHORN, R. DNA and total protamine masses in individual sperm from fertile mammalian subjects. *Cytometry*, v. 23, p. 263-271, 1996.

BERTOK, L.; PASZTOR, L. Paper-electrophoretic studies of seminal plasma proteins. *Acta Vet Hung*, v. 7, p. 439-444, 1957.

BERUBE, B.; SULLIVAN, R. Inhibition of in vivo fertilization by active immunization of male hamsters against a 26-kDa sperm glycoprotein. *Biol Reprod*, v. 51, p. 1255-1263, 1994.

BISSONETTE, N., LÉVESQUE-SERGERIE, J. P., THIBAUT, C., BOISSONNEAULT, G. Spermatozoal transcriptome profiling for bull sperm

* Referências organizadas segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 6023, 2002.

motility: a potential tool to evaluate semen quality. *Reproduction*, v. 138, n. 1, p. 65-80. 2009.

BLASCHUK, O., BURDZY, K., FRITZ, I.B. Purification and characterization of a cell-aggregating factor (clusterin), the major glycoprotein in ram rete testis fluid. *J Biol Chem*, v. 258, n. 12, p. 7714-7720, 1983.

BOE-HANSEN, G. B., REGO, J. P. A., CRISP, J. M., MOURA, A. A., NOUWENS, A. S., LI, Y., MCGOWAN, M. R. Seminal plasma proteins and their relationship with percentage of morphologically normal sperm in 2-year-old Brahman (*Bos indicus*) bulls. *Anim Reprod Sci*, v. 162, p. 20-30. 2015.

BOERKE, A., DIELEMANN S. J., GADELLA, B. M. A possible role for sperm RNA in early embryo development. *Theriogenology*, v. 68, n. 1, p. 147-155. 2007.

BREWER, L., CORZETT, M. AND BALHORN R. Condensation of DNA by spermatid basic nuclear proteins. *J Biol Chem*. v. 277. p. 38895–38900. 2002.

BROWN, P.R., MIKI, K., HARPER, D.B., EDDY, E.M. A-kinase anchoring protein 4 binding proteins in the fibrous sheath of the sperm flagellum. *Biol Reprod*, v. 68, n. 6, p. 2241-2248, 2003.

CABALLERO, J. FRENETTE, G. SULLIVAN, R. Post testicular sperm maturational changes in the bull: important role of the epididymosomes and prostasomes. *Vet Med Int*, v. 2011, p. 1-13. 2010.

CALVETE, J.J., CAMPANERO-RHODES, M.A., RAIDA, M., SANZ, L. Characterisation of the conformational and quaternary structure-dependent heparin-binding region of bovine seminal plasma protein PDC-109. *FEBS Lett*, v. 444, n. 2-3, p. 260-264, 1999.

CANCEL, A. M., CHAPMAN, D. A., KILLIAN, G. J. Osteopontin localization in the Holstein bull reproductive tract. *Biol Reprod*, v. 60, n. 2, p. 454-460, 1999.

CARBONARO, M. Proteomics: Present and future in food quality evaluation. *Trends Food Sci Technol*, v. 15, n. 3, p. 209-216, 2004.

CARDULLO, R.A., FLORMAN, H.M. Strategies and methods for evaluating acrosome reaction. *Methods Enzymol*. v. 225, p. 136-153, 1993.

CARRELL, D. T., EMERY, B. R., Hammoud, S. Altered protamine expression and diminished spermatogenesis: what is the link? *Hum Reprod Update*, v. 13, n. 3, p. 313-327, 2007.

CHANDONNET, L., ROBERTS, K. D., CHAPDELAIN, A., MANJUNATH, P. Identification of heparin-binding proteins in bovine seminal plasma. *Mol Reprod Dev*, v. 26, n. 4, p. 313-318, 1990.

CHEN, J., WANG, Y., WEI, B., LAI, Y., YAN, Q., GUI, Y., CAI, Z. Functional

expression of ropporin in human testis and ejaculated spermatozoa. *J Androl*, v. 32, n. 1, p. 26-32, 2011.

COELINGH, J.P., MONFOORT, C.H., ROZIJN, T.H., LEUVEN, J.A., SCHIPHOF, R., STEYN-PARVÉ, E.P., BRAUNITZER, G., SCHRANK, B., RUHFUS, A. The complete amino acid sequence of the basic nuclear protein of bull spermatozoa. *Biochim Biophys Acta*, v. 285, n. 1, p.1-14, 1972.

COOPER, T. G. Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *J Reprod Fertil*, v. 53. p. 119-136. 1998.

COOPER, T.G., YEUNG, C-H. Sperm maturation in the human epididymis. In: De Jonge C, Barratt C, editors. *The sperm cell production, maturation fertilization regeneration*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. p. 72–107. 2006.

COSENTINO, M. J. COCKETT, A. T. K. Review article: structure and function of the epididymis. *Urol Res*, v. 14, n. 5, p. 229-240, 1986.

CORZETT, M., MAZRIMAS, J., BALHORN, R. Protamine 1: protamine 2 stoichiometry in the sperm of eutherian mammals. *Mol Reprod Dev*. v. 61, n. 4, p. 519-527, 2002.

DACHEUX, J. L., CASTELLA, S., GATTI, J. L., DACHEUX, F. Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. *Theriogenology*, v. 63 n. 2, p. 319-341, 2005.

DACHEUX, J.L., DACHEUX, F., DRUART, X. Epididymal protein markers and fertility. *Anim Reprod Sci*, v. 169, p. 76-87, 2016.

DADOUNE, J.P. Expression of mammalian spermatozoal nucleoproteins. *Microsc Res Tech*, v. 61, p. 56–75. 2003.

DENHARDT, D. T., NODA, M., O'REGAN, A. W., PAVLIN, D., BERMAN, J. S. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest*, v. 107, n. 9, p. 1055-1061, 2001.

DESNOYERS, L., MANJUNATH, P. Major proteins of bovine seminal plasma exhibit novel interactions with phospholipid. *Journal Biol Chem*. v. 15, n. 267, p. 10149-10155, 1992.

DOGAN, S., VARGOVIC, P., OLIVEIRA, R., BELSER, L. E., KAYA, A., MOURA, A., MEMILI, E. Sperm protamine-status correlates to the fertility of breeding bulls. *Biol Reprod*, v. 92, n. 4, p. 1-9, 2015.

DOSTÁLOVÁ, Z., CALVETE, J. J., SANZ, L., HETTEL, C., RIEDEL, D., SCHÖNECK, C., TÖPFER-PETERSEN, E. Immunolocalization and quantitation of acidic seminal fluid protein (aSFP) in ejaculated, swim-up, and capacitated bull spermatozoa. *Biol Chem Hoppe Seyler*, v. 375, n.7, p. 457-462, 1994.

DRUART, X., RICKARD, J.P., MACTIER, S., KOHNKE, P.L., KERSHAW-YOUNG, C.M., BATHGATE, R., GIBB, Z., CROSSETT, B., TSIKIS, G., LABAS, V., HARICHAUX, G., GRUPEN, C.G., DE GRAAF, S.P. Proteomic characterization and cross species comparison of mammalian seminal plasma. *J Proteomics*, v. 8, p. 91:13-22. 2013.

EDDY, E.M., O'BRIEN, D.A. The spermatozoon. In *The Physiology of Reproduction*, E. Knobil and J. D. Neill, eds. (New York, York: Raven Press), p. 29–78. 1994.

EDDY, E. M., TOSHIMORI, K., & O'BRIEN, D. A. Fibrous sheath of mammalian spermatozoa. *Microsc Res Tech*, v. 61, n. 1, p. 103-115, 2003.

ERIKSON, D. W., WAY, A. L., CHAPMAN, D. A., KILLIAN, G. J. Detection of osteopontin on Holstein bull spermatozoa, in cauda epididymal fluid and testis homogenates, and its potential role in bovine fertilization. *Biol Reprod*, v. 133, n. 5, p. 909-917, 2007.

EICKHOFF, R., WILHELM, B., RENNEBERG, H., WENNEMUTH, G., BACHER, M., LINDER, D., BUCALA, R., SEITZ, J., MEINHARDT, A. Purification and characterization of macrophage migration inhibitory factor as a secretory protein from rat epididymis: evidences for alternative release and transfer to spermatozoa. *Mol Med*, v. 7, n. 1, p. 27-35, 2001.

EICKHOFF, R., BALDAUF, C., KOYRO, H.W., WENNEMUTH, G., SUGA, Y., SEITZ, J., HENKEL, R., MEINHARDT, A. Influence of macrophage migration inhibitory factor (MIF) on the zinc content and redox state of protein-bound sulphhydryl groups in rat sperm: indications for a new role of MIF in sperm maturation. *Mol Hum Reprod*. v. 10, n. 8, p. 605-11, 2004.

FAYRER-HOSKEN, R. Anatomy and physiology of the bull's reproductive system. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. v. 13, n. 2. p. 195-202,1997.

FLESCH, FM, GADELLA, BM. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta*. v. 1469, n. 3, p. 197-235, 2000.

FLÖRKE, S., PHI-VAN, L., MÜLLER-ESTERL, W., SCHEUBER, H.P., ENGEL, W. Acrosin in the spermiogenesis of mammals. *Differentiation*, v. 24, n. 3, p. 250-256, 1983.

FOLHADELLA, I. M., CASTRO, T. S., SALVADOR, D. F., SÁ, W. F. D., FERREIRA, A. D. M., RAMOS, A. D. A., SANTORO, M. M. Identificação de proteínas do plasma seminal de touros da raça Gir. *Rev Bras Reprod Anim*, v. 37, p.64-71, 2013.

FORNÉS. M.W., BARBIERI, A., CAVICCHIA, J.C. Morphological and enzymatic study of membrane-bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. *Andrologia*, v. 27, n. 1, p. 1-5, 1995.

FRANZÉN, A., HEINEGÅRD, D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix. *Biochem J. Dec*, v. 15, n. 232 (3), p. 715-724, 1985.

FRENETTE, G., LESSARD, C., SULLIVAN, R. Selected proteins of "prostasome-like particles" from epididymal cauda fluid are transferred to epididymal caput spermatozoa in bull. *Biol Reprod*, v. 67, n. 1, p. 308-313, 2002.

FRENETTE, G., LÉGARÉ, C., SAEZ, F., SULLIVAN. Macrophage migration inhibitory factor in the human epididymis and semen. *Mol Hum Reprod*, v. 11, n. 8, p. 575-582, 2005.

FUJITA, A., NAKAMURA, K. I., KATO, T., WATANABE, N., ISHIZAKI, T., KIMURA, K., NARUMIYA, S. Ropporin, a sperm-specific binding protein of rhophilin, that is localized in the fibrous sheath of sperm flagella. *J Cell Sci*, v. 113, n. 1, p. 103-112, 2000.

FUKUDA, M., SAKASE, M., FUKUSHIMA, M., HARAYAMA, H. Changes of IZUMO1 in bull spermatozoa during the maturation, acrosome reaction, and cryopreservation. *Theriogenology*. v. 86, n. 9, p. 2179-2188, 2016.

GADELLA, B. M., & LUNA, C. Cell biology and functional dynamics of the mammalian sperm surface. *Theriogenology*, v. 81, n. 1, p.74-84, 2014.

GANGULY, I., GAUR, G. K., KUMAR, S., MANDAL, D. K., KUMAR, M., SINGH, U., SHARMA, A. (Differential expression of protamine 1 and 2 genes in mature spermatozoa of normal and motility impaired semen producing crossbred Frieswal (HFx Sahiwal) bulls. *Res Vet Sci*, v. 94, n. 2, p. 256-262, 2013.

GASSET, M., SAIZ, J. L., LAYNEZ, J., SANZ, L., GENTZEL, M., TÖPFER-PETERSEN, E., CALVETE, J. J. Conformational features and thermal stability of bovine seminal plasma protein PDC-109 oligomers and phosphorylcholine-bound complexes. *Eur J Biochem*, v. 250, n. 3, p. 735-744, 1997.

GATEWOOD JM., COOK GR., BALHORN R., SCHMIDCW., BRADBURY EM. Isolation of four core histones from human sperm chromatin representing a minor subset of somatic histones. *Journal Biol Chem*, v. 265, p. 20662–20666, 1990.

GATTI, J. L., CASTELLA, S., DACHEUX, F., ECROYD, H., METAYER, S., THIMON, V., DACHEUX, J. L. Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci*, v. 82, p. 321-339, 2004.

GERENA, R. L., IRIKURA, D., EGUCHI, N., URADE, Y., KILLIAN, G. J. Immunocytochemical localization of lipocalin-type prostaglandin D synthase in the bull testis and epididymis and on ejaculated sperm. *Biol Reprod*, v. 62 n. 3, p. 547-

556, 2000.

GERENA, R. L., IRIKURA, D., URADE, Y., EGUCHI, N., CHAPMAN, D. A., KILLIAN, G. J. Identification of a fertility-associated protein in bull seminal plasma as lipocalin-type prostaglandin D synthase. *Biol Reprod*, v. 58, n. 3, p. 826-833, 1998.

GOOVAERTS, I. G. F., HOFACK, G. G., VAN SOOM, A., DEWULF, J., NICHI, M., DE KRUIF, A., & BOLS, P. E. J. Evaluation of epididymal semen quality using the Hamilton–Thorne analyser indicates variation between the two caudae epididymides of the same bull. *Theriogenology*, v. 66, n. 2, p. 323-330, 2006.

GOLAN, R., COOPER, TG., OSCHRY, Y., OBERPENNING, F., SCHULZE, H., SHOCHAT, L. Changes in chromatin condensation of human spermatozoa during epididymal transit as determined by flow cytometry. *Hum Reprod*, v. 11. p. 1457–1462, 1996.

GONCALVES, R. F., WOLINETZ, C. D., KILLIAN, G. J. Influence of arginine-glycine-aspartic acid (RGD), integrins (αV and $\alpha 5$) and osteopontin on bovine sperm–egg binding, and fertilization in vitro. *Theriogenology*, v. 67, n. 3, p. 468-474, 2007.

GUR, Y., BREITBART, H. Mammalian sperm translate nuclear-encoded proteins by mitochondrial-type ribosomes. *Genes & Development*, v. 20, n. 4, p. 411-416, 2006.

GÜRLER, H., MALAMA, E., HEPPELMANN, M., CALISICI, O., LEIDING, C., KASTELIC, J.P, BOLLWEIN, H. Effects of cryopreservation on sperm viability, synthesis of reactive oxygen species, and DNA damage of bovine sperm. *Theriogenology*, v. 15, n. 86, p. 562-571. 2016.

HAMMERSTEDT, R.H., CRAMER, P.G. Barbatto GE A method and use of polypeptide in sperm-egg binding to enhance or decrease fertility. International Patent Publication Number WO/97/25620. Geneva: World Intellectual Property Organization, p.1-42. 1997.

HASHIMOTO, M., SUN, D., RITTLING, S. R., DENHARDT, D. T., YOUNG, W. Osteopontin-deficient mice exhibit less inflammation, greater tissue damage, and impaired locomotor recovery from spinal cord injury compared with wild-type controls. *J Neurosci*, v. 27, n. 13, p. 3603-3611, 2007.

HE, L., BAILEY, JL., BUHR, M.M. Incorporating lipids into boar sperm decreases chilling sensitivity but not capacitation potential. *Biol Reprod*, v. 64, n. 1. p. 69-79, 2001.

HESS, R.A. Spermatogenesis overview. In: Knobil E, Neild JD, editors. *Encyclopedia of reproduction*, vol. 4. San Diego, CA: Academic Press; p. 539–545, 1999.

HINTON, B.T., PALLADINO, M.A., RUDOLPH, D., LABUS, J.C. The epididymis as protector of maturing spermatozoa. *Reprod Fertil Dev.* 7: p. 731–745, 1995.

HINTON, B.T., PALLADINO, M.A. Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid microenvironment. *Microsc Res Tech.* v. 30, p. 67–8, 1995.

IBRAHIM, N. M., GILBERT, G. R., LOSETH, K. J., CRABO, B. G. Correlation between clusterin-positive spermatozoa determined by flow cytometry in bull semen and fertility. *J Androl*, v. 21, n. 6, p. 887-894, 2000.

IBRAHIM, N. M., TROEDSSON, M. H., FOSTER, D. N., LOSETH, K. J., FARRIS, J. A., BLASCHUK, O., CRABO, B. G. Reproductive Tract Secretions and Bull Spermatozoa Contain Different Clusterin Isoforms That Cluster Cells and Inhibit Complement-induced Cytolysis. *J Androl*, v. 20, n. 2, p. 230-240, 1999.

INOUE, N., IKAWA, M., ISOTANI, A., OKABE, M. The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs. *Nature*, v. 434, n. 7030, p. 234-238, 2005.

INOUE, N., IKAWA, M., OKABE, M. Putative sperm fusion protein IZUMO and the role of N-glycosylation. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 377, n. 3, p. 910-914, 2008.

JOBIM, M. I. M., OBERST, E. R., SALBEGO, C. G., SOUZA, D. O., WALD, V. B., TRAMONTINA, F., MATTOS, R. C. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of bovine seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. *Theriogenology*, v. 61, n. 2, p. 255-266, 2004.

JOHNSON, A. L., HOWARDS, S. S. Intratubular hydrostatic pressure in testis and epididymis before and after long-term vasectomy in the guinea pig. *Biol Reprod*, v. 14, n. 4, p. 371-376, 1976.

JONES, R. C., DACHEUX, J. L., NIXON, B., ECROYD, H.W. Role of the epididymis in sperm competition. *Asian J Androl*. v. 9, n. 4, p. 493-499, 2007.

KILLIAN, G. J.; CHAPMAN, D. A.; ROGOWSKI, L. A. Fertility-associated proteins in Holstein bull seminal plasma. *Biol Reprod*, v. 49, p. 1202-1207, 1993.

LAFLEUR, M., COURTEMANCHE, L., KARLSSON, G., EDWARDS, K., SCHWARTZ, J. L., MANJUNATH, P. Bovine binder-of-sperm protein BSP1 promotes protrusion and nanotube formation from liposomes. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 399, n. 3, p. 406-411, 2010.

LALANCETTE, C., MILLER, D., LI, Y., KRAWETZ, S. A. Paternal contributions: new functional insights for spermatozoal RNA. *J Cell Biochem*, v. 104, n. 5, p. 1570-1579, 2008.

LARSON, B.L., SALISBURY, G.W. The proteins of bovine seminal plasma. 1.

Preliminary and electrophoretic studies. *Journal Biol Chem*, v. 206, p.741-749, 1954.

LARSSON, B., RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Can we use in vitro fertilization tests to predict semen fertility?. *Anim Reprod Sci*, v. 60, p. 327-336, 2000.

LIAW, L., LINDNER, V., SCHWARTZ, S. M., CHAMBERS, A. F., GIACHELLI, C. M. Osteopontin and $\beta 3$ integrin are coordinately expressed in regenerating endothelium in vivo and stimulate arg-gly-asp-dependent endothelial migration in vitro. *Circulation Res*. v. 77, p. 665–672, 1995.

MAGARGEE, SF, CRAMER, PG, HAMMERSTEDT, RH. Increased in vitro binding and fertilizing ability of mouse sperm exposed to a synthetic peptide. *Mol Reprod Dev*. v. 57, n. 4, p. 406-411, 2000.

MAIER, W. M., NUSSBAUM , G., DOMENJOU, D. L., KLEMM, U., ENGEL ,W. The lack of protamine 2 (P2) in boar and bull spermatozoa is due to mutations within the P2 gene. *Nucleic Acids Res*. v. 11, n. 18, p. 1249-54. 1990.

MANJUNATH, P., LEFEBVRE, J., JOIS, P. S., FAN, J., WRIGHT, M. W. New nomenclature for mammalian BSP genes. *Biol Reprod*, v. 80, n. 3, p. 394-397, 2009.

MANJUNATH, P., MARCEL, Y. L., UMA, J., SEIDAH, N. G., CHRETIEN, M., CHAPDELAIN, A. Apolipoprotein AI binds to a family of bovine seminal plasma proteins. *J Biol Chem*, v. 264, n. 28, p. 16853-16857, 1989.

MANJUNATH, P., SAIRAM, M. R. Purification and biochemical characterization of three major acidic proteins (BSP-A1, BSP-A2 and BSP-A3) from bovine seminal plasma. *Biochem J*, v. 241, n. 3, p. 685-692, 1987.

MANJUNATH, P., SOUBEYRAND, S., CHANDONNET, L., ROBERTS, K. D. Major proteins of bovine seminal plasma inhibit phospholipase A2. *Biochem J*, v. 303, n. 1, p. 121-128, 1994.

MANJUNATH, P., THÉRIEN, I. Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. *J Reprod Immunol*, v. 53, n. 1, p. 109-119, 2002.

MANJUNATH, P.; BERGERON, A.; LEFEBVRE, J.; FAN, J. Seminal plasma proteins: functions and interaction with protective agents during semen preservation. *Reprod Domest Anim*, v. 65, p. 217-228, 2007.

MAZZALI, M., KIPARI, T., OPHASCHAROENSUK, V., WESSON, J.A., JOHNSON, R., HUGHES, J. Osteopontin: a molecule for all seasons. *Q J Med*, v. 95, p. 3–13, 2002.

MORALES, C. R., ZHAO, Q., LEFRANCOIS, S., HAM, D. Role of prosaposin in the male reproductive system: effect of prosaposin inactivation on the testis,

epididymis, prostate, and seminal vesicles. *Arch Androl*, v. 44, n. 3, p.173-186, 2000.

MORTARINO, M., TEDESCHI, G., NEGRI, A., CECILIANI, F., GOTTARDI, L., MAFFEO, G., RONCHI, S. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis map of bull seminal plasma proteins. *Electrophoresis*, v. 19, n. 5, p. 797-801, 1998.

MOURA, A. A. Seminal plasma proteins and fertility indexes in the bull: the case for osteopontin. *Anim Reprod*, v. 2, n. 1, p. 3-10, 2005.

MOURA, A. A., ANDRADE, C. R., SOUZA, C. E. A., RÊGO, J. P. A., MARTINS, J. A. M., OLIVEIRA, R. V. MENEZES, E. B. S. Proteínas do plasma seminal, funções espermáticas e marcadores moleculares da fertilidade. *Rev bras reprod anim*, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 139-144, 2011.

MOURA, A. A., CHAPMAN, D. A., KOC, H., KILLIAN, G. J. A comprehensive proteomic analysis of the accessory sex gland fluid from mature Holstein bulls. *Anim Reprod Sci*, v. 98, n. 3, p. 169-188, 2007.

MOURA, A. A., KOC, H., CHAPMAN, D. A., KILLIAN, G. J. Identification of proteins in the accessory sex gland fluid associated with fertility indexes of dairy bulls: a proteomic approach. *J Androl*, v. 27, n. 2, p. 201-211, 2006.

MOURA, A. A., SOUZA, C. E., STANLEY, B. A., CHAPMAN, D. A., KILLIAN, G. J. Proteomics of cauda epididymal fluid from mature Holstein bulls. *J Proteomics*, v. 73, n. 10, p. 2006-2020, 2010.

NAGDAS, S. K., SMITH, L., MCNAMARA, A., HERNANDEZ-ENCARNACION, L., MEDINA-ORTIZ, I. Identification and characterization of a bovine sperm acrosomal matrix protein and its mechanism of interaction with acrosomal hydrolases. *Mol Cell Biochem*, v. 41, n. 1-2, p. 11-23, 2015.

NAUC, V., MANJUNATH, P. Radioimmunoassays for bull seminal plasma proteins (BSP-A1/-A2, BSP-A3, and BSP-30-Kilodaltons), and their quantification in seminal plasma and sperm. *Biol Reprod*, v. 63, n. 4, p. 1058-66, 2000.

O'BRYAN, MK., MURPHY, BF., LIU, DY., CLARKE, G. N., BAKER, H. W. The use of anticlusterin monoclonal antibodies for the combined assessment of human sperm morphology and acrosome integrity. *Hum Reprod*. v. 9, n. 9, p. 1490-1496, 1994.

OIKI, S., HIYAMA, E., GOTOH, T., IIDA, H. Localization of Tektin 1 at both acrosome and flagella of mouse and bull spermatozoa. *Zoolog Sci*, v. 31, n. 2, p. 101-107, 2014.

OLIVA, R. Protamines and male infertility. *Hum Reprod Update*, v. 12, n. 4, p. 417-435, 2006.

PANKHURST, G. J., BENNETT, C. A., EASTERBROOK-SMITH, S. B. Characterization of the heparin-binding properties of human clusterin. *Biochemistry*, v. 37, n. 14, p. 4823-4830, 1998.

PALMER D.J, CHRISTIE D.L. Identification of molecular aggregates containing glycoproteins III, J, K (carboxypeptidase H), and H (Kex2-related proteases) in soluble and membrane fractions of adrenal medullary chromaffin granules. *J Biol Chem*. v. 267, p. 19806–19812, 1992.

PARENT, S., LEFIEVRE, L., BRINDLE, Y., SULLIVAN, R. Bull Subfertility Is Associated With Low Levels of a Sperm Membrane Antigen. *Mol Reprod Dev*, v. 52, p. 57–65, 1999.

PATEL, M. K., CHEEMA, R. S., BANSAL, A. K., GANDOTRA, V. K. A 31-kDa Seminal Plasma Heparin Binding Protein reduces cold shock stress during Cryopreservation of Cross-bred Cattle Bull Semen. *Theriogenology*. 2016.

PHELPS, B.M., PRIMAKOFF, P., KOPPEL, D.E., LOW, M.G., MYLES, D.G. Restricted lateral diffusion of PH-20, a PI-anchored sperm membrane protein. *Science*. v. 24, n. 240, p. 4860:1780-2, 1988.

REGO, J. P. A., CRISP, J. M., MOURA, A. A., NOUWENS, A. S., LI, Y., VENUS, B., MCGOWAN, M. R. Seminal plasma proteome of electroejaculated *Bos indicus* bulls. *Anim Reprod Sci*, v. 148, n. 1, p. 1-17, 2014.

REYES-MORENO, C., BOILARD, M., SULLIVAN, R., SIRARD, M.A. Characterization of secretory proteins from cultured cauda epididymal cells that significantly sustain bovine sperm motility in vitro. *Mol. Reprod. Dev*. V. 63, p. 500–509, 2002.

RIOS, E. A., RUIZ, A. C., GARCIA, D. A., RUBIO, P. J. P. Z., TOBÓN, A. R., GARCIA, A. R. Bases fisiológicas de la capacitación y de la reacción acrosomal del espermatozoide. *ContactoS*, v. 78, p. 5-11, 2010.

ROBAIRE, B., HINTON, B. T., ORGEBIN-CRIST, M. C. The epididymis. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*, v. 1, p. 1071-148. 2006.

RODRÍGUEZ, C. M., DAY, J. R., KILLIAN, G. J. Osteopontin gene expression in the Holstein bull reproductive tract. *J Androl*, v. 21 n. 3, p. 414-420, 2000.

RODRÍGUEZ-VILLAMIL, P., HOYOS-MARULANDA, V., MARTINS, J. A. M., OLIVEIRA, A. N., AGUIAR, L. H., MORENO, F. B., BERTOLINI, M. Purification of binder of sperm protein 1 (BSP1) and its effects on bovine in vitro embryo development after fertilization with ejaculated and epididymal sperm. *Theriogenology*, v. 85, n. 3, p. 540-554, 2016.

ROY, A., LIN, Y. N., AGNO, J. E., DEMAYO, F. J., MATZUK, M. M. Tektin 3 is required for progressive sperm motility in mice. *Mol Reprod Dev*, v. 76, n. 5, p. 453-459, 2009.

SAEZ, F., FRENETTE, G., SULLIVAN, R. Epididymosomes and prostasomes: their roles in posttesticular maturation of the sperm cells. *J Androl*, v. 24, n. 2, p. 149-154, 2003.

SARSAIFI, K., HARON, A. W., VEJAYAN, J., YUSOFF, R., HANI, H., OMAR, M. A., OTHMAN, A. M. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of Bali bull (*Bos javanicus*) seminal plasma proteins and their relationship with semen quality. *Theriogenology*, v. 84, n. 6, p. 956-968, 2015.

SHAMAN, J. A., WARD, W. S. Sperm chromatin stability and susceptibility to damage in relation to its structure. In: De Jonge C, Barratt C, editors. *The sperm cell production, maturation fertilization regeneration*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; p. 31–48, 2006.

SIMÕES, R., FEITOSA, W.B., MENDES, C.M., MARQUES, M.G., NICACIO, A.C., DE BARROS, F.R., VISINTIN, J.A., ASSUMPÇÃO, M.E. use of chromomycin a3 staining in bovine sperm cells for detection of protamine deficiency. *Biotech histochem*. v. 84, n. 3, p. 79-83, 2009.

SIITERI, J. E., ENSRUD, K. M., MOORE, A., HAMILTON, D. W. identification of osteopontin (opn) mrna and protein in the rat testis and epididymis, and on sperm. *Mol Reprod Dev*, v. 40, n. 1, p. 16-28, 1995.

SORENSEN, E. S., PETERSEN, T. E. Identification of two phosphorylation motifs in bovine osteopontin. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 198, n. 1, p. 200-205, 1994.

SOTOLONGO, B., LINO, E., WARD, W. S. Ability of hamster spermatozoa to digest their own DNA. *Biol Reprod*, v. 69, p. 2029–2035. 2003.

SOUZA, C. E. A., MOURA, A. A., MONACO, E., KILLIAN, G. J. Binding patterns of bovine seminal plasma proteins A1/A2, 30kDa and osteopontin on ejaculated sperm before and after incubation with isthmic and ampullary oviductal fluid. *Anim Reprod Sci*, v. 105, n. 1, p. 72-89. 2008.

SULLIVAN, R. Epididymosomes: a heterogeneous population of microvesicles with multiple functions in sperm maturation and storage. *Asian J Androl*, v. 17, 5, p. 726. 2015.

SULLIVAN, R., SAEZ, F., GIROUARD, J., FRENETTE, G. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cells Mol Dis*, v. 35, n. 1, p. 1-10. 2005.

SULLIVAN, R., SAEZ, F. Epididymosomes, prostasomes, and liposomes: their roles in mammalian male reproductive physiology. *Reproduction*. v. 14, n. 146, p. 21-35. 2013.

SUTOVSKY, P., MANANDHAR, G. Mammalian spermatogenesis and sperm

structure: anatomical and compartmental analysis. In: De Jonge C, Barratt C, editors. The sperm cell production, maturation fertilization regeneration. Cambridge, UK: Cambridge University Press, p. 1–30. 2006.

SUTOVSKY, P., LOVERCAMP, K. Molecular markers of sperm quality. *Soc Reprod Fertil Suppl*, v. 67, p. 247–256. 2010.

SUTOVSKY, P., MORENO, R., RAMALHO-SANTOS, J., DOMINKO, T., THOMPSON, W. E., SCHATTEN, G. A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis. *J Cell Sci*, v. 114, n. 9, p. 1665-1675. 2001.

SYLLA, L., PALOMBI, C., STRADAIOLI, G., VAGNILUCA, A., & MONACI, M. Effect of semen collection by transrectal massage of accessory sexual glands or artificial vagina on the outcome of breeding soundness examinations of Italian yearling beef bulls. *Theriogenology*, v. 83, n. 5, p. 779-785. 2015.

SYLVESTER, S.R., MORALES, C., OKO, R., GRISWOLD, M.D. Localization of sulfated glycoprotein-2 (clusterin) on spermatozoa and in the reproductive tract of the male rat. *Biol Reprod*. v. 45, n. 1, p. 195-207. 1991.

SMITH, R., KAUNE, H., PARODI, D., MADARIAGA, M., RIOS, R., MORALES, I., CASTRO, A. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod*. v. 21, n. 4, p. 986-993. 2006.

SCHONECK, C. J., BRAUN, R. Einspanier Sperm viability is influenced in vitro by the bovine seminal protein aSFP: effects on motility, mitochondrial activity and lipid peroxidation. *Theriogenology*, v. 45, p. 633–642. 1996.

TAKIGUCHI, H., MURAYAMA, E., KANEKO, T., KURIO, H., TOSHIMORI, K., IIDA, H. Characterization and subcellular localization of Tektin 3 in rat spermatozoa. *Mol Reprod Dev*, v. 78, n. 8, p. 611-620. 2011.

TEDESCHI, G., OUNGRE, E., MORTARINO, M., NEGRI, A., MAFFEO, G., RONCHI, S. Purification and primary structure of a new bovine spermadhesin. *Eur J Biochem*, v. 267, n. 20, p. 6175-6179. 2000.

THERIEN, I., BERGERON, A., BOUSQUET, D., MANJUNATH, P. Isolation and characterization of glycosaminoglycans from bovine follicular fluid and their effect on sperm capacitation. *Mol Reprod Dev*, v. 71, n. 1, p. 97-106. 2005.

THERIEN, I., MOREAU, R., MANJUNATH, P. Major proteins of bovine seminal plasma and high-density lipoprotein induce cholesterol efflux from epididymal sperm. *Biol Reprod*, v. 59, n. 4, p. 768-776. 1998.

THERIEN, A., MANJUNATH, P., LAFLEUR, M. Chemical and physical requirements for lipid extraction by bovine binder of sperm BSP1. *Biochim Biophys Acta*, v. 1828, n. 2, p. 543-551. 2013.

THÉRY, C., ZITVOGEL, L., AMIGORENA, S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol.* v. 2, n. 8, p. 569-579. 2002.

TOPFER-PETERSEN, E., ROMERO, A., VARELA, P. F., EKHLASI-HUNDRIESER, M., DOSTALOVA, Z., SANZ, L., CALVETE, J. J. Spermadhesins: a new protein family. Facts, hypotheses and perspectives. *Andrologia*, v. 30, n. 4-5, 217-224. 1998.

TUNG, P. S., FRITZ, I. B. Immunolocalization of clusterin in the ram testis, rete testis, and excurrent ducts. *Biol Reprod*, v. 33, n. 1, p. 177-186. 1985.

WAI, P. Y., KUO, P. C. The role of osteopontin in tumor metastasis. *J Surg Res*, v. 121, n. 2, p. 228-241. 2004.

WALES, R. G., WALLACE, J. C., WHITE, I. G. Composition of bull epididymal and testicular fluid. *J Reprod Fertil.* v. 12, n. 1, p. 139-44. 1966.

WARD WS. Deoxyribonucleic acid loop domain tertiary structure in mammalian spermatozoa. *Biol Reprod*, v. 48, p. 1193–201. 1993.

WATERS, S. I., WHITE, J. M. Biochemical and molecular characterization of bovine fertilin alpha and beta (ADAM 1 and ADAM 2): a candidate sperm-egg binding/fusion complex. *Biol Reprod*, v. 56, n. 5, p.1245-1254. 1997.

WEMPE, F., EINSPANIER, R., SCHEIT, K. H. Characterization by cDNA cloning of the mRNA of a new growth factor from bovine seminal plasma: acidic seminal fluid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 183, n. 1, p. 232-237. 1992.

WESTFALEWICZ, B., DIETRICH, M.A., MOSTEK, A., PARTYKA, A., BIELAS, W., NIŻAŃSKI, W., CIERESZKO., A. Analysis of bull (*Bos taurus*) seminal vesicle fluid proteome in relation to seminal plasma proteome. *J Dairy Sci.* v. 100, n. 3, p. 2282-2298. 2017.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD (eds) *The physiology of reproduction*. Raven Press, New York, p. 189–317. 1993.

YANAGIMACHI, R., KAMIGUCHI, Y., MIKAMO, K., SUZUKI, F., YANAGIMACHI, H. Maturation of spermatozoa in the epididymis of the Chinese hamster. *Am J Anat.* V. 172, n. 4, p. 317-30. 1985.

YOON, S. J., RAHMAN, M. S., KWON, W. S., PARK, Y. J., PANG, M. G. addition of cryoprotectant significantly alters the epididymal sperm proteome. *PLoS One*, v. 11, n. 3, 2016.

YOUNG, S. A., AITKEN, J., BAKER, M. A. Phosphorylation of Izumo1 and Its Role in Male Infertility. *Asian J Androl.* v. 17, 5, p. 708-10. 2015.

ZALATA, A. A., CHRISTOPHE, A. B., DEPUYDT, C. E., SCHOONJANS, F.,

COMHAIRE, F. H. The fatty acid composition of phospholipids of spermatozoa from infertile patients. *Mol Hum Reprod*, v. 4, n. 2, p. 111-8. 1998.