

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

SAMARA SANDY JERÔNIMO MOREIRA

INFLUÊNCIA DO PERÍODO CLIMÁTICO SOBRE OS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS DO PLASMA SEMINAL DE CATETOS (Pecari tajacu LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM REGIÃO SEMIÁRIDA

SAMARA SANDY JERÔNIMO MOREIRA

INFLUÊNCIA DO PERÍODO CLIMÁTICO SOBRE OS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS DO PLASMA SEMINAL DE CATETOS (Pecari tajacu LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM REGIÃO SEMIÁRIDA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, como exigência final para obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia e biotecnologia animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva- UFERSA.

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

M835i Moreira, Samara.

INFLUÊNCIA DO PERÍODO CLIMÁTICO SOBRE OS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS DO PLASMA SEMINAL DE CATETOS (Pecari tajacu LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM REGIÃO SEMI-ÁRIDA / Samara Moreira. - 2019. 75 f. : il.

Orientador: Alexandre Silva. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2019.

1. Bioquímica. 2. Plasma seminal . 3. Semiárido. I. Silva, Alexandre, orient.II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Bibliotecário-Documentalista Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000) SAMARA SANDY JERÔNIMO MOREIRA

INFLUÊNCIA DO PERÍODO CLIMÁTICO SOBRE OS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS DO PLASMA SEMINAL DE CATETOS (Pecari tajacu LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM REGIÃO SEMIÁRIDA

Dissertação apresentada ao Mestrado em ência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia e Biotecnologia Animal

Defendida em: 19 / 02/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva – UFERSA

Mussandra Europades Pereina Profa. Dra. Alexsandra Fernandes Pereira – UFERSA

Profa. Dra. Annice Aquino Cortez - UNIFOR/FATENES

Samara Sandy Jewino Moreira Samara Sandy Jerônimo Moreira (Discente)

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

SAMARA SANDY JERÔNIMO MOREIRA – Nascida no Município de Russas – CE, no dia 01.04.1994, filha de Fátima Coêlho Jerônimo e José Evamberto Moreira, concluiu o Ensino Médio na escola Unidade Educacional Coração Imaculado de Maria - UNECIM, CE. Graduou-se em Biotecnologia pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) em 2016.1, onde foi bolsista PIVIC por um ano e PIBIC por um semestre. Durante a graduação, desenvolveu trabalhos sobre a conservação de material genético de espécies silvestres. Em Março de 2017 foi selecionada pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA/UFERSA). Durante o período do mestrado, foi colaboradora na disciplina de Fisiopatologia da Reprodução, ginecologia e obstetrícia veterinária e biotecnologia da reprodução do curso de Medicina Veterinária da mesma instituição.

A **Deus**, por sua infinita misericórdia e proteção. Por demonstrar sua presença todos os dias da minha vida.

A **Fátima Coêlho Jerônimo**, minha mãe e amiga, por está sempre presente em minha vida e me apoiar nas minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Agradeço á Deus que me conduziu pelos melhores caminhos durante toda minha caminhada e nunca me deixou desistir dos meus sonhos, me mantendo sempre no foco dos meus objetivos e me dando oportunidades maravilhosas.

A minha mãe, Fátima Coêlho Jerônimo, por toda a dedicação, companheirismo e por sempre está ao meu lado. Obrigado por tudo que faz por mim! Te amo!

Ao meu namorado, Francisco Lucas Vieira dos Santos, por sempre me apoiar seja qual for a situação, mas acima de tudo ser esse homem tão especial na minha vida, por tornar meus dias muito mais felizes. Te amo!

A toda equipe do Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal (LCGA) da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) pela disponibilidade nos experimentos, companheirismo no dia-a-dia e acima de tudo, pela amizade. Obrigada!

Ainda, agradeço ao professor Alexandre Rodrigues Silva pela orientação em mais uma etapa na minha carreira acadêmica, além dos inúmeros conhecimentos compartilhados que sem dúvida foram e são essenciais para o meu engrandecimento profissional.

Ao Professor Moacir Franco de Oliveira e funcionários do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da UFERSA por tornarem possível a realização do experimento do qual originou a minha dissertação.



INFLUÊNCIA DO PERÍODO CLIMÁTICO SOBRE OS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS DO PLASMA SEMINAL DE CATETOS (Pecari tajacu LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM REGIÃO SEMI-ÁRIDA

MOREIRA, Samara Sandy Jerônimo. Influência do período climático sobre os constituintes bioquímicos do plasma seminal de catetos (*Pecari tajacu Linnaeus*, 1758) criados em região semiárida. 2019. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2019.

RESUMO: O cateto é um tayassuídeo abundante na fauna sul-americana, de grande potencial ecológico e econômico. A fim de estender o conhecimento a respeito da sua biologia reprodutiva, estudou-se a influência dos períodos climáticos em um clima semiárido sobre seus parâmetros seminais e perfil bioquímico do plasma seminal. Para isso, o ejaculado de 12 machos adultos foi obtido por eletroejaculação durante o período seco (setembro a novembro de 2017) e chuvoso (fevereiro a abril de 2018) e em seguida analisados quanto ao volume, concentração, motilidade, funcionalidade da membrana, integridade da membrana, estado de condensação da cromatina, morfologia espermática e pH. Para análise bioquímica, as amostras foram centrifugadas a 385 ×g por 10 minutos e o sobrenadante armazenado a -20°C até análise, no qual foram aquecidos a 25°C por 2 minutos e analisados por meio de kits bioquímicos comerciais, cujas absorbâncias foram mensuradas em espectrofotômetro mediante os comprimentos de ondas sugeridos por cada kit. Os resultados foram expressos em média e erro padrão e comparados por ANOVA seguida do teste de Tukey (P<0,05). Os parâmetros espermáticos e bioquímicos foram correlacionados entre si através da correlação de Spearman (p<0,05). Durante o período seco, os ejaculados apresentaram volume de 1,85 ± 0.4 mL, concentração de 245.8 ± 50.2 espermatozoides/mL, $64.3 \pm 6.4\%$ de espermatozoides móveis, $75.3 \pm 5.5\%$ de espermatozoides com membrana funcional, $84.9 \pm 2.3\%$ de espermatozoides com membrana íntegra, $99.6 \pm 0.1\%$ de espermatozoides com cromatina condensada, $80.4 \pm 4\%$ espermatozoides morfologicamente normais e pH 7.9 ± 0.3^{a} . No período chuvoso, obtiveram valores de 1,87 ± 0,5 mL para volume, concentração de 295,8 ± 60,6 espermatozoides/mL, $58,5 \pm 9,1\%$ de espermatozoides móveis, $80,3 \pm 2,9\%$ de espermatozoides com membrana funcional, $81.8 \pm 1.3\%$ de espermatozoides com membrana íntegra, 99,1 ± 0,3% de espermatozoides com cromatina condensada, 72,1 ± 7,1% espermatozoides normais e pH 8,5 ± 0,3^b. Quanto ao perfil bioquímico, não foram identificadas diferenças (P>0,05) entre as estações para vários constituintes do plasma seminal, com valores de 140,8 ± 36,03 mg/dL e 169,7 ± 19,9 mg/dL para ácido cítrico, 152,3 \pm 33,65 mg/dL e 332,0 \pm 99,6 mg/dL para colesterol, 8,0 \pm 2,26 g/dL e 7,0 \pm 1,5 g/dL para proteínas totais, 5.7 ± 0.5 mg/dL e 5.9 ± 0.24 mg/dL para magnésio, 315.6 ± 103.94 mEq/L e 271.3 ± 45.57 mEq/L para cloretos, 9.4 ± 3.26 g/dL e 3.0 ± 0.64 g/dL para albumina e 12.3 ± 0.04 5.0 mg/dL e $75.1 \pm 39.53 \text{ mg/dL}$ para fósforo, $210.9 \pm 93.9 \text{ µg/dL}$ e $423.2 \pm 228.1 \text{ µg/dL}$ para o ferro e 403.6 ± 117.6 mmol/L e 198.4 ± 108.0 mmol/L para frutosamina, obtidos durante as estações seca e chuvosa, respectivamente. Por outro lado, a frutose (115,7 ± 44,2° mg/dL/ 849.2 ± 142.6^{b} mg/dL) e o cálcio (15.6 ± 5.09^a mg/dL/32.3 ± 5.3^b mg/dL) foram significativamente mais predominantes no período chuvoso (P<0,05). Em conclusão, os períodos (seco e chuvoso) em clima semiárido exercem ação sobre a qualidade seminal e alguns constituintes bioquímicos (frutose e cálcio) do plasma seminal, além disso, estes componentes bioquímicos exercem ação sobre a qualidade espermática de catetos.

Palavras-chave: Bioquímica, plasma seminal, semiárido.

INFLUENCE OF THE CLIMATE PERIOD ON THE BIOCHEMICAL CONSTITUENTS OF THE SEMINAL PLASMA OF COLLARED PECCARY (PECCARY TAJACU LINNAEUS, 1758) CREATED IN REGION SEMIARID

MOREIRA, Samara Sandy Jerônimo. Influence of the climate period on the biochemical constituents of the seminal plasma of Collared peccary (Peccary tajacu Linnaeus, 1758) created in region semiarid. 2019. 75 f. Dissertation (Master degree) - Master's Degree in Animal Science, Federal Rural University of Semiarid, Mossoró, 2019.

ABSTRACT: The Collared peccary is a Tayassuid abundant in the South American fauna, of great ecological and economic potential. In order to extend the knowledge about its reproductive biology, we studied the influence of climatic periods in a semiarid climate on its seminal parameters and biochemical profile of seminal plasma. For this, the ejaculate of 12 adult males was obtained by electroejaculation during the dry period (September to November 2017) and rainy (February to April 2018) and then analyzed for volume, concentration, motility, membrane functionality, integrity of the membrane, condensation status of chromatin, sperm morphology and pH. For biochemical analysis, the samples were centrifuged at 385 × g for 10 minutes and the supernatant stored at -20 ° C until analysis, where they were heated at 25 ° C for 2 minutes and analyzed by commercial biochemical kits, whose absorbances were measured in a spectrophotometer using the suggested wavelengths of each kit. The results were expressed as mean and standard error and compared by ANOVA followed by the Tukey test (P < 0.05). The sperm and biochemical parameters were correlated to each other through the Spearman correlation (p <0.05). During the dry period, the ejaculates presented volume of 1.85 \pm 0.4 mL, concentration of 245.8 \pm 50.2 spermatozoa / mL, $64.3 \pm 6.4\%$ of mobile spermatozoa, 75.3 ± 5 , 5% spermatozoa with functional membrane, $84.9 \pm 2.3\%$ spermatozoa with whole membrane, $99.6 \pm 0.1\%$ spermatozoa with condensed chromatin, $80.4 \pm 4\%$ morphologically normal spermatozoa and pH 7.9 ± 0.3^a . In the rainy season, the values obtained were 1.87 \pm 0.5 mL for volume, 295.8 \pm 60.6 sperm / mL, $58.5 \pm 9.1\%$ for spermatozoa, 80.3 ± 2.9 % of spermatozoa with functional membrane, $81.8 \pm 1.3\%$ spermatozoa with intact membrane, $99.1 \pm 0.3\%$ spermatozoa with condensed chromatin, $72.1 \pm 7.1\%$ normal spermatozoa and pH 8.5 ± 0.3^{b} . Concerning the biochemical profile, no differences (P> 0.05) were found between the stations for several constituents of the seminal plasma, with values of 140.8 ± 36.03 mg / dL and 169.7 ± 19.9 mg / dL for citric acid, 152.3 ± 33.65 mg / dL and 332.0 ± 99.6 mg / dL for cholesterol, 8.0 ± 2.26 g / dL and 7.0 ± 1.5 g / dL for total proteins, 5.7 ± 0.5 mg / dL and 5.9 ± 0.24 mg / dL for magnesium, 315.6 ± 103.94 mEq / L and 271.3 ± 45.57 mEq / L for chlorides , 9.4 ± 3.26 g / dL and 3.0 ± 100.00 0.64 g / dL for albumin and $12.3 \pm 5.0 \text{ mg}$ / dL and $75.1 \pm 39.53 \text{ mg}$ / dL for phosphorus, 210 $1, 9 \pm 93.9 \,\mu g \,/\,dL$ and $423.2 \pm 228.1 \,\mu g \,/\,dL$ for iron and $403.6 \pm 117.6 \,mmol \,/\,L$ and $198.4 \pm 119.6 \,\mu g \,/\,dL$ 108.0 mmol / L for fruits, obtained during dry and rainy seasons, respectively. On the other hand, fructose (115.7 \pm 44.2° mg / dL / 849.2 \pm 142.6° mg / dL) and calcium (15.6 \pm 5.09° mg $/ dL / 32.3 \pm 5.3^b mg / dL$) were significantly more prevalent in the rainy season (P < 0.05). In conclusion, the periods (dry and rainy) in semiarid climate exert an effect on the seminal quality and some biochemical constituents (fructose and calcium) of the seminal plasma, in addition, these biochemical components exert action on the sperm quality of Collared peccary.

Keywords: Biochemistry, seminal plasma, semiarid.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

 Mean values (±SEM) for collared peccaries' (n = 12) semen parameter obtained through electroejaculation during dry and rainy periods of a semiaric climate 	Γable 1 –
 Mean values (±SEM) for collared peccaries' (n = 12) sperm kinetic motility patterns in ejaculates obtained through electroejaculation during dry and rainy periods of a semiarid climate	Γable 2 –
 Mean values (±SEM) for collared peccaries' (n = 12) seminal plasma biochemical contents found during dry and rainy periods of a semiaric climate	Γable 3 –
- Correlations (r) between the biochemical components of the seminal plasma and the semen metrics in collared peccaries	Γable 4 –

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

g Grama

mg Miligrama

μg Micrograma

L Litro

dL Decilitro

mEq Miliequivalente

mmol Milimol

LISTA DE SÍMBOLOS

- % Porcentagem
- < Menor que
- > Maior que
- = Igual
- ± Mais ou menos
- x Vezes
- °C Graus Celsius
- 10⁶ Milhões

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Produção de plasma e espermatozoides em catetos	18
2.2	Características seminais de catetos.	19
2.3	Plasma seminal	21
i	Contribuição do líquido epididimário para o plasma seminal	21
ii	Secreções das glândulas acessórias	22
iii	Constituintes bioquímicos do plasma seminal	23
iv	Peculiaridades do plasma seminal dos suínos	28
v	O plasma seminal de catetos	30
vi	Métodos de avaliação bioquímico do plasma seminal	31
2.4	Influência da estacionalidade no plasma seminal	33
3	JUSTIFICATIVA	37
4	HIPÓTESES CIENTÍFICAS	38
5	OBJETIVOS	39
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	CAPÍTULO 1: Biochemical profile of collared peccary seminal plasma	
	obtained during dry and rainy periods in a semiarid climate	50
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	7 0
8	PESPECTIVAS	71
	ANEXOS	72

1. INTRODUÇÃO

O cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) é integrante da família Tayassuidae, o qual se distribui desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, estando presente nos mais variados habitats, incluindo florestas, savanas e deserto (SANTOS et al., 2000). Atualmente sua população é considerada globalmente estável em relação ao risco de extinção, mas apresenta-se em declínio em alguns biomas como a Mata Atlântica (GONGORA et al., 2011). Esta espécie se destaca por sua importância ecológica na manutenção do ecossistema (FONTANA et al., 2003; DESBIEZ & KEUROGHLIAN 2009), e econômica através do uso de sua pele para fabricação de artigos de couro, além da comercialização de sua carne (NOGUEIRA FILHO E NOGUEIRA, 2004). Além disso, seu uso é sugerido como modelo experimental para outras espécies consideradas próximas, sendo possível salvaguardar e resgatar populações vulneráveis ou ameaçadas de extinção (GOBELLO; CORRADA, 2003), como é o caso do Queixada (*Tayassu pecari*) (KEUROGHLIAN et al., 2013) e Taguá (*Catagonus wagneri*) (ALTRICHTER et al., 2015).

Na literatura corrente, diversos trabalhos relativos à fisiologia reprodutiva dos machos de catetos já foram desenvolvidos. Dentre esses, podem-se destacar importantes informações obtidas acerca da variação sazonal na testosterona sérica, mensurações testiculares e características do sêmen em animais criados no Texas, Estados Unidos (HELLGREN et al., 1989), do comprimento do ciclo espermatogênico e produção de espermatozoides (COSTA et al., 2010), da variação individual relativa às suas características seminais e a correlação destas com a biometria testicular (PEIXOTO et al., 2012), da avaliação morfológica e morfométrica dos espermatozoides (SOUSA et al., 2013), da influência dos parâmetros ambientais sobre a congelabilidade de espermatozoides de catetos criados no semiárido nordestino brasileiro (MAIA et al., 2018), e recentemente, dos efeitos ambientais sobre a testosterona sérica, morfologia testicular e qualidade seminal em catetos criados no bioma Caatinga sob clima semiárido (MAIA et al., 2019).

Quanto ao plasma seminal de catetos, os estudos ainda são restritos. As informações encontradas na literatura até o presente momento remetem aos constituintes proteicos e enzimáticos do plasma seminal de catetos coletados durante o período seco em clima semiárido. O primeiro trabalho identificou 23 diferentes proteínas entre estas a PSP 1 (Porcine seminal plasma protein1) (20,9%), clusterina (19,8%) e BDH - 2

(Bodesina 2) (10,2%), além de outras proteínas como glutationa peroxidase secretada do epidídimo (6,2%), albumina (2,6%) e anexina 5 (2,0%) (SANTOS et al., 2014). O segundo trabalho identificou vestígios da enzima superóxido dismutase (0,033 ± 0,049 AU/mgP) nos ejaculados de catetos, não evidenciando qualquer correlação com os parâmetros espermáticos da espécie (SANTOS et al., 2018).

Este limite de informações denota a necessidade por maiores estudos acerca dos demais constituintes bioquímicos presentes neste importante fluido biológico que compõe o sêmen nesta espécie. Essa importância se deve em virtude destes constituintes poderem influenciar diretamente a qualidade seminal, alterando suas concentrações em decorrência da raça (CIERESZKO et al., 2000), idade (FRASER et al., 2016) variabilidade individual (FLOWERS, 2008) e estação do ano (MURASE et al., 2007), como já verificado em caprinos (CATUNDA et al., 2009; CATUNDA et al., 2012; AGUIAR et al., 2013) e suínos (MURASE et al., 2007; ZASIADCZYK et al., 2015; FRASER et al., 2016).

Levando-se em consideração esses aspectos, estas informações podem ser úteis para um melhor entendimento a respeito da fisiologia reprodutiva desta espécie de modo que sejam incrementados ajustes necessários na tecnologia de sêmen em catetos, possibilitando desta forma, alcançar ainda mais êxito nas taxas de células potencialmente viáveis após o uso da criopreservação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de plasma e espermatozoides em catetos

Os catetos são considerados próximos filogeneticamente aos suínos domésticos, compartilhando a subordem dos suiformes (SOWLS, 1997). Esta espécie se torna madura sexualmente a partir dos 11 meses de idade (BELLATONI, 1991), iniciando sua espermatogênese também aos 11 meses, cujo ciclo espermatogênico tem duração de $12,3\pm0,2$ dias e todo o processo de espermatogênese $55,1\pm0,7$ dias (COSTA et al., 2010;GUIMARAES et al., 2013).

A espermatogênese em catetos e suínos se equiparam visto a elevada competência na produção de espermatozoides, competência esta que é estabelecida através da alta dimensão volumétrica do epitélio seminífero comparada ao das células de Sertoli (RUSSELL et al., 1990). Neste sentido, os catetos apresentam elevadas dimensões volumétricas de túbulo seminífero, correspondendo a 84% do parênquima e pequenos valores de células de Sertoli por grama de testículo (19×10⁶) (COSTA et al., 2004).

Estes animais são caracterizados pela presença na região dorsal de uma glândula produtora de uma secreção esbranquiçada com odor peculiar. Tal secreção é utilizada principalmente na identificação de territórios e como método de comunicação interespecífico (SOWLS, 1984). Esta glândula sofre influência da testosterona, a qual em baixas concentrações promove alterações, inclusive fisiológica, nas unidades secretórias da porção caudal da glândula (SILVA et al., 2005).

Seu sistema reprodutor masculino encontra-se representado por testículos, cordões espermáticos, glândulas acessórias (vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais), uretra, pênis e prepúcio (GARCIA et al., 2014). Quando comparado aos suínos, os testículos são posicionados numa porção mais ventral em virtude da curvatura dorsal (SONNER et al., 2004). Esta espécie não apresenta dimorfismo sexual, porém os machos são facilmente identificados a partir da bolsa testicular (NOGUEIRA FILHO E LAVORENTI, 1997; SOWLS, 1997; JACOMO, 2004) localizada na região pélvica, entre a região perineal e inguinal (SONNER et al., 2004).

No tocante às glândulas acessórias, uma das principais fontes do plasma seminal, as glândulas vesiculares encontram-se envoltas por um tecido fibroso, de coloração esbranquiçada e com formato semelhante a um cacho de uva, localizadas próximas à bexiga e a uretra, tais glândulas se dirigem através de um canal até a

próstata. A próstata possui um tamanho inferior às glândulas vesiculares, com formato arredondado, localizando-se na porção final da bexiga e início da uretra. Quanto as glândulas bulbouretrais, estas possuem um formato cilíndrico, medindo 5 cm de comprimento e localizadas ao lado da uretra pélvica, sendo responsável pela produção de uma substância transparente e gelatinosa que atua como um tampão seminal (GARCIA et al., 2014).

2.2 Características seminais de catetos

No que diz respeito ao sêmen dos catetos, este é caracterizado por apresentar três frações, sendo uma primeira pobre em células espermáticas e de coloração clara, proveniente de secreções das glândulas acessórias, uma segunda rica em células espermáticas, com aspecto leitoso e coloração amarelada e uma terceira fração gel resultante da secreção das glândulas bulbouretrais (LOCHMILLER et al., 1985; HELLGREN et al., 1989; COSTA E PAULA, 2005).

Quanto aos parâmetros seminais e espermáticos, Peixoto et al. (2012) comprovaram que o volume e a concentração espermática na espécie não apresentam correlações significativas com a biometria testicular. Além disso, foram demonstrados valores de referência para a espécie a partir da avaliação de 52 amostras de sêmen resultantes de 10 catetos obtidos pelo método de eletroejaculação. Foi encontrado um volume médio de 3,5 ± 3,8 mL, concentração média de 0,8 ± 0,7 x 10⁶ espermatozoides/mL, sendo 85,1 ± 10,7% móveis com vigor 4,2 ± 0,9, morfologia normal de 79,9 ± 12,8 %, integridade acrossomal de 76,9 ± 13,2 % e viabilidade de 86,3 ± 13,3 %. No que concerne ao pH seminal, Souza et al. (2009) encontraram valores médios variando de 7 a 9. Em relação aos parâmetros morfométricos espermáticos, Sousa et al. (2013) verificaram uma média de 50,68 ± 0,121 μm de comprimento, sendo 6,34 ± 0,018 μm correspondente a cabeça e 32,25 ± 0,076 μm a cauda, no qual esta representa 89 % da célula.

De modo geral, sabe-se que a qualidade espermática de animais de uma mesma espécie pode sofrer variações em virtude de fatores intrínsecos ou extrínsecos (SUQUET et al., 1994; BUTTS et al., 2010; BOBE; LABBÉ, 2010), destacando entre esses fatores a influência da estação climática. Neste sentido, em um estudo conduzido na região de College Station, no Texas, Estados Unidos, HELLGREN et al. (1989) verificaram em catetos, uma redução no verão e uma elevação na primavera nos parâmetros de concentração espermática média, motilidade e porcentagem de células

normais, em clima subtropical semiúmido, no qual os autores atribuem essa redução durante o verão à temperatura ambiente.

Na cidade de Belém (Brasil), situada na região da Amazônia Oriental, sob clima tropical úmido, KAHWAGE et al. (2010) constataram que existem inconstâncias com relação aos parâmetros seminais dos ejaculados de catetos ao longo do ano. Os autores verificaram perda da qualidade espermática durante os meses de março a maio, com reduzida motilidade espermática (40,1 \pm 4,0%) e integridade de membrana plasmática (41,9 \pm 3,3%), e elevação nos defeitos totais das células (38,5 \pm 9%), em relação aos meses de setembro e outubro (início do período geralmente mais chuvoso), onde a motilidade adquiriu uma média de 63,0 \pm 0,3%, as células viáveis de 67,1 \pm 2,0% e os defeitos totais das células de 29,4 \pm 5,02%. Os autores acreditam que o decréscimo na qualidade seminal tenha se dado em decorrência de fatores ambientais, nutricionais e intrínsecos aos animais.

Na região de Mossoró (Brasil), sob condições semiáridas, Maia et al. (2018) apontaram que o período climático não foi capaz de proporcionar incrementos na eficiência das coletas pelo método de eletroejaculação e nem tão pouco ocasiona mudanças na qualidade seminal em catetos. No entanto, no que diz respeito ao sêmen criopreservado resultante da coleta durante o período chuvoso, este obteve mais células com membranas intactas (28,6 ± 6%) em relação ao criopreservado proveniente do período seco (23,4 ± 3%). Ainda, quanto aos parâmetros cinéticos obtidos através da análise computadorizada do sêmen (CASA), foi indicado que as células espermáticas que submetidas a criopreservação resultantes da coleta no período chuvoso possuíam maiores valores para motilidade total (29,5 \pm 7,7%), linearidade (33,2 \pm 3,7%) e subpopulação espermática rápida $(13.7 \pm 6.2\%)$ quando comparado aos criopreservados resultantes da coleta no período seco (14,6 \pm 4,1%; 31,5 \pm 1,4% e 4,1 \pm 1,2%, respectivamente). Os autores hipotetizam a ideia de que possa haver um fator de proteção espermático nestas espécies durante o período chuvoso em clima semiárido e que embora os parâmetros ambientais (velocidade do vento, umidade relativa e temperatura do ar) não tenham sido capaz de causar efeitos significativos sobre o sêmen fresco, tenham causado efeito sobre a sua congelabilidade.

Mais recentemente, Maia et al. (2019) conduziram um estudo também em região semiárida, com a finalidade de verificar os efeitos das condições ambientais sobre a testosterona sérica, morfologia testicular e qualidade do sêmen em catetos em um período de 18 meses. Entre os resultados, não foi percebida influência da temperatura da

superfície sobre os parâmetros espermáticos. Contudo, constatou-se correlação negativa entre a temperatura retal e a motilidade total (r = -0.20), velocidade média da trajetória (VAP) (r= - 0,20) e subpopulações espermáticas rápidas (r = -0,23), bem como correlação positiva com os espermatozoides estáticos (r = 0.20). No que diz respeito a concentração da testosterona sérica, circunferência escrotal e a morfometria testicular, estas se mantiveram estáveis durante os diferentes períodos climáticos. Quanto aos dias que transcorreram as coletas de sêmen, foi constatado correlação positiva entre as concentrações de testosterona sérica e a circunferência escrotal (r = 0,21, P <0,05), além disso, a precipitação total não causou efeitos sobre sua eficiência. Quanto ás precipitações no decorrer dos diferentes períodos climáticos, estas não causaram efeitos sobre o volume seminal, concentração espermática, número total de espermatozoides, morfologia espermática, funcionalidade e integridade da membrana, nem tão pouco sobre a cinética espermática. Além disso, foram constatadas correlações entre os parâmetros ambientais e os espermáticos no período de um dia, uma semana e de 51-55 dias antecedendo ao dia da coleta de sêmen. Ainda, a carga radiante de cabeça (LRH) apresentou uma correlação negativa sobre o índice de progressão (STR) (r= - 0,21, P <0,05). De acordo com os autores, este trabalho servirá de base para a condução de um manejo adequado assim como estratégias reprodutivas e conservacionistas para a espécie dentro do bioma ao qual faz parte.

2.3 Plasma seminal

Durante o processo que envolve a ejaculação, os espermatozoides produzidos nos testículos, maturados e armazenados no epidídimo são em seguida misturados com secreções resultantes das glândulas acessórias que irão constituir o plasma seminal (LEFIEVRE et al., 2007; KOVAC et al., 2013). Desse modo, o plasma seminal é uma mistura de fluidos provenientes da rede testicular, do epidídimo e glândulas acessórias, no qual a partir de contrações da uretra, este é externalizado durante a ejaculação (KARESKOSKI; KATILA, 2008).

i. Contribuição do líquido epididimário para o plasma seminal

Os espermatozoides são formados nos túbulos seminíferos e maturados no epidídimo, sendo transportados a partir do ducto eferente até o epidídimo. Este é constituído por um conjunto de células (células principais, basais, apicais, halo, claras e

estreitas) que são responsáveis pela produção do líquido epididimário (REID; CLELAND, 1957).

As células principais são as mais encontradas, estando presentes em todas as regiões do epidídimo, concentrando-se principalmente na porção inicial e na região da cabeça, variando suas características morfológicas ao longo das porções do epidídimo (REID; CLELAND, 1957). Estas células são responsáveis pelo transporte e eliminação de íons e moléculas orgânicas, síntese e eliminação de proteínas, absorção do líquido testicular e a liberação do líquido epididimário (DACHEUX et al., 2005), além da manutenção do pH ácido da região do lúmen (PASTOR-SOLER et al., 2005).

As células apicais possuem núcleos localizados na região apical (REID; CLELAND, 1957; SUN; FLICKINGER, 1982), são responsáveis pela quiescência espermática e a partir da produção de enzimas da família anidrase carbônica modificam o pH do lúmen (HERMO et al., 2005). As células estreitas são originárias da porção inicial, possuindo núcleo alongado. Estas células juntamente com as células apicais são responsáveis pela dissociação de proteínas específicas (PASTOR-SOLER et al., 2005).

As células claras possuem numerosos vacúolos apicais e encontram-se presentes na cabeça, corpo e cauda do epidídimo (REID; CLELAND, 1957). Estas por sua vez, atuam na remoção de proteínas do lúmen do epidídimo, além disso, eliminam as gotas citoplasmáticas das células espermáticas á medida que passam ao longo do ducto (HERMO et al., 1994, 2005; ROBAIRE et al., 2006). As células basais são células alongadas, com núcleos alongados ou esféricos, localizadas em contato com a membrana basal e presentes principalmente na região do corpo e cauda do epidídimo (REID; CLELAND, 1957). Estas células possuem ação protetora a partir da formação de uma barreira entre os vasos sanguíneos e o lúmen do epidídimo (VERI et al.,1993) e estão envolvidas ainda na eliminação das espécies reativas de oxigênio por meio da presença de enzimas, como a glutationa peroxidase, superóxido dismutase e catalase (LEUNG et al., 2004; VERNET et al., 2004; CHEUNG et al., 2005).

As células do halo estão presentes principalmente na região da cabeça. Estas possuem em seu núcleo uma cromatina densa e uma região que constitui o "halo", cuja ação está envolvida com o sistema imune (ROBAIRE; HERMO, 1988).

ii. Secreções das glândulas acessórias

No que diz respeito às secreções vesiculares e prostáticas, estas na maioria das espécies animais são compostas por inúmeros constituintes orgânicos. A secreção

vesicular é responsável por fornecer volume e servir como fonte de energia, tampões e íons ao plasma seminal. Este fluido é constituído por açúcar (frutose, glicose, sorbitol, inusitol), antioxidantes (ácido cítrico e ergotionina), prostaglandina, aminoácidos, glicerilfosforilcolina e ferro (MANN, 1974).

Quanto á secreção prostática, por sua vez, é responsável por promover a limpeza da uretra, no qual possui como constituintes: a fosfatase, zinco, colesterol, plasmina ou espermina, enzimas proteolíticas, prostaglandinas, β-microseminoproteína, serotransferrina, albumina sérica, mioglobina e as espermadesinas PSP I e PSP II (MANN, 1974; MANÁSKOVÁ et a., 2002).

Já a secreção bulbouretral contém galactose, além de sialomucina que forma a fração gel, importante em espécies com grande liberação de sêmen como os suínos, atuando nestas espécies como tampão vaginal (MANN, 1974).

iii. Constituintes bioquímicos do plasma seminal

Os constituintes bioquímicos que compõe o plasma seminal são designados de acordo com o tamanho, capacidade de armazenamento e secreção dos órgãos que integram o sistema reprodutor masculino (MANN, 1964). A compreensão a respeito da composição bioquímica espermática e dos fluidos seminais, assim como da comunicação com o meio e o espermatozoide propicia meios para a conservação dos gametas masculinos (COULTER, 1992).

Muitos constituintes bioquímicos são responsáveis por oferecerem ao plasma seminal ação antimicrobiana, além de participarem da ativação da motilidade espermática e neutralização dos metabólitos espermáticos (ELZANATY et al., 2002; TROEDSSON et al., 2005). Além disso, também estão envolvidos na ação antioxidante do plasma seminal, no desenvolvimento e maturação dos espermatozoides, e na regulação da fisiologia espermática, atuando ainda como cofatores em reações enzimáticas, com papel fundamental no funcionamento de algumas enzimas (GUASTI; MONTEIRO; PAPA, 2012).

Em várias espécies, os componentes presentes no plasma seminal, influenciam na motilidade espermática (ELZANATY et al.,2002), morfologia (KERR et al.,2006), capacitação e reação acrossomal (MANJUNATH et al.,2002), interação com o oviduto (GWATHMEY et al., 2006) e fecundação (CANCEL et al.,1997; MOURA et al.,2007).

Em suínos, Jelezarsky et al. (2008) identificaram a presença da enzima glutationa peroxidase (GPx), uma importante enzima de combate ás espécies reativas de

oxigêncio, nas vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais. No mesmo ano, Hernández e Gutiérrez, (2008) identificaram a presença do fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento transformador (TGFα) e receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFr) no epidídimo, próstata e glândulas vesiculares, cujos quais não estiveram presentes nas glândulas bulbouretrais. Além disso, estes mostraram ação positiva sobre a motilidade espermática após o processo de reação acrossomal. Barranco et al. (2016) identificaram a presença da enzima glutationa peroxidase 5 nos testículos, epidídimos e glândulas sexuais acessórias. O mesmo grupo no ano seguinte, identificaram a presença da enzima paraoxonase tipo 1 (PON1) no epidídimo, vesículas seminais, próstata e glândulas bulbourerais da espécie, cuja enzima é dependente do teor de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C) presente nessas glândulas (BARRANCO et al., 2017).

O plasma seminal contém uma variedade de tipos de proteínas, cada qual exercendo importantes funções sobre os espermatozoides. Estas participam de processos envolvidos na proteção espermática (KRAUS et al., 2005), capacitação, reação acrossomal e fertilização (PIETROBON et al., 2005; ROLDAN E SHI, 2007), além de exercer ação sobre a motilidade espermática (BAAS et al., 1983),

Dentre as proteínas, destaca-se a albumina que se trata de uma proteína associada à proteção espermática, atuando sobre a membrana plasmática dos espermatozoides visto sua habilidade em adsorver os peróxidos de lipídios desta (ALVAREZ E STOREY, 1983), impedindo o estresse oxidativo causado pela peroxidação lipídica, protegendo assim as células (MURASE et al., 2007). Ainda, no trato reprodutivo da fêmea, a albumina está relacionada com o efluxo de colesterol e fosfolipídeos na membrana plasmática durante o evento de capacitação espermática, visto sua capacidade de modificar a permeabilidade da membrana (DAVIS et al., 1979; VISCONTI et al., 1998; OSHEROFF et al., 1999; WU et al., 2001).

Ainda se tratando da albumina, acredita-se que esta juntamente com as enzimas superóxido dismutase e glutationa peroxidase atuam detendo as espécies reativas de oxigênio (EROs) provenientes do metabolismo das células espermáticas (JOHNSON et al., 2000). Desta forma, Murase et al. (2007) atribuíram a redução na estabilidade da membrana á pouca disponibilidade de proteínas, incluindo albumina, no plasma seminal de suínos. Ainda, atribuíram que esta redução juntamente com a maior resposta espermática ao Ca²⁺ /A23187 e menor número de partos estejam envolvidos com a redução da fertilidade.

A frutosamina consiste em proteínas glicadas totais (ARMBRUSTER, 1987). Desta forma, são cetoaminas oriundas de uma reação não enzimática entre um grupo carbonil da glicose e um grupo amino da proteína, formando uma base de Schiff (aldimina) que após uma reorientação molecular torna-se estável (ARMBRUSTER, 1987; KOGA e KASAYAMA, 2010).

Sua presença no plasma seminal de animais ainda é pouca conhecida, julgando que grandes concentrações desta proteína podem sinalizar o uso ineficiente de glicose pelo organismo (ARMBRUSTER, 1987). No plasma seminal de humanos, a glicose e a frutose estão presentes como fontes de açúcar, assim, um aumento nos valores de frutosamina é indicador de infertilidade masculina (TOMASZEWSKI et al., 1992). Já no plasma seminal de bovinos, a glicose não é encontrada, estando presente apenas a frutose (128-679,2 mg/dL), além disso, nenhuma correlação entre a frutosamina e infertilidade masculina foi revelada nessa espécie (TOMASZEWSKI et al., 1992), observando a existência de diferenças entre as espécies.

Além disso, esta proteína é utilizada para medir de maneira indireta a enzima superóxido dismutase, uma importante enzima que atua na proteção contra as espécies reativas de oxigênio (EROs). Desta maneira, visto a frutosamina se tratar de uma proteína consumida pela SOD, a mensuração da enzima ocorre mediante o seu índice de inibição (LOPES, 2011).

No que diz respeito aos constituintes lipídicos, os triglicerídeos possuem função essencial para as células espermáticas, no qual sua presença no plasma seminal está relacionada com a qualidade espermática e a fertilidade do macho (KOZIOROWSKA-GILUN et al., 2011). Em suínos, a concentração de triglicerídeos no plasma seminal atua positivamente sobre a concentração (0,750) e o número total de espermatozoides no ejaculado (0,569) (ZAJA et al., 2016), cujos autores acreditam que os valores de triglicérides e colesterol podem atuar como importantes sinalizadores em uma avaliação de qualidade seminal nesta espécie.

O colesterol é o principal esterol presente na membrana (YEAGLE 1993), cujo qual exerce importante função de proteção das células contra o choque térmico resultante de alterações na temperatura (SOFIKITIS e MIYAGAWA 1991). A presença de colesterol nas membranas plasmáticas de espermatozoides de suínos domésticos quando comparado ao das demais espécies é reduzido. Isso explica a sensibilidade destas células ao processo de resfriamento (PARKS e LYNCH, 1992), visto o colesterol ser responsável pela fluidez da membrana (NIKOLOPOULOU et al., 1985).

Uma parte do colesterol constituinte do plasma seminal é fornecida pela próstata (SOFIKITIS e MIYAGAWA 1991), sendo em grande parte proveniente do epidídimo e incorporado às membranas no processo de maturação espermática (YANAGIMACHI 1994). Jacyno et al. (2009) verificaram no plasma seminal de suínos, uma taxa de colesterol variando de 2,8-16,9 mg/dL, com média de 6,96 mg/dL. Foi encontrado ainda correlações positivas deste com a motilidade (0,217), concentração (0,225) e número total de espermatozoides (0,196) e negativa com a porcentagem de espermatozoides com defeitos maiores (-0,154) e atividade do aspartato aminotransferase (AspAT) (-0,215), refletindo sobre a qualidade espermática.

Os açúcares atuam como substratos energéticos para os espermatozoides, de onde provém a energia necessária para a motilidade da célula. Estes são importantes ainda durante o processo de capacitação espermática, fecundação do oócito e metabolismo espermático. Entre os açúcares, a frutose se destaca por ser o principal açúcar livre no plasma seminal, sendo produzida na glândula vesicular e utilizada pelas células para produção de ATP, cujo qual será convertida em energia utilizada durante o movimento do espermatozoide (WILLIAMS; FORD, 2001). Desta forma, de acordo com Mann (1948), a função primordial da frutose é proporcionar á célula espermática a energia necessária a sua sobrevivência na forma de um produto prontamente glicolizável, onde o valor encontrado no ejaculado de suínos é em torno de 20-50 mg.

Outros componentes do plasma seminal são os íons, cujos quais são importantes no desempenho de diversas reações envolvidas na função espermática. A concentração e o tipo de íon variam de acordo com a fração espermática do ejaculado até mesmo o animal, mesmo pertencendo a mesma espécie (GUASTI et al., 2012).

Dentre os íons, o cálcio é importante por permitir a regulação fisiológica das células espermáticas, encontrando-se em altos valores na próstata, epidídimo e glândulas vesiculares (WONG et al., 2001). O cálcio em sua forma iônica (Ca⁺²) promove a capacitação e reação acrossomal a partir da regulação do AMPc intracelular e ativação da fosfolipase A2, respectivamente (PARRISH et al., 1994; VISCONTI et al., 1995; PARINAUD;MILHET, 1996). Ainda, é responsável por desencadear a esteroidogênese nas células intersticiais do testículo (MORTON E SAGADRACA, 1978; HONG et al., 1984; MAHAMUD et al., 2015).

Além disso, o cálcio apresenta ação sobre a motilidade espermática através da sua capacitação e hiperativação, a partir do ajuste da adenosina trifosfato no interior celular (BAKER et al., 2004; MARQUEZ et al., 2004). Em valores acima do

necessário, o cálcio pode induzir a perda de fertilidade através da indução da exocitose acrossomal (KWON et al., 2013).

O magnésio é um cátion que atua como cofator em mais de 300 reações enzimáticas abrangendo o metabolismo energético (ATP) e a síntese de ácidos nucleicos. Este pode atuar ainda na espermatogênese, a partir da motilidade espermática (ABOU-SHAKRA et al., 1989), contribuindo para a motilidade das células espermáticas através da indução da atividade da adenilciclase (LAPOINTE et al., 1996). Em suínos, Arver e Eliasson, 1980 encontraram uma média de magnésio no plasma seminal de 3.2 ± 0.05 mM. Um estudo realizado por Rodríguez et al. (2013) verificaram ação positiva do magnésio sobre a membrana espermática. Estes verificaram que níveis mais notáveis de magnésio no plasma seminal de suínos estavam correlacionados a menos danos na membrana (0,335).

O fósforo encontra-se presente em maiores níveis no plasma seminal, em relação aos espermatozoides (ABDEL-RAHMAN et al., 2000). Este participa de processos envolvendo o metabolismo energético, ativação e inativação enzimática, via quinases e fosfatases, sendo essencial para o metabolismo e sinalização celular (CORTEZ, 2003).

Em ovinos, Abdel-Rahman et al. (2000) verificaram que a porcentagem de espermatozoides móveis diminui com o aumento do potássio (K) e do cálcio (Ca) e redução do sódio (Na), cloreto (Cl), fósforo (P) e magnésio (Mg). Além disso, foi encontrada correlação positiva da porcentagem de espermatozoides vivos com o cálcio (r=0,325) e negativa com o fósforo (-0,308).

O ferro é outro elemento que tem função importante para as células espermáticas. Tem função fundamental na síntese de DNA e transporte de elétrons e oxigênio, no entanto, o ferro por ser oxidante é capaz de gerar radicais livres a partir da reação com o H_2O_2 pela reação de Fenton (H2O2 + Fe2+ -> Fe 3+ + OH- + •OH.) (FERREIRA, 2009). Em suínos, Massanyi et al. (2003) encontraram um valor médio de ferro no sêmen de suínos de $16,14 \pm 10,35$ mg Kg $^{-1}$, além disso, verificaram correlações positivas deste com os defeitos espermáticos de cabeça pequena (0,34) e cabeça grande (0,39).

No que diz respeito ao cloreto, Martins et al. (1999) verificaram que baixas concentrações de cloreto na fração espermática implica em um mecanismo de proteção que independe da espécie e raça. Desta forma, Rodríguez et al. (2013) associaram a

presença de cloreto no sêmen de suínos com a qualidade espermática, verificando a existência de correlação negativa deste com a morfologia normal (- 0,521).

Por último, o ácido cítrico é um composto bioquímico sintetizado na próstata. Sua presença no sêmen está relacionada com a liquefação, no qual níveis menores de ácido cítrico estão envolvidos com ausência de plasma seminal ou liquefação parcial (PARDINI, 2002). Este ainda atua como ativador da enzima fosfatase ácida de modo a proporcionar e manter o equilíbrio osmótico. Ainda, em combinação com o sódio e o potássio atuam de modo positivo sobre a motilidade espermática (MANN, 1948).

iv. Peculiaridades do plasma seminal dos suínos

O plasma seminal é constituído por diversos componentes entre eles íons, açúcares, proteínas, lipídeos, aminoácidos, ácido cítrico, minerais, fosfatases, prostaglandinas, potássio e citrato (FOLHADELLA, 2008). As concentrações de cada constituinte variam com a espécie, animal e idade, além do método de coleta seminal e intervalo de tempo entre as ejaculações (SHIVAJI et al., 1990).

Segundo Mann (1974), o fluido epididimário dos suínos contém concentrações elevadas de hipotaurina, além de glicerilfosforilcolina, um componente típico do epidídimo de suínos (SEAMARK et a., 1968). A secreção vesicular pode conter até 3% de inositol, ergotioneina, frutose e ácido cítrico, com ausência de cloreto, enquanto as glândulas bulbouretrais produzem uma sialoproteína constituída por 26,6% de ácido siálico (MANN, 1974).

Segundo Seamark et al. (1968), a secreção vesicular em suínos apresenta como constituintes bioquímicos além do inositol também o scillitol (scylloinositol). Além disso, no plasma seminal da espécie, podem ser também encontrados o colesterol, triacilglicerol, proteínas, albumina, zinco, glutationa peroxidase, superóxido dismutase, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, a-glutamil transferase, creatina quinase, lactato desidrogenase, cálcio, magnésio (ZAJA et al., 2015; ZAJA et al., 2016) e glicerilfosforilinositol (DAWSON, MANN & WHITE, 1957).

González-Cadavid et al. (2014) identificaram 39 diferentes proteínas no plasma seminal de suínos em sua maioria pertencentes á família das espermadesinas. Entre as mais abundantes estavam: PSP-I, PSP-II, AQN-1, AQN-3 e AWN-1, representando 45,6% dos spots detectados no gel, cujos autores confirmaram relações de tais proteínas do plasma seminal com os parâmetros seminais. Tais glicoproteínas também já foram reconhecidas em catetos (SANTOS et al., 2014).

No que diz respeito á ação do plasma seminal de suínos, Strzezek et al. (1992) constataram ação negativa deste durante a congelação de sêmen. Eles verificaram que a presença do plasma seminal durante a congelação do sêmen de suínos causou efeito negativo sobre a sobrevivência e motilidade espermática, em virtude da presença de inúmeras proteínas no plasma seminal.

Recentemente, outro trabalho buscou avaliar a ação do plasma seminal desta vez sobre a capacidade fertilizante dos espermatozoides de suínos por meio da inseminação artificial intra-uterina em marrãs. Desta forma, Passarelli et al. (2017) fizeram um pool da fração rica do ejaculado de 2 cachaços dividindo-os em um grupo controle e um grupo sem plasma seminal, cujos quais foram mantidos à 17°C por 72 horas. Assim, para verificar a taxa de fertilidade, calculou-se a proporção de embriões recuperados e taxa de prenhes. Quanto aos resultados obtidos, a taxa de prenhes não diferiu entre o grupo controle e o grupo sem plasma seminal (30% e 40% respectivamente). No entanto em relação á taxa de fertilidade, o grupo sem plasma seminal (83,09 ± 15,59) foi significativamente superior ao controle (40,27 ± 22,74), demonstrando a ação negativa do plasma seminal sobre a fertilidade nesta espécie. Diante da presença de proteínas da classe da fibronectina tipo II (FN-2) no plasma seminal de suínos, os autores justificam seus resultados correlacionando estas proteínas com a taxa de fertilidade. Eles defendem ainda que a longa exposição espermática a FN-2 resulta em um efluxo de colesterol e desestabilização da membrana plasmática, sugerindo a remoção do plasma seminal para a preparação de doses inseminantes nesta espécie.

Apesar de já terem sido comprovados os efeitos negativos do plasma seminal de suínos durante a congelação de sêmen, Rodríguez et al. (2013) comprovaram uma relação entre os componentes do plasma seminal e a qualidade seminal, mas especificamente quanto ao cloreto que se correlacionou com a morfologia (r= - 0,521) e potássio se agiu positivamente sobre a motilidade (r= 0,354) e morfologia (r= 0,350). Além disso, o cálcio e o cloreto variaram entre os grupos (alta e baixa qualidade seminal), cujo cloreto se correlacionou negativamente com a morfologia (r= - 0,521). Neste estudo, observaram que em animais com alta qualidade seminal (morfologia normal > 80% e motilidade espermática > 70%) o cálcio e o cloreto apresentavam valores médio de 3,1 mg/dL e 107,2 mEq/L, respectivamente, já nos com baixa qualidade seminal (morfologia normal < 80% e motilidade espermática < 70%) possuíam 2,7 mg/dL e 136,4 mEq/L.

Ainda mais recente, um trabalho buscou investigar os efeitos do plasma seminal de suínos sobre a qualidade, capacitação e capacidade fertilizante de espermatozoides de ovinos congelados-descongelados. Fang et al. (2018) verificaram que o plasma seminal de suínos a 40% obteve os maiores resultados quanto a viabilidade espermática de ovinos $(41,11 \pm 3,62^{b})$ em relação ás demais concentrações, proporção de espermatozoides capacitados (próximo a 90%) comparado ao controle (próximo a 80%), sobre a fosforilação da tirosina após capacitação in vitro (aproximadamente 1800) comparado ao grupo controle (800) e sobre a penetração dos espermatozoides congelado-descongelado, onde o número de espermatozoides no grupo a 40% em 1 cm $(944,71 \pm 121,46^{a})$ e 2 cm $(613,22 \pm 79,92^{a})$ da base do tubo foi superior ao controle (555,30 \pm 88,73^b, 360,72 \pm 51,07^b, respectivamente). Ainda, obteve maiores valores quanto a taxa de gestação com a inseminação artificial intracervical a 40% de plasma seminal (47,5%) em relação ao controle (33,3%). Diante desses resultados, os autores defendem existir uma homologia (quase 22,0%) entre as proteínas presentes no plasma seminal de carneiros e de suínos, além disso, que o plasma seminal de suínos a 40% impediu a crio-capacitação visto as proteínas presentes na superfície da membrana impedirem mudanças importantes para a ocorrência da capacitação.

v. O plasma seminal de catetos

Nos catetos, informações a respeito de seu plasma seminal ainda são bastante limitadas. Um trabalho realizado por Castelo et al., (2010) buscou averiguar a influência da centrifugação como método para remoção do plasma seminal. Foi observado um efeito negativo sobre os parâmetros da motilidade e morfologia espermática antes e após o processo de congelação e descongelação de sêmen, efeito este que em suínos foi verificado de modo contrário sobre a viabilidade e motilidade espermática (STRZEZEK et al., 1992). Com base nesse trabalho em catetos, não é aconselhado a utilização da centrifugação como método para remoção do plasma seminal na espécie, além disso, o estudo trás como premissa a importância da investigação do perfil bioquímico do plasma seminal na espécie como ferramenta para conhecer a ação do plasma seminal na espécie.

Neste sentido, um importante estudo conduzido por Santos et al.(2014), avaliaram as proteínas presentes no plasma seminal da espécie, identificando 23 diferentes proteínas, dentre estas, se mostraram maiores concentradas a espermadesina (PSP-1) (20,9%), clusterina (19,8%) e bodesina 2 (Bdh-2) (10,2%). Além destas, ainda

foram identificadas a glutationa peroxidase secretada do epidídimo (6,2%), albumina (2,6%) e anexina 5 (2,0%).

A PSP-1 no plasma seminal em suínos está presente na forma de um heterodímero associado à PSP-2 (CALVETE et al.,1995). A grande proporção de PSP1/PSP2 está relacionada com um aumento na proporção de células viáveis, visto a capacidade de ligação deste dímero á região acrossomal (CABALLERO et al., 2006). Já a clusterina auxilia na interação dos espermatozoides com os fluidos do trato genital, a partir da ligação ás células (GRIFFITHS et al., 2009). Por fim, a Bodesina 2 faz parte da produção de reserva no oviduto e na relação ligação espermatozoide-oócito (TOPFER-PETERSEN et al., 2008).

Além disso, a atividade de enzimas com ação antioxidante no plasma seminal de catetos foi também analisada por Santos et al. (2018). Os autores investigaram a atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no plasma seminal e sua associação com a qualidade espermática em catetos oriundos da região semiárida, durante a estação seca. No tocante á atividade enzimática, não foi detectada para a enzima CAT. Apesar disso, foram observados traços da enzima SOD (0,033 ± 0,049 AU / mgP) nos ejaculados dos animais estudados. Além disso, não foram identificadas correlações entre os níveis de SOD e os parâmetros de motilidade espermática (0,35; P = 0.931), vigor (0.29; P = 0.133), viabilidade (0.16; P = 0.29), membrana funcional (0,04; P = 0,617) e morfologia (0,03; P = 0,637). Os autores justificam estes achados pelo fato do experimento ter sido executado durante o período seco em região semiárida, podendo nesta condição a enzima CAT não ter sido sintetizado ou ter sido inativada, sugerindo assim que haja outros mecanismos compensatórios de proteção á células espermáticas contra ás espécies reativas de oxigênio (ROS). Deste modo, eles sugerem que o sistema antioxidante no plasma seminal de catetos exige a associação da enzima glutationa peroxidase (GPx), já identificada no proteoma do plasma seminal da espécie (SANTOS et al., 2014), e da atividade enzimática da SOD. Quanto ao mecanismo de ação da superóxido dismutase, esta age na remoção do radical superóxido que se trata de um agente oxidante, impedindo desta forma, que haja a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) de modo que prejudique a funcionalidade celular (ALSCHER et al., 2002).

vi. Métodos de avaliação bioquímicos do plasma seminal

A avaliação bioquímica do plasma seminal deve se iniciar pela análise quanto aos aspectos visuais da amostra, seguida da verificação do pH a fim de identificar possíveis alterações patológicas nas glândulas acessórias (AQUINO-CORTEZ et al., 2003), uma vez que mudanças bruscas no pH seminal ocasionam prejuízos ás células, podendo comprometer a sua viabilidade e capacidade fecundante (PURDY, 2004).

Dentre os métodos de determinação da composição do plasma seminal, pode ser empregada a colorimetria, constituindo o principal método de análise bioquímica. A análise consiste na comparação entre a intensidade de cor produzida por uma reação e a intensidade de cor padrão para a amostra. A partir daí, é determinada a concentração dos componentes que se busca identificar dentro de um determinado comprimento de onda, no qual dentro da banda de 400 nm e 800 nm se encontra a faixa de luz visível e entre 200 nm a 400 nm a faixa ultravioleta. A fim de averiguar a intensidade da cor gerada, é utilizado o espectrofotômetro, o qual compara a intensidade de cor gerada com a intensidade padrão ("branco"). Este método é o mais utilizado em análises bioquímicas pela segurança, sensibilidade, especificidade e simplicidade na execução do método, no entanto em virtude da sensibilidade da técnica, a presença de artefatos desconhecidos na amostra pode levar a erros durante a leitura (NAOUM, 2010).

O método cinético é empregado para identificação de enzimas, onde a ação destas é verificada mediante reação com o substrato dando origem a um produto. As leituras são realizadas em espectrofotômetro mediante observação de mudança de cor (NAOUM, 2010). Podem ser empregados também testes de ensaio imunoenzimático como o ELISA (*Enzime Linked Immuno Sorbent Assay*), no qual um anticorpo é conjugado a uma enzima e a partir de uma reação com um determinado substrato são geradas colorações de acordo com o cromógeno em questão (NAOUM, 2010).

Quanto ao método ELISA, este possui elevada sensibilidade e reprodutibilidade e especificidade. No entanto, este método possui algumas desvantagens como a exigência de pessoas especializadas para a realização do método, além disso, alguns regentes podem se degradar ao ser exposto ao ambiente. Visto sua alta sensibilidade, um pequeno erro durante a execução pode gerar resultados falsos positivos (VIDAL; CATAPANI, 2005).

Além do mais, tem-se a técnica de espectrofotometria de absorção atômica, que se baseia na identificação de metais a partir da absorção de radiação ultravioleta por elétrons que passaram por um salto quântico após excitação, onde a energia é devolvida ao meio na forma de fóton de luz e os elétrons voltados a camada orbital de origem. A

energia devolvida absorve a radiação ultravioleta emitida pela fonte do elemento químico em questão e os elétrons que estão contidos na amostra absorverão apenas radiação com comprimento de onda referente ao elemento químico do qual fazem parte (NAOUM, 2010). Este método é seguro, preciso e sensível, contudo, os equipamentos são considerados onerosos (OLIVEIRA, 2012).

2.4 Influência da estacionalidade no plasma seminal

Em virtude de seus inúmeros constituintes, o plasma seminal exerce várias funções nas quais tem reflexo direto sobre a qualidade seminal. No entanto, os valores destes constituintes podem ser influenciados pela estacionalidade, podendo levar a uma reduzida expressão de alguns destes compostos. Algumas espécies podem apresentar estacionalidade reprodutiva, evento no qual apresentam redução em sua atividade sexual no decorrer de um período específico do ano, estando este evento regulado por fatores ambientais (HAZLERIGG e LOUDON, 2008; COLOMA et al., 2011; MAIA e MEDEIROS, 2011).

Em mamíferos, sabe-se que a temperatura ambiente exerce um efeito negativo sobre a qualidade seminal por efeito da indução a degeneração testicular, ocasionada principalmente pela ascensão da temperatura testicular (NASCIMENTO e SANTOS, 2003). Particularmente nos suínos domésticos, evidencia-se uma relação direta entre temperatura ambiente e escrotal, acentuada principalmente em virtude da baixa capacidade de transpiração na espécie (STONE, 1977).

Um estudo conduzido por Strzezek et al. (2000) verificou influência do verão e inverno sobre a atividade secretória das glândulas acessórias, em especial das glândulas vesiculares. Para este trabalho, foram realizados dois testes de depleção (TD), um no verão (TD1) e outro no inverno (TD2). Cada teste de depleção foi dividido quanto a dois períodos. O período 1 compreendeu a coleta nos primeiros 3 dias e representou as reservas de espermatozoides extragonadais e secreções das glândulas sexuais acessória e o período 2 os ejaculados oriundos do dia 4 ao dia 10 e representaram a produção diária de espermatozoides e a capacidade secretória das glândulas sexuais acessórias. Entre os resultados, foi observado alterações na atividade secretória das glândulas acessórias através de oscilações nos valores dos componentes bioquímicos. O plasma seminal do TD 2 apresentou maiores valores para o pH (8,19 \pm 0,02), ácido cítrico (114,51 \pm 7,29) e zinco (2,59 \pm 0,14) comparado ao TD 1 (8,10 \pm 0,02; 52,10 \pm 5,88; 1,72 \pm 0,11). Os autores defendem que a maioria das substâncias estudadas, incluindo a frutose, ácido

cítrico e zinco, tem origem nas glândulas vesiculares em suínos. Isso pode explicar a influência da estacionalidade sob os constituintes bioquímicos do plasma seminal, visto a diferença na exigência das glândulas.

Em suínos, Murase et al. (2007) identificaram diferenças quanto aos valores bioquímicos durante o verão e inverno. Desta forma, verificaram menores valores de magnésio (aproximadamente 6 mg/dL), proteínas totais (aproximadamente 1,0 g/dL) e albumina (aproximadamente 0,5 g/dL) durante verão (agosto-setembro) e maiores valores de cloreto (aproximadamente 85 mEq/L) quando comparado ao outuno-inverno (10 mg/dL; 1,5- 1,5 g/dL; 0,6 – 0,7 g/dL e 90- 100 g/dL, respectivamente). Os autores acreditam que em virtude da redução da testosterona resultar em uma diminuição nas concentrações de magnésio e proteína total e aumento nas concentrações de cloreto no plasma seminal de suínos, a sazonalidade pode também interferir nos valores destes constituintes.

Fraser et al. (2016) demonstraram que a estação do ano, associada à idade do indivíduo, influencia diretamente nos componentes bioquímicos do plasma seminal de suínos. Segundo os autores, animais mais jovens (18 meses de idade) apresentaram maiores níveis de proteínas totais, zinco e atividade antiperoxidante durante o período outono-inverno. Neste mesmo período, em animais mais velhos (19 a 30 meses de idade), o plasma seminal apresentou altos níveis de atividade do ácido L-ascórbico. Durante a primavera-verão, os indivíduos mais jovens apresentaram maiores taxas de antioxidantes contendo tiol (glutationa peroxidase e ergotioneina), enquanto os mais velhos apresentaram alterações em tais concentrações, denotando o efeito da estacionalidade.

Recentemente, Argenti et al. (2018) buscaram avaliar o efeito da sazonalidade sobre a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutationa peroxidase (GPx) em espermatozoides e plasma seminal de suínos, associando-as ás características seminais em região de clima subtropical. Deste modo, os autores observaram um aumento da atividade da enzima SOD nos espermatozoides durante o verão (17,45 \pm 2,57 U/mg proteína) em relação ao outono (7,76 \pm 0,63 U/mg proteína) e inverno (9,07 \pm 0,90 U/mg proteína), com uma média anual de 11,60 \pm 1,25 U/mg proteína nos espermatozoides e 5,18 \pm 0,42 U/mg proteína no plasma seminal. Quanto á atividade da enzima GPx, esta permaneceu constante ao longo das estações do ano, apresentando uma média anual de 7,08 \pm 0,99 U/mg proteína nos espermatozoides e 3,28 \pm 0,46 U/mg proteína no plasma seminal. Além disso, foi verificado que a atividade da enzima

SOD nos espermatozoides estava relacionada negativamente á motilidade espermática após 120 horas de armazenamento a temperatura de 17° C em ejaculados resultantes da coleta durante o outono (R^2 = 0,45; p= 0,0022) e positivamente relacionada à média sazonal de THI (R^2 = 0,19; p = 0,0002), comprovando o efeito dos fatores ambientais sobre a atividade enzimática.

Do mesmo modo, em ruminantes, diferentes estudos têm sido conduzidos com o intuito de verificar a existência da influência climática sobre a constituição do plasma seminal. Por exemplo, nos caprinos, foi verificado que as concentrações de testosterona aumentaram durante o verão $(2,42 \pm 0,44 \text{ ng /mL})$ e atingiram valores máximos no outono $(7,83 \pm 1,14 \text{ ng /mL})$ (COLOMA et al., 2011). Deste modo, como a testosterona é importante para a função das glândulas sexuais acessórias, ela pode potencializar sua função, tendo consequências sobre a capacidade fertilizante dos espermatozoides (LUKE, COFFEY, 1994).

Ainda em caprinos, foi observada uma variação nas concentrações de cálcio, fósforo e magnésio presentes no plasma seminal durante a estação seca e chuvosa em um clima tropical úmido. Destes componentes, o cálcio (12,27 ± 1,76 mg/dL) e o fósforo (11,96 ± 2,69) mostraram maiores concentrações durante o período chuvoso em relação ao período seco (11,93 \pm 2,43; 9,16 \pm 3,71). O magnésio sofreu variação dentro do mesmo período, apresentando maior valor em junho (12,78 ± 2,81) e menor valor em março (6.25 ± 4.69) , ambos os meses inclusos no período chuvoso. Os maiores valores bioquímicos coincidem dos componentes com O menor valor do índice de temperatura e umidade (75,44) durante o período chuvoso. Além disso, encontraram-se correlações positivas do cálcio com o volume seminal (0,15005;P<0,0208) e do plasma seminal (0,15504; P<0,0169) correlações negativas do fósforo com o volume do sêmen (-0,24583; P<0.0001) e do plasma seminal (-0,18080; P<0,0052) (CATUNDA et al., 2009).

Contrariamente, Aguiar et al. (2013) demonstraram que, sob condições semiáridas, as concentrações de cálcio permaneceram praticamente constantes ao longo das estações seca (912,1 \pm 0,6 mg/dL) e chuvosa (12,3 \pm 0,5 mg/dL). Durante a estação seca, houve um redução nas concentrações de fósforo (9,7 \pm 0,9 mg/dL), magnésio (8,1 \pm 0,9), proteínas totais (5,2 \pm 0,4), ácido cítrico (435,0 \pm 27,1) e frutose (502,6 \pm 51,0) comparado ao período chuvoso (12,3 \pm 0,7 mg/dL; e 8,6 \pm 1,0; 6,1 \pm 0,3; 495,4 \pm 30,0 e 660,1 \pm 39,4 respectivamente). Ainda no período seco, os níveis da fosfolipase A2

apresentaram aumento de 32%, cujos autores acreditam está envolvida na redução da viabilidade espermática.

Particularmente nos catetos, já foi demonstrado existir influência da estação climática sobre as características gerais do sêmen tanto em clima subtropical semiúmido (HELLGREN et al. 1989), como em clima tropical quente e úmido (KAHWAGE et al., 2010). Sob condições semiáridas, foram demostrados não ocorrer ação do período climático sobre o sucesso da coleta de sêmen, nem mesmo sobre o sêmen fresco, no entanto sobre a congelabilidade, aqueles resultantes das coletas durante o período chuvoso mostraram melhores parâmetros espermáticos (MAIA et al., 2018; MAIA et al., 2019).

Neste sentido, é evidenciada a carência de informações acerca da constituição bioquímica do plasma seminal de catetos, bem como da ação destes constituintes sobre os parâmetros seminais e dos efeitos dos períodos climáticos sobre esses componentes.

3. JUSTIFICATIVA

O cateto dispõe de um elevado interesse ecológico e econômico, cujo seu uso é sugerido como modelo experimental para espécies filogeneticamente semelhantes que estejam em estados de vulnerabilidade ou em risco de extinção, como é o caso dos Queixadas (*Tayassu pecari*) e Taguás (*Catagonus wagneri*).

Neste sentido, como estratégia de conservação e multiplicação da espécie, tem sido desenvolvida a tecnologia de sêmen. Para seu desenvolvimento, entretanto, é necessário um amplo conhecimento dos aspectos relativos à fisiologia reprodutiva desta espécie. Diante disto, o conhecimento a respeito dos constituintes bioquímicos do plasma seminal tem por importância o fato de estes atuarem diretamente sobre a qualidade seminal por meio de interações com a variabilidade individual e períodos climáticos como já verificados em suínos, espécie filogeneticamente próxima aos catetos.

Desta forma, este trabalho se justifica por descrever os constituintes bioquímicos do plasma seminal de catetos, bem como de conhecer sua ação sobre a qualidade seminal como já relatado em outras espécies. Além disso, será esclarecida a ação dos períodos climáticos, seco e chuvoso, em um clima semiárido sobre tais constituintes do plasma seminal da espécie. Diante disso, poderão ser proporcionadas ferramentas para o aperfeiçoamento de bancos de germoplasmas animal através do melhoramento de biotécnicas como a criopreservação de sêmen, propiciando incrementos nas taxas de células potencialmente viáveis após o processo de descongelação, de modo que estas possam ser utilizadas em técnicas como a inseminação artificial e fecundação in vitro.

4. HIPÓTESES CIENTÍFICAS

- Os constituintes bioquímicos do plasma seminal de catetos (*Pecari tajacu*) sofrem influência dos parâmetros ambientais em decorrência dos diferentes períodos climáticos em uma região semiárida;
- O perfil bioquímico do plasma seminal de catetos apresenta relações significativas com a qualidade espermática e seminal.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

 Avaliar os constituintes bioquímicos do plasma seminal e sua relação com os períodos climáticos e qualidade seminal em catetos criados em região semiárida.

5.2 Objetivos específicos

- Descrever o plasma seminal de catetos em clima semiárido;
- Verificar a influência das variáveis climáticas do período seco (setembro a novembro) e chuvoso (fevereiro a abril) em uma região semiárida sobre a composição bioquímica do plasma seminal de catetos;
 - Correlacionar as variáveis ambientais e os parâmetros espermáticos com o perfil bioquímico do plasma seminal de catetos.

6. REFERÊNCIAIS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAHMAN, H.A., EL-BELELY, M.S., AL-QUARAWI, A.A., EL-MOUGY, S.A. The relationship between semen quality and mineral composition of semen in various ram breeds. **Small Ruminant Research**. v.38. p.45–49,2000.

ABOU-SHA, Fadi R.; WARD, Neil I.; EVERARD, Deborah M.. The role of trace elements in male infertility. **Fertility And Sterility**, London, v. 52, n. 2, p.307-310, 1989.

AGUIAR, G.V., VAN TILBURG, M.F., CATUNDA, A.G.V., CELES, C.K.S., LIMA, I.C.S., CAMPOS, A.C.N., MOURA, A.A.A., ARAÚJO, A.A. Sperm parameters and biochemical components of goat seminal plasma in the rainy and dry seasons in the Brazilian Northeast: the season's influence on the cooling of semen. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Fortaleza, Ce, v. 65, n. 1, p.6-12, 2013.

ALTRICHTER, M., TABER, A., NOSS, A., MAFFEI, L. & CAMPOS, J. 2015. Catagonus wagneri. **The IUCN Red List of Threatened Species 2015**: e.T4015A72587993.

http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20152.RLTS.T4015A72587993.en. Downloaded on 20 February 2018.

ALVAREZ, J.G., STOREY, B.T. Role of superoxide dismutase in protecting rabbit spermatozoa from O2 toxicity due to lipid peroxidation. **Biology of Reproduction**. v.28, p.1129–1136, 1983.

AQUINO-CORTEZ, A.; CORTEZ, A. A.; SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S.; SILVA, L. D. M. Características físico-químicas do líquido prostático canino antes e após congelação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 1, p. 17-21, 2003.

ARMBRUSTER, D.A. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. **Clin. Chem.** v.33, p.2153–2163, 1987.

ARVER, S., ELIASSON, R.. Zinc and magnesium in bull and boar spermatozoa. **J. Reprod. Fert.** Stockholm, Sweden, p. 481-484, 1980.

BAAS JW, MOLAN PC, SHANNON P. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. **J Reprod Fertil**, v.68, p.275-280, 1983.

BARRANCO I, TVARIJONAVICIUTE A, PEREZ-PATIÑO C, VICENTE-CARRILLO A, PARRILLA I, CERON JJ, et al. GlutathionePeroxidase 5 Is Expressed by the Entire Pig Male Genital Tract and Once in the Seminal Plasma Contributes to Sperm Survival and In Vivo Fertility. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2016.

BARRANCO, Isabel et al. Active paraoxonase 1 is synthesised throughout the internal boar genital organs. **Reproduction**, Linköping, Sweden, v. 154, p.237-243, 2017.

- BAKER, M.A., HETHERINGTON, L., ECROYD, H., ROMAN, S.D., AITKEN, R.J. Analysis of the mechanisms by which calcium negatively regulates the tyrosine phosphorylation cascade associated with sperm capacitation. **J. Cell Sci.** v.117, p.211–222, 2004.
- BELLATONI, E. **Habitat use by mule deer and collared peccaries in an urban environment.** Report 42. Tucson: University of Arizona. p. 2-33,1991.
- BOBE, J., LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. Gen. Comp. **Endocrinol.** v.165, p.535–548, 2010.
- BUTTS, I.A.E., LITVAK, M.K., TRIPPEL, E.A. Seasonal variations in seminal plasma and sperm characteristics of wild-caught and cultivated Atlantic cod, Gadus morhua. **Theriogenology**. v.73,p. 873–885, 2010a.
- CANCEL AM, CHAPMAN DA, KILLIAN GJ. Osteopontin is the 55- kilodalton fertility-associated protein in Holstein bull seminal plasma. **Biol Reprod.**v.57,p.1293–301,1997.
- CATUNDA, A.G.V., CAMPOS, A.C.N., PEREIRA, J.F., LIMA, I.C.S., ARAÚJO,, A.A., MARTINS, G.A. Monthly variation in the concentrations of macroelements in the goat seminal plasma in humid tropical climate. **Ci. Anim. Bras**. v.10,p. 1177–1185, 2009.
- CATUNDA, AANA GLAUDIA VASCONCELOS ET AL. Concentrations of fructose, citric acid, and total protein in seminal plasma of goats raised under tropical climates in Northeastern Brazil. **Journal Of Animal And Veterinary Advances**. Fortaleza,ce, n.11, v.16,p. 2873-2878, 2012.
- COSTA, D.S.; HENRY, M.; PAULA, T.A.R.. Espermatogênese de catetos (Tayassu tajacu). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Campos dos Goytacazes, Rj, v. 56, n. 1, p.46-51, 2004.
- CHEUNG KH, LEUNG GP, LEUNG MC, SHUM WW, ZHOU WL, WONG PY. Cellcell interaction underlies formation of fluid in the male reproductive tract of the rat. **J. Gen. Physiol.** v, 125, p.443-454,2005.
- CIERESZKO, A.; OTTOBRE, J.s.; GLOGOWSKI, J.. Effects of season and breed on sperm acrosin activity and semen quality of boars. **Animal Reproduction Science**, Poland, v. 64, p.89-96, 2000.
- COSTA DS, PAULA TAR. Coleta e avaliação de sêmen de catetos (Tayassu tajacu). Biota Neotrop, v.5, n.2, p.1-6, 2005. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S167606032005000300009&script=sci_arttext&tl ng=es>. Acessado em: 11 jul. 2017.
- COSTA, G.M.J., LEAL, M.C., SILVA, J.V., FERREIRA, A.N.S., GIMARÃES, D.A., FRANÇA, L.R. Spermatogenic Cycle Length and Sperm Production in a Feral Pig Species (Collared Peccary, Tayassu tajacu). **Journal Of Andrology**. Pará, v.31, n.2, p. 221-230, 2010.
- COULTER, G. H.. BOVINE SPERMATOZOA IN VITRO: A REVIEW OF STORAGE, FERTILITY ESTIMATION AND MANIPULATION. **Theriogenology**, Canadá, v. 38, n. 197, p.197-207, 1992.

DACHEUX JL, CASTELLA S, GATTI JL, DACHEUX F. Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. **Theriogenology**.v.63, p.319-41, 2005.

DAVIS BK, BYRNE R, HUNGUND B. Studies on the mechanism of capacitation, II. Evidence for lipid transfer between plasma membrane of rat sperm and serum albumin during capacitation. **Biochim Biophys Acta**, v.558, p.257-266, 1979.

DESBIEZ, A.L.J. & KEUROGHLIAN, A. Can bite force be used as a basis for niche separation between native peccaries and introduced feral pigs in the Brazilian Pantanal? **Mammalia**, v.73, p.369-372, 2009.

ELZANATY S, RICHTHOFF J, MALM J, GIWERCMAN A. The impact of epididymal and accessory sex gland function on sperm motility. **Hum Reprod**. v.17, p.2904–11,2002.

FERREIRA, J.B.F., PIO, C.H.S., LIMA, E.S. A dosagem da ferritina no plasma seminal pode ser um marcador do estresse oxidativo no sêmen? **Newslab**, Amazonas, Ed. 94, p.170-176, 2009.

FLOWERS, William L.. Genetic and phenotypic variation in reproductive traits of AI boars. **Theriogenology**, Usa, v. 70, p.1297-1303, 2008.

FONTANA CS, BENCKE GA, REIS RE. (Org.). Livro vermelho de fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: EDIPUCRS. 632p. 2003.

FRASER, L. et al. Age and seasonal-dependent variations in the biochemical composition of boar semen. **Theriogenology**, Poland, p.806-816, 2016.

GARCÍA, MARÍA VARGAS ET AL. El aparato urogenital del pecarí de collar (Pecari tajacu Chordata: Artiodactyla): un estudio anatómico. **Ciencia Ergo-sum**, México, v. 22, n. 1, p.54-62, 2014.

GOBELLO, C.; CORRADA, Y. Biotechnology in canine reproduction: an update. **Analecta Veterinaria**, v.23, n.1, p.30-37, 2003.

GONGORA, J., REYNA-HURTADO, R., BECK, H., TABER, A., ALTRICHTER, M. & KEUROGHLIAN, A. 2011. **Pecari tajacu. The IUCN Red List of Threatened Species 2011:** e.T41777A10562361. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20112.RLTS.T41777A10562361.en. (Downloaded on 26 November 2018).

GUASTI, PRISCILLA NASCIMENTO; MONTEIRO, GABRIEL AUGUSTO; PAPA, FREDERICO OZANAM. Componentes do plasma seminal e sua influência sobre a criopreservação e fertilidade de espermatozóides equinos. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu/brasil, v. 26, p.169-180,2012.

GUIMARAES, DIVA ANELIE ET AL. Puberty in male collared peccary (Pecari tajacu) determined by quantitative analysis of spermatogenic cells. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 43, n. 1, p. 99-103, mar. 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/aa/v43n1/v43n1a12.pdf>. Acesso em: 03 Maio de 2017.

- GWATHMEY TM, IGNOTZ GG, MUELLER JL, MANJUNATH P, SUAREZ SS. Bovine seminal plasma proteins PDC-109, BSP-A3, and BSP-30-kDa share functional roles in storing sperm in the oviduct. **Biol Reprod**, v.75, p.501–7, 2006.
- HELLGREN EC, LOCHMILLER RL, AMOSS MSJR, SEAGER SW, MAGYAR SJ, COSCARELLI KP, GRANT WE. Seasonal variation in serum testosterone testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (Tayassu tajacu). **J Reprod Fertil**, v.85, p.677-686, 1989.
- HELLGREN, E.C., LOCHMILLER, R.L., AMOSS, M.S., SEAGER, S.W.J., MAGYAR, S.J., COSCARELLI, K.P., GRANT, W.E. Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (Tayassu tajacu). **J. Reprod. Fert**. v. 85, p. 677–686, 1989.
- Hermo L, Chong DL, Moffatt P, Sly WS, Waheed A, Smith CE. Region and cell specific differences in the distribution of carbonic anhydrases II, III, XII, and XIV in the adult rat epididymis. **J. Histochem Cytochem**.v.53, p.699-713, 2005.
- HERMO, L.; OKO, R. & MORALES, C.R. (1994). Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. **Internacional Review of Cytology**. v. 154, p. 106-189, 1994.
- HONG CY, CHIANG BN, TURNER P. Calcium ion is the key regulator of human sperm function. **The Lancet**. v.324, p.1449 –1451, 1984.
- JACOMO ATA. Ecologia e conservação do queixada (Tayassu pecari) na Região do Parque Nacional das emas. Tese (Doutorado) Universidade de Brasília, Brasília. 114f, 2004.
- JACYNO, E., KOŁODZIEJ, A., KAWECKA, M., PIETRUSZKA, A., MATYSIAK, B., KAMYCZEK, M.. The relationship between blood serum and seminal plasma cholesterol content in young boars and their semen qualitative traits and testes size. **Arch. Tierz.** 52, 161–168, 2009.
- JELEZARSKY, L., VAISBERG, Ch., CHAUSHEV, T., SAPUNDJIEV, E. Localization and characterization of glutathione peroxidase (GPx) in boar accessory sex glands, seminal plasma, and spermatozoa and activity of GPx in boar semen. **Theriogenology**, Sofia, Bulgaria, v. 69, p.139-145, 2008.
- JOHNSON LA, WEITZE KF, FISER P, MAXWELL WMC. Storage of boar sêmen. **Anim. Reprod. Sci**; v.62, p.143-172, 2000.
- KAHWAGE, P.R.; GARCIA, A.R.; GUIMARÃES, D.A.A.; OHASHI, O.M.; LUZRAMOS, R.S.; DIAS, H.L.T.; ALBUQUERQUE, N.I.; BARTHA, M.M.P. Biometria testicular, eletroejaculação e características seminais de caititus, Tayassu tajacu Linnaeus, 1758 (Mammalia, Artiodactyla, Tayassuidae) mantidos em cativeiro na Amazônia Oriental. **Acta Amaz.** v.40, n.4, p. 771-778, 2010.
- KARESKOSKI, MARIA; KATILA, TERTTU. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. **Animal Reproduction Science**, Saarentaus, Finland, v. 107, p.249-256, 2008.

KERR J, LOVELAND KL,O'BRYANMK, DE KRETSERDM. **The cytology of the testis and intrinsic control mechanisms.** In: Knobil E, Neil JD, editors. Physiology of reproduction. Third edition. St. Louis, MO: Elsevier Academic Press, Gulf Professional Publishing. p. 827–947,2006.

KEUROGHLIAN, A., DESBIEZ, A., REYNA-HURTADO, R., ALTRICHTER, M., BECK, H., TABER, A. & FRAGOSO, JMV 2013. **Tayassu pecari. Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN 2013:** e.T41778A44051115. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20131.RLTS.T41778A44051115.en . Baixado em 02 julho 2018.

KOGA M, KASAYAMA S. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. **Endocr J.** v.57, n.9, p.751-62, 2010.

KOVAC JR, PASTUSZAK AW, LAMB DJ. The use of genomics, proteomics, and metabolomics in identifying biomarkers of male infertility. **Fertil Steril**. v.99, p.998–1007, 2013.

KOZIOROWSKA-GILUN M, KOZIOROWSKI M, STRZE_ZEK J, FRASER L. Seasonal changes in antioxidant defence systems in seminal plasma and fluids of boar reproductive tract. **Reprod Biol.**v.11,p.37–47,2011.

Kraus M, Tichá M, Zelezná B. Characterization of human seminal plasma proteins homologous to boar AQN spermadhesins. **J Reprod Immunol**, v.65, p.33-46, 2005.

KWON, W.S., PARK, Y.J., EL-MOHAMED, S.A., PANG, M.G. 2013. Voltage dependent anion channels are a key factor of male fertility. **Fertil. Steril.**, v.99, p.354–361, 2013.

LAPOINTE, S., AHMAND, I., BUHR, M.M., SIRARD, M.A. Modulation of postthaw motility, survival, calcium uptake, and fertility of bovine sperm by magnesium and manganese. **J. Dairy Sci.** v.79,p. 2163–2169, 1996.

LEFIEVRE L, BEDU-ADDO K, CONNER SJ, MACHADO-OLIVEIRA GS, CHEN Y, KIRKMAN-BROWN JC, ET AL. Counting sperm does not add up any more: time for a new equation? **Reproduction**. v.133, p.675–84, 2007.

LEUNG GP, CHEUNG KH, LEUNG CT, TSANG MW, WONG PY. Regulation of epididymal principal cell functions by basal cells: role of transient receptor potential (Trp) proteins and cyclooxygenase-1 (COX-1). **Mol Cell Endocrinol**. v.216, p.5-13,2004.

LOCHMILLER RL, HELLGREN EC, VARNER LW, GREENE LW, AMOSS MS, SEAGER SWJ, GRANT WE. Physiological responses of the adult male collared peccary Tayasu tajacu (Tayassuidae) to severe dietary restriction. **Comp Biochem Physiol**, v.82, p.49-58, 1985.

LOPES, B.V., MONTEIRO, G.A., OVIDIO, P.P., JORDÃO JR, A.A., LOPES, M.D. Evaluation of oxidative stress on seminal plasma from fertile and subfertile dogs after oral supplementation with vitamin C and E. **Vet. Zootec**. v.18, p. 452–461,2011.

MAHAMUD, M.A., ONU, J.E., SHEHU, S.A., Umar, M.A., Bello, A. and Danmaigoro, A. Cryptorchidism in mammals: A review. Glob. **J. Anim. Sci. Res.**,v. 1 n. 3. p. 128-135,2015.

MAIA, K.M., SOUZA, A.L.P., PRAXEDES, E.C.G., BEZERRA, L.G.P., SILVA, A.M., CAMPOS, L.B., MOREIRA, S.S.J., APOLINÁRIO, C.A.C., SOUZA, J.B.F., SILVAS, A.R. Environmental factors related to a semiarid climate influence the freezability of sperm from collared peccaries (Pecari tajacu Linnaeus, 1758). 2018. **Biopres. Biobank**. v.16, p.186–190, 2018.

MAIA, K.M. et al. Environmental effects on collared peccaries (Pecari tajacu) serum testosterone, testicular morphology, and semen quality in the Caatinga biom. **Theriogenoly**, Mossoró, v. 126, p.286-294, 2019.

MANÁSKOVA, P., RYSLAVÁ, H., TICHÁ, M., JONÁKOVÁ Characterization of Proteins from Boar Prostate. **American Journal Of Reproductive Immunology**, Czech Republic, v. 48, p.283-290, 2002.

MANJUNATH P, THERIEN I. Role of seminal plasma phospholipidbinding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. **J Reprod Immunol.** v.53. p.109–19,2002.

MANN, T. Fructose content and fructolysis in semen: practical application in the evaluation of semen quality. **J. Agric. Sci.** v.38, p. 323–331, 1948.

MANN, T.. Secretory function of the prostate, seminal vesicle and other male accessory organs of reproduction. **Journals Of Reproduction & Fertility.** Cambridge, v. 37, p. 179-188,1974.

MANN, THADDEUS. **Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract.** Second edition. London. Methuen. Pp. xxiii + 493. Price 105s,1964.

MARQUEZ, B. AND SUAREZ, S.S. Different signaling pathways in bovine sperm regulate capacitation and hyper activation. **Biol. Reprod.** v. 70, p. 1626-1633,2004.

MORTON BE, SAGADRACA R, FRASER C. Sperm motility within the mam-malian epididymis: species variation and correlation with free calcium levels in epididymal plasma. **Fertil Steril**. v.29,p.659 –98,1978.

MOURA AA, CHAPMAN DA, KOC H, KILLIAN GJ. A comprehensive proteomic analysis of the accessory sex gland fluid from mature Holstein bulls. **Anim Reprod Sci.** v.98, p.169–88, 2007.

MURASE, T., IMAEDA, N., YAMADA H., MIYAZAWA K. Seasonal changes in semen characteristics, composition of seminal plasma and frequency of acrosome reaction induced by calcium and calcium ionophore A23187 in Large White boars. **Journal Of Reproduction And Development. v** 53, p. 853–865, 2007.

NIKOLOPOULOU M, SOUCEK DA, VARY JC. Changes in the lipid content of boar sperm plasma membranes during epididymal maturation. **Biochim Biophys Acta**. V. 815, p. 486-98,1985.

NOGUEIRA FILHO SLG, LAVORENTI A. O manejo do caititu (Tayassu tajacu) e do queixada (Tayassu peccary) em cativeiro. In: Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil. Belém, PA: Brasília, DF: Sociedade Civil Mamirauá. p.106-115, 1997.

NOGUEIRA-FILHO, S. G. E NOGUEIRA, S.S. Captive breeding programs as an alternative for wildlife conservation in Brazil. In: SILVINS, K.M., BODMER, R. e FRAGOSO, J.M.V. (Eds.) People and nature: wildlife conservation in South and Central America, Columbia University Press. Cap. 11, p. 171-190, 2004.

OLIVA-HERNÁNDEZ, J.; PE"REZ-GUTIÉRREZ, J.f.. Localization of the epidermal growth factor (EGF) in the epididymis and accessory genital glands of the boar and functional effects on spermatozoa. **Theriogenology**, Tabasco, Mexico, v. 70, p.1159-1169, 2008.

OSHEROFF JE, VISCONTI PE, VALENZUELA JP, TRAVIS AJ, ALVAREZ J, KOPF GS. Regulation of human sperm capacitation by a cholesterol efflux-stimulated signal transduction pathway leading to protein kinase A-mediated up-regulation of protein tyrosine phosphorilation. **Mol Hum Reprod**, v.5, p.1017-1026, 1999.

PARKS JE, LYNCH DV. Lipid composition and thermotropic phase behaviour of boar bull stallion and rooster sperm membranes. Cryobiol. 29, 255-66.1992. Parrish, J. J., Susko-Parrish, J. L., Uguz, C. & First, N. L. **Biol. Reprod**. v.51, p.1099–1108,1994.

PASTOR-SOLER N, PIETREMENT C, BRETON S. Role of acid/base transporters in the male reproductive tract and potential consequences of their malfunction. **Physiology** (Bethesda). v.20, p.417-28,2005.

PEIXOTO, G. C. X.; SILVA, M. A.; CASTELO, T. S.; SILVA, A. M.; BEZERRA, J. A. B.; SOUZA, A. L. P.; OLIVEIRA, M. F.; SILVA, A. R. Individual variation related to testicular biometry and semen characteristics in collared peccaries (Tayassu Tajacu Linnaeus, 1758). **Animal Reproduction Science**, v. 134, p. 191-196, 2012.

PIETROBON EO, SORIA M, DOMÍNGUEZ LA, MONCLUS MDE L, FORNÉS MW. Simultaneous activation of PLA2 and PLC are required to promote acrosomal reaction stimulated by progesterone via G-proteins. **Mol Reprod Dev**, v.70, p.58-63, 2005.

PURDY, P.H.. A review on goat sperm cryopreservation. **Small Ruminant Research**, Fort Collins, n. 63, p.215-225, 2004.

REID BL, CLELAND KW. The structure and function of the epididymis. I. The histology of the rat epididymis. **Aust J Zool**. v.5, p.223-45,1957.

ROBAIRE B, HERMO L. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions and their regulation. Knobil E, Neill J, editors. **The Physiology of Reproduction.** New York: Raven Press, 1988.

ROBAIRE, B.; HINTON, B.T. & ORGEBIN-CRIST, MC. The Epididymis. In: The physiology of reproduction, Knobil and J. Neil, (Ed.), p. 1071-1148, **Elsevier**, ISBN 978-0-12-515- 400, New York, EUA, 2006.

RODRÍGUEZ, A.L., RIJSSELAERE, T., BEEK, J., VYT, P., SOOM, A.V., MAES, D. Boar seminal plasma components and their relation with semen quality. **Systems Biology In Reproductive Medicine**. v.59, p. 5-12, 2013.

ROLDAN ER, SHI QX. Sperm phospholipases and acrosomal exocytosis. **Front Biosci**, v.2, p.89-104, 2007.

- RUSSEL, L.D, ETTLIN, R.A., SINHA-HIKIM, A.P., CLEGG, E.D. Histological and histopathological evaluation of the testis. **International Journal of Andrology**. p.286,1990.
- SANTOS, E. A. A., LAGO, A. E. A., SOUSA, P. C., SILVA, A. M., PAIVA, A. L. C., PAULA, V. V., PEREIRA, A. F., MOURA, A. A. A., Silva, A.R. Superoxide dismutase and catalase activity in collared peccary (Pecari tajacu) seminal plasma and their relation to sperm quality. **Semina: Ciências Agrárias.** v.39, p. 787–796, 2018.
- SANTOS, E.A.A., SOUSA, P.C., MARTINS, J.A.M., MOREIRA, R.A., MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O., MORENO, F.B.M.B., OLIVEIRA, M.F., MOURA, A.A., SILVA, A.R. Protein profile of the seminal plasma of collared peccaries (Pecari tajacu Linnaeus, 1758). **Reproduction.** v. 147, p. 753–764, 2014.
- SANTOS, T.C. Morfologia dos ovários, tubas uterinas e útero em catetos (Tayassu tajacu, Linnaeus, 1758) e queixadas (Tayassu pecari, Link, 1795). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.37, n.3, 2000.
- SEAMARK, R.F., TATE, M.E., SMEATON, T.C. The occurrence of scylloinositol and D-glyceroll-(L-myoinositol-l-hydrogen phosphate) in the male reproductive tract. **J. biol. Chem.** v.243, n.9, p. 2424- 2428, 1968.
- SILVA AF, TEÓFILO TS, CALADO EB, FONTENELE-NETO JD. Influência da testosterona na histofisiologia da glândula de cheiro do (Tayassu tajacu). In: Reunião Anual da SBPC, 57, 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira Para o Progresso da Ciência, 2005.
- SOFIKITIS, N., MIYAGAWA, I. Secretory dysfunction of the male accessory genital glands due to prostatic infections and fertility: a selected review of the literature. Jpn. **J. Fertil. Steril.** v.36, p.690–699, 1991.
- SONNER JB, MIGLINO MA, SANTOS TC, CARVALHAL R, ASSIS NETO AC, MOURA CEB, OLIVEIRA MF. **Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catetos e queixadas. Biota Neotrop**, v.4, p.1-12, 2004. Disponível em http://www.scielo.br/pdf/bn/v4n2/a06v4n2.pdf. Acessado em: 11 jul. 2017.
- SOUSA, P. C.; SANTOS, E.A.A.; SOUZA, A.L.P.; LIMA, G L; BARROS, F F P C; OLIVEIRA, M. F.; SILVA, A R. Sperm morphological and morphometric evaluation in captive collared peccaries (Pecari tajacu). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 924-930, 2013.
- SOUZA, A.L.P.; CASTELO, T.S.; QUEIROZ, J.P.A.F.; BARROS, I.O.; PAULA, V.V.; OLIVEIRA, M.F.; SILVA, A. R. . Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (Tayassu tajacu) by electroejaculation. **Animal Reproduction Science**, v. 116, p. 370-375, 2009.
- SOUZA, A.L.P., LIMA, G.L., PEIXOTO, C.G.X., SILVA, A.M., OLIVEIRA, M.F., SILVA, A.R. Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (Tayassu tajacu) by electroejaculation. **Anim. Reprod. Sci.** v.116, p.370–375, 2009.
- SOWLS, L.K. Javelines and other peccaries: Their biology, management and use. 2.ed. Tucson: Texas A&M University Press. 324p, 1997.

SOWLS, L.K. The Peccaries. Tucson: The University of Arizona Press, 1984. STRZEZEK J, FRASER L, DEMIANOWICZ W, KORDAN W, WYSOCKI P, HO1ODY D. Effect of depletion tests (DT) on the composition of boar semen. **Theriogenology**. v.54, p.949–963, 2000.

STONE, B.A. Between and within herd variation in conception rates in pig herds in the Lower North of South Australia. **Agrie. Ree**, Sth Ausi. v.4, p.22-25,1977.

SUN EL, FLICKINGER CJ. Proliferative activity in the rat epididymis during postnatal development. **Anat Rec**. v.203, p.273-84,1982.

SUQUET, M., BILLARD, R., COSSON, J., DORANGE, G., CHAUVAUD, L., MUGNIER, C., FAUVEL, C. Sperm features of turbot (Scophthalmus maximus): a comparison with other freshwater and marine fish species. **Aquat. Living Resour**. v.7, p.283–294, 1994.

TOMASZEWSKI, L., KONARSKA, L., JANCZEWSKI, Z., SKARZYNLSKA, E., LEBIODA, K., HRYCKIEWICZ, L. FRUCTOSAMINE IN HUMAN AND BOVINE SEMEN. **Pergamon Press**. v.50, p. 181-185,1992.

TROEDSSON MHT, DESVOUSGES AS, ALGHAMDI AS, DAHMS B, DOW CA, HAYNA J, ET AL. Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. **Anim Reprod Sci.** V.89, P.171-86,2005.

VERI JP, HERMO L, ROBAIRE B. Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. **J Androl**. v.14, p.23-44,1993.

VERNET P, AITKEN RJ, DREVET JR. Antioxidant strategies in the epididymis. **Mol Cell Endocrinol**;216:31-9.2004.

VIDAL, A.M. B., CATAPANI, W. R. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) immunoassaying versus microscopy: advantages and drawbacks for diagnosing giardiasis. **Sao Paulo Med J.**. São Paulo, p. 282-285, 2005.

VISCONTI PE, GALANTINO-HOMER H, MOORE GD, BAILEY JL, NING XP, FORNES M, KOPF GS. The molecular basis of sperm capacitation. **J Androl**, v.19, p.242-248, 1998.

VISCONTI,P.E.,MOORE,G.D.,BAILEY,J.L.,LECLERC,P.,CONNORS,S.A.,PAN,D., OLDS-CLARKE, P. & KOPF, G. S. **Development** (Cambridge, U.K.). v. 121, p. 1139–1150,1995.

WILLIAMS, A. C., FORD, W. C. The role of glucose in supporting motility and capacitation in human. **J. Androl.** v.22, p. 680–695, 2001.

WONG, W.Y., FLIK, G., GROENEN, P.M.W., SWINKELS, D.W., THOMAS, C.M.G., COPIUS-PEEREBOOM, J.H.J., MERKUS, H.M.W.M., STEEGERS-THEUNISSEN, R.P.M. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. **Reprod. Toxicol**. v.15, p. 131–136, 2001.

WU CJ, STOJANOV T, CHAMI O, ISHII S SHIMUZU T, LIA, O'NEILL C. Evidence for the autocrine induction of capacitation of mammalian spermatozoa. **J. Biol. Chem.** v.276, p.26962-26968, 2001.

YANAGIMACHI R. **Mammalian fertilization**. In: Knobil E, Neill JD (eds): Physiology of Reproduction 2nd ed, Raven Press Ltd, New York, p. 189-317,1994.

YEAGLE, P.L. Cholesterol and the cell membrane. **Biochim Biophys Acta.** 822, p. 267-287,1993.

ZAJA, I.Z., SAMARDŽIJA, M., VINCE, S., VILIĆ, M., MAJIĆ-BALIĆ, I., ĐURIČIĆ, D., MILINKOVIĆ-TUR, S. Differences in seminal plasma and spermatozoa antioxidative systems and seminal plasma lipid and protein levels among boar breeds and hybrid genetic traits. **Anim. Reprod. Sci.** v.170, p.75–82, 2016.

ZAJA, I.Z., SAMARDZIJA, M., VINCE, S., MAJIC-BALI, I., VILIC, M., ĐURICIC, D., MILINKOVIC-TUR, S. Influence of boar breeds or hybrid genetic composition onsemen quality and seminal plasma biochemical variables. **Animal Reproduction Science**. v. 164, p.169-176, 2016.

ZASIADCZYK, L., FRASER, L., KORDAN, W., WASILEWSKA, K. Individual and seasonal variations in the quality of fractionated boar ejaculates. **Theriogenology**. v. 83,p.1287-1303, 2015.

CAPÍTULO 1 - BIOCHEMICAL PROFILE OF COLLARED PECCARY SEMINAL PLASMA OBTAINED DURING DRY AND RAINY PERIODS IN A SEMIARID CLIMATE

Samara Sandy Jerônimo Moreira^a, Andréia Maria da Silva^a, Érica Camila Gurgel Praxedes^a, Lívia Batista Campos^a, Caio Sérgio Santos^a, Ana Liza Paz Souza^a, Alexsandra Fernandes Pereira^a, Leonardo Lelis de Macedo Costa^b, Alexandre Rodrigues Silva^a

^aLaboratory for Animal Germplasm Conservation, Federal Rural University of Semi-Arid (UFERSA), BR 110, Km 47, Mossoro, RN, 59625-900, Brazil. ^bLaboratory of Animal Biotechnology, Federal Rural University of Semi-Arid (UFERSA), BR 110, Km 47, Mossoro, RN, 59625-900, Brazil.

*Corresponding author. E-mail address: legio2000@yahoo.com (A.R. Silva)

Artigo submetido Revista Theriogenology

Qualis A2

ABSTRACT

In order to provide additional information regarding collared peccary reproductive physiology, we aimed to characterize the seminal plasma biochemical profile and to establish correlations among such biochemical contents and semen metrics and the environmental characteristics of a semiarid region. Thus, the semen from 12 mature male collared peccaries was obtained via electroejaculation during the rainy and dry periods of the Caatinga biome. Samples were evaluated for volume, pH, sperm concentration, morphology, osmotic response, membrane integrity, chromatin condensation, and kinetic patterns of motility. Regarding the biochemistry, seminal plasma was evaluated for ions and organic compounds by spectrophotometry. In parallel, meteorological conditions as rainfall, ambient temperature, humidity, and radiation were determined in both climatic periods. All components were identified in all ejaculates, with the exception of fructosamine, which was detected in only six individuals during the dry period and four individuals during the rainy period. Moreover, similar values for chloride, iron, magnesium, phosphorus, citric acid, cholesterol, triglyceride, total proteins, albumin, and fructosamine were verified during the dry and rainy periods (P > 0.05); however, the levels of fructose (849.2 mg/dL vs 115.7 mg/dL) and calcium (32.3 mg/dL vs 15.6 mg/dL) increased during the rainy period compared to that during the dry period (P < 0.05). Significant correlations (P < 0.05) were found among semen metrics and the biochemical contents, particularly between fructose and sperm concentration (R = 0.52), pH (R = 0.62), velocity average pathway (0.45), velocity curvilinear (0.47), and amplitude lateral head (0.52). In addition, we evidenced that the rainfall and relative humidity were positively correlated with fructose (R = 0.54; R = 0.79) and calcium (R = 0.54; R = 0.58) levels, while radiation negatively influenced fructose (R = -0.46; P = 0.04) levels. In conclusion, we present unprecedented data regarding collared peccary seminal plasma biochemistry that presents important correlations with semen metrics, and is largely influenced by the environmental parameters of a semiarid climate.

Keywords: wildlife; semen biochemistry; semiarid region; conservation strategies.

1. Introduction

The collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758), a type of "wild pig" native from the Americas, plays an important ecological role as a seed disperser and as prey

for large carnivores [1]. The global population has been classified as stable; however, given the continuous rates of habitat destruction and excessive poaching, it is declining in some biomes [2], such as the Caatinga [1]. In this biome, which is characterized by a semiarid climate with a short rainy period (approximately 3 months) and a long dry period (approximately 3 months), collared peccaries need to regulate their physiological functions to adapt to certain periods of thermal stress [3].

As a tentative to safeguard the collared peccary's germplasm, the cryopreservation of its semen has been highlighted [4,5]. In this regard, it was recently demonstrated that the environmental parameters of a semiarid climate in terms of air temperature and relative humidity did not affect the quality of collared peccary fresh sperm but did influence the freezability of the sperm in terms of a reduction of sperm motility and membrane integrity in samples frozen-thawed during the dry period of the Caatinga [6]. It is possible that a protective factor identified during the rainy period also exists in the peccaries, as was reported for the seminal plasma from ovine [7], caprine [8], and swine [9], the domestic species most closely related to the collared peccary [10].

Seminal plasma is a fluid resulting from the combination of secretions originating from the testes, epididymis, and accessory glands such as the vesicular, prostatic, and bulbourethral glands as described for the collared peccary [11]. In this species, information regarding seminal plasma composition is limited to two studies. The first identified 179 different proteins in collared peccary seminal plasma, with porcine spermadhesin PSP-1 (20.9%), clusterine (19.8%), and bodhesin-2 (10.2%) found to be the most abundant [12]. Recently, the same authors evidenced the antioxidant activity of the enzyme, superoxide dismutase, during the dry season of the Caatinga, but did not find any correlation between the enzyme and the sperm parameters [13].

In addition to proteins and antioxidant enzymes, mammals' seminal plasma is typically rich in many other constituents. In domestic swine, various inorganic compounds, such as calcium and magnesium, as well as organic contents such as proteins and lipids, were identified [14]. Therefore, we aimed to characterize the biochemical profile of seminal plasma from collared peccaries raised under semiarid conditions in the Caatinga biome. Moreover, we identified the effect of the environmental period (dry or rainy) on the seminal plasma biochemical contents and established correlations among such contents and the environmental variables.

2. Materials and methods

The UFERSA ethics committee approved the experimental protocols, as well as the animal care procedures used (no. 23091.008820 / 2016-03). The study was authorized by the Chico Mendes Institute for Biodiversity (no. 37329). All chemicals used were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), unless otherwise indicated.

2.1. Local and Animals

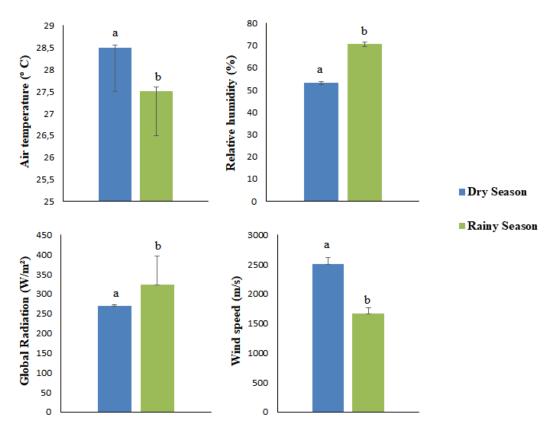
Twelve sexually mature animals were used, with a mean age of 22.75 ± 1.87 months, weighing on average 20.13 ± 0.45 kg at the commencement of the experiment. The animals belonged to the Centre for Wild Animals Multiplication (no. 1478912), located in the city of Mossoró, RN (latitude: 5° 10'S, longitude: 37° 10'W; altitude: 16 m, typical semiarid climate). The collared peccaries were separated into three groups of four animals, kept in pickets ($20 \text{ m} \times 3 \text{ m}$), with a covered area ($3 \text{ m} \times 3 \text{ m}$) under a natural 12 h photoperiod. Animals were fed pig food and fruits and were provided with water *ad libitum*.

2.2. Environmental conditions

To characterize the dry and rainy periods of the semiarid climate in the Caatinga, we obtained the data regarding total rainfall (in mm) in each period from the automatic station of the National Institute of Meteorology (INMET), located in Mossoró, RN, Brazil. During the experiment, significant differences were found in the total rainfall between the dry (0.01 mm; September, October, and November 2016) and rainy (266.08 mm; February, March, and April 2017) periods (P < 0.05).

Moreover, significant differences related to the average air temperature (Ta, °C), relative humidity (RH, %), radiant heat load (W/m²), and wind speed (m/s), as determined by the automatic weather station (Campbell Scientific Brasil, São Paulo, Brazil) located 50 m from the experiment site, were found between the dry and rainy periods (Fig. 1).

Figure 1. Environmental parameters related to air temperature ($^{\circ}$ C), relative air humidity ($^{\circ}$), global radiation (W / m²), and wind speed (m/s) verified during dry (September, October and November 2016) and rainy (February, March and April 2017) periods in the semiarid region.



 a,b Lowercase superscript letters indicate difference among periods (P < 0.05).

2.2. Semen collection

For each climatic period, one ejaculate was obtained from each animal. For this purpose, the animals fasted for 12 h, were initially restrained with a hand net, and were then anesthetized with propofol (Propovan®, Cristália, Fortaleza, Brazil) at an intravenous dose of 5 mg/kg. Throughout the experimental procedure, the animals were submitted to fluid therapy (sterile saline solution 0.9%) and their heart and respiratory rates were monitored [15]. The animals were then placed in a lateral decubitus position and electroejaculated as previously described for the species [4] with a portable device (Autojac®, Neovet, Campinas, SP, Brazil) connected to a 12 V source. The ejaculates were collected in plastic tubes and immediately evaluated.

2.3. Semen evaluation

Semen volume was measured with the aid of micropipettes. The pH was determined using pH-indicator strips (Neutralit®, Merck, Bucharest, Romania) [15]. Sperm concentration (in millions of sperm/mL) was determined in a Neubauer counting chamber. For the analysis of sperm morphology (%), smears stained in Bengal Rose were evaluated by light microscopy (1000 ×), counting 200 cells per slide. Sperm membrane functionality was determined by evaluating the osmotic response of the sperm to the hypo-osmotic test using distilled water (0 mOsm/L). A total of 200 cells were examined and those with swollen and coiled tails were considered to have a functional membrane (%). Membrane integrity was assessed via fluorescence microscopy using carboxyfluorescein diacetate and propidium iodide as probes [5], with the sperm marked in green classified as intact, while those totally or partially marked in red classified as non-intact. The chromatin integrity was evaluated using a smear stained with toluidine blue dye. The sperm that were stained light blue were classified as normal (negative) and those stained violet to dark blue were considered to have altered chromatin (positive) [16]. Sperm motility kinetic parameters were assessed by a Computer Assisted Semen Analysis (CASA – IVOS 12.0, Hamilton-Thorne, Beverly, USA), using the settings previously determined for the species [5].

2.4. Seminal plasma separation and analysis

After the initial analysis, the seminal plasma was obtained by centrifugation at 700 × g for 10 min. The supernatant was transferred to microtubes (1.5 mL) and stored at -20°C until analysis. The samples were analyzed via the absorbance determined by spectrophotometry (SP-22[®], Biospectro, Curitiba, PR, Brazil) [17]. The biochemical parameters, ions such as calcium, chloride, iron, magnesium, and phosphorus; and organic compounds as cholesterol, triglycerides, total protein, albumin, and fructosamine, were estimated using commercial biological kits (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brazil), while the fructose and citric acid levels were estimated using the Espermoteste[®] kit (InVitro Diagnostic S/A, Itabira-MG, Brazil).

2.5. Statistical analysis

Data are expressed as the mean and standard error and evaluated by Statview 5.0 software (SAS, Cary, NC, USA). Values were tested for normality using the Shapiro-Wilk test and further arc si transformed when necessary. The effects of the climatic period (rainy vs dry) on semen parameters was determined using an analysis of variance

(ANOVA) followed by Tukey's test. The same effects on the biochemical compounds of seminal plasma were evaluated using the Mann-Whitney test. To verify the existence of correlations among biochemical parameters and semen metrics or environmental characteristics, Spearman's correlation was applied. For all analyses, P < 0.05 was considered to be statistically significant.

3. Results

In both periods, the ejaculates presented with a milky-white color. The semen parameters related to volume, sperm concentration, normal morphology, osmotic response, membrane integrity, and chromatin condensation did not differ between periods, but the pH was more alkaline during the rainy season (Table 1). Regarding the kinetic parameters (Table 2), higher velocity average pathway (VAP), velocity straight line (VSL), velocity curvilinear (VCL), and amplitude lateral head (ALH) values were found during the rainy season than during the dry season (P < 0.05); however, an increase in the medium sperm subpopulation was verified during the dry season (P < 0.05).

Table 1. Mean values (\pm SEM) for collared peccaries' (n = 12) semen parameters obtained through electroejaculation during dry and rainy periods of a semiarid climate.

Semen parameters	Dry period	Rainy period
Volume (mL)	1.85 ± 0.4	1.87 ± 0.5
pH (0 – 14)	7.9 ± 0.3^a	8.5 ± 0.3^{b}
Concentration ($\times 10^6$ sperm/mL)	245.8 ± 50.2	295.8 ± 60.6
Normal morphology (%)	80.4 ± 4.0	72.1 ± 7.1
Osmotic response (%)	75.3 ± 5.5	80.3 ± 2.9
Membrane integrity (%)	84.9 ± 2.3	81.8 ± 1.3
Chromatin condensation (%)	99.6 ± 0.1	99.1 ± 0.3

^{a,b} Superscript lowercase letters indicate significant differences between columns (P < 0.05).

Table 2. Mean values (\pm SEM) for collared peccaries' (n = 12) sperm kinetic motility patterns in ejaculates obtained through electroejaculation during dry and rainy periods of a semiarid climate.

Sperm kinetic motility patterns	Dry period	Rainy period
Total Motility (%)	64.3 ± 6.4	58.5 ± 9.1
Progressive Motility (%)	24.4 ± 4.6	29.1 ± 7.0
Velocity average pathway (mm/s)	38.0 ± 1.3^{b}	47.2 ± 3.3^{a}
Velocity straight line (mm/s)	21.3 ± 0.8^{b}	27.7 ± 2.2^{a}
Velocity curvilinear (mm/s)	80.0 ± 3.1^{b}	98.1 ± 6.3^{a}
Amplitude lateral head (mm)	$5.7 \pm 0.1^{\rm b}$	6.7 ± 0.2^{a}
Beat cross frequency (Hz)	30.3 ± 1.0	29.8 ± 1.5
Straightness (%)	54.6 ± 2.0	57.4 ± 1.7
Linearity (%)	27.2 ± 1.5	29.1 ± 1.5
Sperm subpopulations		
Rapid (%)	42.2 ± 5.5	43.2 ± 8.8
Medium (%)	22.1 ± 3.1^{a}	10.5 ± 1.3^{b}
Slow (%)	7.4 ± 1.2	9.3 ± 4.4
Static (%)	28.4 ± 6.0	37.0 ± 9.0

 $^{^{}a,b}$ Superscript lowercase letters indicate significant differences between columns (P < 0.05).

Concerning the biochemical contents of the seminal plasma (Table 3), the presence of all tested compounds was confirmed in all ejaculates, with the exception of fructosamine, which was detected in only six individuals during the dry period and four individuals during the rainy period. From these individuals, fructosamine was found in only three in both periods. In addition, we verified an increase in fructose and calcium concentrations during the rainy period compared to those during the dry period (P < 0.05).

Table 3. Mean values (\pm SEM) for collared peccaries' (n = 12) seminal plasma biochemical contents found during dry and rainy periods of a semiarid climate.

		Dry 1	period	Rainy period		
Biochemical Components	Mean	Median	Range	Mean	Median	Range
Ions						
Calcium (mg/dL)	15.6 ^b	11.0	0.3 - 49.4	32.3 ^a	29.3	4.5 - 57.7
Chloride (mEq/L)	315.6	139.2	16.5 - 1218.2	271.3	234.8	59.8 - 535.4
Iron ($\mu g/dL$)	210.9	205.4	0 - 625.6	423.2	267.2	0 - 1470
Magnesium (mg/dL)	5.7	6.1	0.6 - 7.0	5.9	5.95	4.6 - 7.0
Phosphorus (mg/dL)	12.3	6.8	1.6 - 47.4	75.1	4.6	1.7 - 342.2
Organic compounds						
Citric acid (mg/dL)	140.8	132.3	2.1 - 358.3	169.7	158.9	95.5 - 300
Fructose (mg/dL)	115.7 ^b	46.9	3.3 - 450	849.2 ^a	827.8	150 - 1800
Cholesterol (mg/dL)	152.3	132.8	35.9 - 328	332.0	323.0	7.9 - 867.3
Triglycerides (mg/dL)	296.1	127.2	5.0 - 918.8	306.8	299.2	9.2 - 676.7
Total Proteins (g/dL)	8.0	6.8	0.3 - 23.38	7.0	5.1	0.8 - 18.8
Albumin (g/dL)	9.4	6.9	0.4 - 34.2	3.0	2.4	0.6 - 7.4
Fructosamine (mmol/L)	403.6	377.5	0 - 780.1	198.4	125.6	0 - 798.3

 $^{^{}a,b}$ Superscript lowercase letters indicate difference among columns (P < 0.05).

Significant correlations (P < 0.05) were found among semen metrics and the biochemical contents of the collared peccaries' seminal plasma (Table 4), with the exceptions of phosphorus and fructosamine. Among the compounds, fructose had more positive correlations with various semen metrics such as sperm concentration (R = 0.52), pH (R = 0.62), VAP (0.45), VCL (0.47), and ALH (0.52), and a negative correlation with the medium sperm subpopulation (R = -0.55).

Table 4. Correlations (R) between the biochemical components of the seminal plasma and the semen metrics in collared peccaries.

Ions					Organic compounds					
Semen metrics Cal	Calcium	Chlorides	Iron	Magnesium	Cítric Acid	Fructose	Cholesterol	Triglycerides	Total Proteins	Albumin
Osmotic response	-0.61 P=0.008	-0.52 P=0.013	n.s	n.s	-0.70 P=0.002	n.s	-0.47 P=0.042	-0.59 P=0.023	n.s	-0.61 P=0.008
Normal morphology	n.s	n.s	n.s	0.47 P=0.026	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	0.56 P=0.015
Sperm concentration	0.63 P=0.006	0.71 P=0.001	0.63 P=0.038	0.57 P=0.007	0.61 P=0.008	0.52 P=0.017	n.s	n.s	0.64 P=0.004	n.s
pH	0.63 P=0.006	0.58 P=0.006	n.s	n.s	0.58 P=0.012	0.62 P=0.004	n.s	0.62 P=0.016	n.s	n.s
Velocity average pathway	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	0.45 P=0.038	n.s	n.s	n.s	n.s
Velocity curvilinear	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	0.47 P=0.032	n.s	n.s	n.s	n.s
Amplitude lateral head	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	0.52 P=0.018	n.s	n.s	n.s	n.s
Medium sperm subpopulation	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	-0.55 P=0.012	n.s	n.s	n.s	n.s

n.s.- non significant

With regard to the environmental parameters, the total rainfall was positively correlated with various biochemical components of the collared peccaries' seminal plasma such as citric acid (R = 0.49; P = 0.03), fructose (R = 0.54; P = 0.01), calcium (R = 0.54; P = 0.02), cholesterol (R = 0.54; P = 0.02), total protein (R = 0.45; P = 0.04), and chloride (R = 0.45; P = 0.03) levels. Moreover, the relative humidity was positively correlated with fructose (R = 0.79; P = 0.01) and calcium (R = 0.58; P = 0.01) levels. However, radiation was negatively correlated with fructose (R = -0.46; P = 0.04) and triglyceride (R = -0.58; P = 0.03) levels.

4. Discussion

Nature has endowed the spermatozoa with the means of highly efficient utilization of exogenous sources of energy and regulating agents such as those that are accessible to the sperm in their natural environment, the seminal plasma [18]. In consideration of the great importance of semen biochemistry, we present unprecedented data regarding the biochemical composition of collared peccary seminal plasma, in which we identified various inorganic and organic contents similar to those previously reported for other mammals [18].

Among the inorganic compounds, important ions such as calcium, magnesium, chloride, iron, and phosphorus were identified in collared peccary seminal plasma. At physiological levels, calcium regulates intracellular ATP, and thus contributes to sperm movement [19]. In excess, it can induce precocious acrosome exocytosis and thus reduce the male fertility [20], which can justify the existence of negative correlations among calcium levels in collared peccary seminal plasma and the sperm osmotic response. In addition, magnesium is a cation that acts in >300 enzymatic reactions related to sperm energy metabolism [21], and also contributes to sperm motility by the induction of adenylcyclase activity [22]. Regarding the proportion of calcium (15.6 mg/dL) and magnesium (5.7 mg/dL) levels in the collared peccaries' seminal plasma, it is important to highlight that it is inverse to that found for pigs, which have relatively low levels of calcium (3.2 mg/dL) compared to magnesium (37.8 mg/dL) [23]. In this regard, we can infer that the seminal plasma of the collared peccary is similar to that of other domestic species such as the bull, ram, and horse, in which higher levels of calcium relative to magnesium were also identified [18]. This could be one of the reasons why semen technologies previously developed for the domestic swine typically offer low efficiency for collared peccaries, while those protocols adapted from ruminants are effective in this wild species [4,24].

Regarding the other ions identified in the collared peccaries' seminal plasma, chloride regulates the sperm membrane potential [25], which can explain its correlations with the sperm osmotic response found for collared peccaries. Iron participates in the transport of electrons and oxygen, and is also essential for DNA synthesis [26]. In this regard, iron can potentially interfere with collared peccary spermatogenesis, as we found positive correlations between the iron levels in the seminal plasma and the sperm concentration. Moreover, phosphorus, which did not correlate with the collared peccary semen metrics, is known to act in events related to cell signaling and sperm energy metabolism via enzyme regulation [27].

Concerning the organic compounds identified in the collared peccaries' seminal plasma, citric acid aids the maintenance of the osmotic equilibrium of the sperm by acting as an activator of acid phosphatase, and also contributes to sperm motility by acting in combination with sodium and potassium [28], the levels of which were not investigated in present study. In collared peccaries, citric acid was negatively correlated with the sperm osmotic response, which indicates that its increase could impair the membrane's osmotic equilibrium.

Fructose is a carbohydrate that is typically produced by the seminal vesicle gland. It is used to produce ATP, which is converted in energy to be used for sperm movement [29]. This may be why the fructose level was positively correlated with some kinetic patterns of the collared peccaries' sperm movement, such as the VAP, VSL, VCL, and medium sperm subpopulation. Additionally, mammalian spermatozoa can obtain energy via glycolysis and the Krebs cycle by consumption of monosaccharides, such as glucose, fructose, and mannose. Although all species can use most of the monosaccharides, the specific manner of metabolism varies among species [30]. In collared peccaries, the first attempt of semen cryopreservation demonstrated that their sperm seem to be able to equally metabolize both fructose and glucose present in the extender [4]; however, the presence of glucose on collared peccary seminal plasma remains to be further investigated.

With regard to lipids, it is known that triglyceride acts on sperm motility and viability by contributing as an energetic source [31]. In domestic swine, triglyceride concentration in the seminal plasma is positively correlated with the sperm concentration [14], differentto that found in the collared peccaries in the present study.

Regarding cholesterol, the levels in seminal plasma are typically positively correlated with sperm motility and concentration [32]; however, in collared peccaries, cholesterol was negatively correlated with osmotic response. Such correlations could be explained by the fact that cholesterol is the main esterol present in the sperm membrane, contributing to its fluidity [33], and acts as a protective agent against the thermal shock derived from changes in environmental temperature [34].

The presence of various proteins, including albumin [12], was previously detected in collared peccary seminal plasma, as was observed in this study. Albumin is involved in the protective mechanisms of the sperm membrane, specifically due to its absorptive abilities [35], which justifies the correlations found among albumin levels in collared peccary seminal plasma and sperm osmotic response and morphology.

Fructosamine is a glycated protein that is not commonly investigated in the seminal plasma of animals, but its high levels can indicate the inefficient use of glucose by the organism [36]. In humans, who present with both glucose and fructose as sugar sources in their seminal plasma, a fructosamine level increase is indicative of infertility [37]. However, it is suggested that the existence of distinct species-specific differences is related to the impact of the presence of fructosamine in semen, as bovines that present with no traces of glucose in their seminal plasma, but only fructose (128-679.2 mg/dL), no correlation between fructosamine and infertility has been reported [37]. In collared peccaries, which present with high levels of fructose in their seminal plasma (115.7-827.8 mg/dL), the impact of fructosamine on reproductive performance remains unknown, particularly because it was not evidenced in the ejaculates of all individuals and was not correlated with the sperm metrics or seasonal variation. However, it is also known that fructosamine is consumed by superoxide dismutase (SOD), and is indirectly used to determine the activity of this antioxidant enzyme in the seminal plasma of dogs [38]. Recently, the presence of SOD was detected in the seminal plasma of collared peccaries [13], but its relation to fructosamine remains to be investigated.

It is known that climatic changes have a major impact on animals' reproductive physiology [39]. In collared peccary seminal plasma, an increase in fructose and calcium concentrations during the rainy period was detected, while other contents underwent no alteration between periods. This fructose concentration increase in the seminal plasma was also verified in goats during the rainy season in the same biome [25]. Since fructose acts as an energetic supply for the cell, thus interfering with sperm movement [29], the higher amount available during the rainy season could contribute to

the improved freezability of the collared peccary sperm obtained during this period compared to that obtained during the dry season, as reported by Maia et al.[6]. However, seasonal alterations in the seminal plasma calcium concentration were observed neither in goats raised in the Caatinga biome [8] nor in pigs raised in Japan's climatic conditions [40]. According to Strzezek et al. [41], variations in swine seminal plasma contents could be attributed to alterations in the secretions produced by the seminal vesicle gland, the function of which is dependent on testosterone levels that can vary according to different meteorological conditions. In collared peccaries, seasonal variations in testosterone levels were reported to occur [42], which could potentially provoke alterations in seminal vesicle secretions and thus cause variations in seminal plasma contents.

In addition to variations in the biochemical compound levels in the seminal plasma, an increase in some kinetic patterns of sperm movement, which are correlated with fructose increases, was verified in the collared peccaries during the rainy period. We highlight, however, that seasonal variations in these sperm kinetic patterns in fresh ejaculates were not verified by Maia et al. [6]. However, during the execution of this previous study, the total recorded rainfall was only 73.2 mm during the rainy period (March-May 2016), while we observed a total rainfall of 266.1 mm (February-April 2017) in the same biome. These discrepancies indicate that the reduction of 40-50% in rainfall at the end of the century, as estimated for Caatinga due to climatic changes [43], will likely impair collared peccaries' reproductive performance. Indeed, the existence of positive correlations between environmental variables, such as rainfall and the relative humidity, and the various biochemical contents of collared peccary seminal plasma, particularly fructose and calcium levels, highlights this seasonal effect on the biochemical composition of the seminal plasma. Such alkaline components also impact the semen pH, which increased during the rainy period. This is particularly notable for fructose, which seems to be the most susceptible parameter to environmental influence. Therefore, it is believed that seasonal changes in the biochemical components of the seminal plasma are influenced by environmental parameters, particularly in the warmer months, when temperatures exceed the thermal comfort zone [25].

In summary, we provide, for the first time, data regarding the influence of environmental parameters of a semiarid climate, according to the dry or rainy period, on the biochemical contents of collared peccary seminal plasma. Moreover, we demonstrate that such biochemical contents are correlated with various semen metrics in

this species. We highlight the importance of this information in the monitoring of the species, specifically against the climatic changes expected in the Caatinga, and in the development of strategies for collared peccary conservation.

Conflict of interest

None of the authors have any conflict of interest to declare.

Authors' contributions

S.S.J. Moreira, A.M. Silva, E.C.G. Praxedes, L.B. Campos, C.S. Santos, A.L.P. Souza, A.F. Pereira, L.L.M. Costa, A.R. Silva performed the experiment and collected the data generated. All authors contributed to analysis, interpretation of the result and writing of the paper.

Acknowledgement

The Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES, Financial Code 001) and the National Council for the Scientific Development (CNPq, Process N° 04927/2015-5) supported this research. The authors thank CEMAS/UFERSA for providing animals used in this experiment.

5. References

- [1]Desbiez, A.L.J., Keuroghlian, A., Beisiegel, B.M., Medici, E.P., Andressa, G., Antônio, R.M. et al. 2012. Evaluation of the risk of extinction of the collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) in Brazil. Biodiv. Bras. 2, 74–83.
- [2]Gongora, J., Reyna-Hurtado, R., Beck, H., Taber, A., Altrichter, M. & Keuroghlian, A. 2011. Pecari tajacu. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T41777A10562361. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T41777A10562361.en. (Downloaded on 26 November 2018).
- [3]Zervanos, S.M. 1975. Seasonal effects of temperature on the respiratory metabolism of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). Comp. Biochem. Physiol. A Comp Physiol. 50, 365–371. https://doi.org/10.1016/0300-9629(75)90027-4.
- [4]Castelo, T.S., Bezerra, F.S.B., Lima, G.L., Alves, H.M., Oliveira, I.R.S., Santos, E.A.A., Peixoto, G.C.X., Silva, A.R. 2010. Effect of centrifugation and sugar supplementation on the semen cryopreservation of captive collared peccaries

- (*Tayassu tajacu*). Cryobiology 61, 275–279. https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2010.09.005.
- [5]Souza, A.L.P., Lima, G.L., Peixoto, G.C.X., Silva, A.M., Oliveira, M.F., Silva, A. R. 2016. Use of Aloe vera-based extender for chilling and freezing collared peccary (*Pecari tajacu*) semen. Theriogenology 85, 1432–1438. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.007.
- [6] Maia, K.M., Souza, A.L.P., Praxedes, E.C.G., Bezerra, L.G.P., Silva, A.M., Campos, L.B., Moreira, S.S.J., Apolinário, C.A.C., Souza, J.B.F., Silvas, A.R. 2018. Environmental factors related to a semiarid climate influence the freezability of sperm from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). 2018. Biopres. Biobank. 16, 186–190. https://doi.org/10.1089/bio.2017.0124.
- [7]Dominguez, M.P., Falcinelli, A., Hozbor, F., Sánchez, E., Cesari, A., Alberio, RH. 2008. Seasonal variations in the composition of ram seminal plasma and its effect on frozen-thawed ram sperm. Theriogenology 69, 564–573. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.11.010.
- [8] Aguiar, G.V., Van Tilburg, M.F., Catunda, A.G.V., Celes, C.K.S., Lima, I.C.S., Campos, A.C.N., Moura, A.A.A., Araújo, A.A. 2013. Sperm parameters and biochemical components of goat seminal plasma in the rainy and dry seasons in the Brazilian Northeast: the season's influence on the cooling of semen. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 65, 6–12. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000100002.
- [9]Corcini, C.D., Varela Jr, A.S., Pigozzo, R., Rambo, G., Goularte, K.L., Calderam, K., Leon, P.MM., Bongalhardo, D.C., Lucia Jr, T. 2012. Prefreezing and post-thawing quality of boar sperm for distinct portions of the ejaculate and as a function of protein bands present in seminal plasma. Livestock Sci. 145, 28–33. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.12.016.
- [10]Sowls, L.K. 1997. Javelines and other peccaries: Their biology, management and use. 2.ed. Tucson: Texas A&M University Press. 324p.
- [11] García, M.G.V., Sánchez, E.Q., Reyes, U.A., Vilchis, O.M., Mora, J.M.V., Blasio, A.L., Guadarrama, V.F. 2015. Urogenital system of collared peccary (*Pecari Tajacu* Chordata: Artiodactyla): an anatomical study. Ciencia Ergo-sum 22, 54-62.
- [12]Santos, E.A.A., Sousa, P.C., Martins, J.A.M., Moreira, R.A., Monteiro-Moreira, A.C.O., Moreno, F.B.M.B., Oliveira, M.F., Moura, A.A., Silva, A.R. 2014. Protein profile of the seminal plasma of collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Reproduction 147, 753–764. https://doi.org/10.1530/rep-13-0220.

- [13]Santos, E. A. A., Lago, A. E. A., Sousa, P. C., Silva, A. M., Paiva, A. L. C., Paula, V. V., Pereira, A. F., Moura, A. A. A., Silva, A.R. 2018. Superoxide dismutase and catalase activity in collared peccary (Pecari tajacu) seminal plasma and their relation to sperm quality. Semina 39, 787–796. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n2p787.
- [14]Zaja, I.Z., Samardžija, M., Vince, S., Vilić, M., Majić-Balić, I., Đuričić, D., Milinković-Tur, S. 2016. Differences in seminal plasma and spermatozoa antioxidative systems and seminal plasma lipid and protein levels among boar breeds and hybrid genetic traits. Anim. Reprod. Sci. 170, 75–82. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.006.
- [15]Souza, A.L.P., Lima, G.L., Peixoto, C.G.X., Silva, A.M., Oliveira, M.F., Silva, A.R. 2009. Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) by electroejaculation. Anim. Reprod. Sci. 116, 370–375. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.007.
- [16]Beletti, M. E., Mello, M. L. S. 2004. Comparison between the toluidine blue stain and the Feulgen reaction for evaluation of rabbit sperm chromatin condensation and their relationship with sperm morphology. Theriogenology 62, 398–402. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.10.016.
- [17] Aquino-Cortez, A., Pinheiro B.Q., Silva, H.V.R., Lima, D.B.C., Silva, T.F.P., Souza, M.B., Viana, D.A., Xavier-Jr., F.A.F., Evangelista, J.S.A.M., Brandão, F.Z, Silva, L.D.M. 2017. Serum testosterone, sperm quality, cytological, physicochemical and biochemical characteristics of the prostatic fraction of dogs with prostatomegaly. Reprod. Dom. Anim. 52, 998–1003. https://doi.org/10.1111/rda.13009.
- [18] Mann, T. 1954. The Biochemistry of Semen. London: Methuen & Co. Ltd. 1958p.
- [19]Baker, M.A., Hetherington, L., Ecroyd, H., Roman, S.D., Aitken, R.J. 2004. Analysis of the mechanisms by which calcium negatively regulates the tyrosine phosphorylation cascade associated with sperm capacitation. J. Cell Sci. 117, 211–222. https://doi.org/10.1242/jcs.00842.
- [20]Kwon, W.S., Park, Y.J., El-mohamed, S.A., Pang, M.G. 2013. Voltage dependent anion channels are a key factor of male fertility. Fertil. Steril., 99, 354–361. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.021.
- [21]Wong, W.Y., Flik, G., Groenen, P.M.W., Swinkels, D.W., Thomas, C.M.G., Copius-Peereboom, J.H.J., Merkus, H.M.W.M., Steegers-Theunissen, R.P.M. 2001. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on

- semen parameters in men. Reprod. Toxicol. 15, 131–136. https://doi.org/10.1016/s0890-6238(01)00113-7.
- [22] Lapointe, S., Ahmand, I., Buhr, M.M., Sirard, M.A. 1996. Modulation of postthaw motility, survival, calcium uptake, and fertility of bovine sperm by magnesium and manganese. J. Dairy Sci. 79, 2163–2169. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(96)76592-x.
- [23]Pipan, M.Z., Mrkun, J., Strajn, B.J., Vrtač, K.P., Kos, J., Pišlar, A., Zrimšek, P. 2017. The influence of macro-and microelements in seminal plasma on diluted boar sperm quality. Acta Vet. Scand. 59, 2-9. https://doi.org/10.1186/s13028-017-0279-y.
- [24]Souza, A.L.P., Lima, G.L., Peixoto, G.C.X., Castelo, T.S., Oliveira, M.G.C., Paula, V.V., Silva, A.R. 2015. Sperm characteristics following freezing in extenders supplemented with whole egg yolk and different concentrations of low-density lipoproteins in the collared peccary (*Pecari tajacu*). Reprod. Biol. 15, 223–228. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2015.10.006.
- [25]Catunda, A.G.V., Campos, A.C.N., Pereira, J.F., Lima, I.C.S., Araújo, A.A., Martins, G.A. 2009. Monthly variation in the concentrations of macroelements in the goat seminal plasma in humid tropical climate. Ci. Anim. Bras. 10, 1177–1185.
- [26]Hermes-Lima, M. 2004. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals.
 In: Storey, K.B., Ed., Functional Metabolism: Regulation and Adaptation, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. p. 319-368.
- [27] Abdel-Rahman, H.A., El-Belely, M.S., Al-Quarawi, A.A., El-Mougy, S.A. 2000. The relationship between semen quality and mineral composition of semen in various ram breeds. Small Rum. Res. 38, 45–49. https://doi.org/10.1016/s0921-4488(00)00137-1.
- [28]Mann, T. 1948. Fructose content and fructolysis in semen: practical application in the evaluation of semen quality. J. Agric. Sci. 38, 323–331. https://doi.org/10.1017/s0021859600006109.
- [29] Williams, A. C., Ford, W. C. 2001. The role of glucose in supporting motility and capacitation in human. J. Androl. 22, 680–695. https://doi.org/10.1002/mrd.1120080404.
- [30]Rikmenspoel, R., Caputo, R. 1966. The Michaelis–Menten constant for fructose and for glucose of hexokinases in bull spermatozoa. J. Reprod. Fertil. 12, 437–444. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0120437.

- [31] Juyena, N.S., Stelletta, C. Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. 2012. J. Androl. 33, 536–551. https://doi.org/10.2164/jandrol.110.012583.
- [32] Jacyno, E., Kołodziej, A., Kawecka, M., Pietruszka, A., Matysiak, B., Kamyczek, M., 2009. The relationship between blood serum and seminal plasma cholesterol content in young boars and their semen qualitative traits and testes size. Arch. Tierz. 52, 161–168. https://doi.org/10.5194/aab-52-161-2009.
- [33]Yeagle, P.L. 1985. Cholesterol and the cell membrane. Biochim. Biophys. Acta 822, 267–287. https://doi.org/10.1016/0304-4157(85)90011-5.
- [34]Sofikitis, N., Miyagawa, I. 1991. Secretory dysfunction of the male accessory genital glands due to prostatic infections and fertility: a selected review of the literature. Jpn. J. Fertil. Steril. 36, 690–699.
- [35]Alvarez, J.G., Storey, B.T. 1983. Role of superoxide dismutase in protecting rabbit spermatozoa from O₂ toxicity due to lipid peroxidation. Biol. Reprod. 28, 1129–1136. https://doi.org/10.1095/biolreprod28.5.1129.
- [36] Armbruster, D.A. 1987. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. Clin. Chem. 33, 2153–2163.
- [37]Tomaszewski, L., Konarska, L., Janczewski, Z., Lebioda, E.S.K., Hryckiewicz, L. 1992. Fructosamine in human and bovine semen. Pergamon Press. p. 181-185. https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90270-y.
- [38]Lopes, B.V., Monteiro, G.A., Ovidio, P.P., Jordão Jr, A.A., Lopes, M.D. 2011. Evaluation of oxidative stress on seminal plasma from fertile and subfertile dogs after oral supplementation with vitamin C and E. Vet. Zootec. 18, 452–461.
- [39]Qu, J., Yang, M., Li, W., Chen, Q., Zhaorong, M., Xu, W., Zhang, Y. 2016. Effects of climate change on the reproduction and offspring sex ratio of plateau pika (Ochotona curzoniae on the Tibetan Plateau. J. Arid Environ. 134, 66–72. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2016.06.008.
- [40]Murase, T., Imaeda, N., Yamada H., Miyazawa K. 2007. Seasonal changes in semen characteristics, composition of seminal plasma and frequency of acrosome reaction induced by calcium and calcium ionophore A23187 in Large White boars. J. Reprod. Dev. 53, 853–865. https://doi.org/10.1262/jrd.19026.
- [41]Strzezek, J., Fraser L., Demianowicz, W., Kordan, W., Wysocki, P., Hoody, D. 2000. Effect of depletion tests (DT) on the composition of boar semen. Theriogenology 54, 949–963. https://doi.org/10.1016/s0093-691x(00)00404-0.

- [42]Hellgren, E.C., Lochmiller, R.L., Amoss, M.S., Seager, S.W.J., Magyar, S.J., Coscarelli, K.P., Grant, W.E. 1989. Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). J. Reprod. Fert. 85, 677–686. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0850677.
- [43]Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas PBMC. 2013. Contribuição do Grupo de Trabalho 1 ao Primeiro Relatório de Avaliação Nacional do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas [Contribution of Working Group 1 to the First National Assessment Report of the Brazilian Panel on Climate Change]. [Cited 27 Nov 2018]. Sumário Executivo GT1. PBMC, Rio de Janeiro, Brasil. Available from: http://www.pbmc.coppe.ufrj.br/pt/noticias/82-destaque.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, o presente estudo confirmou a ação dos períodos climáticos em um clima semiárido sobre os constituintes bioquímicos do plasma seminal de catetos, através de alteração dos valores de cálcio e frutose que aumentaram durante o período chuvoso. Além disso, verificou-se a ação destes constituintes sobre os parâmetros seminais, através da presença de correlações.

8. PESPECTIVAS

Haja vista a importância do plasma seminal sobre a qualidade seminal, as informações obtidas neste trabalho poderão contribuir para as próximas pesquisas envolvendo o plasma seminal na espécie, de modo a impulsionar novos estudos na área a fim de compreender ainda mais a fisiologia reprodutiva do animal. Além do mais, este conhecimento possibilitará implementar um adequado manejo e monitoramento das espécies, particularmente frente às mudanças climáticas características do clima semiárido.

Além disso, estas informações podem agir como valiosas ferramentas para o aperfeiçoamento de bancos de germoplasma animal, através do aprimoramento de biotécnicas como a criopreservação de sêmen, no qual através de ajustes na composição dos meios diluentes as taxas de espermatozoides potencialmente viáveis após o processo de descongelação possam ser aumentadas, sendo possível sua utilização em técnicas como a inseminação artificial e fecundação in vitro.

ANEXOS

ANEXO 1- ARTIGO

I. Tarada ana ara-ara-da On Andhara-da anharin-da dharin	
★ Track your recent Co-Authored submission to therio	Enviado em: 23/01/2019 19:40
De: "Theriogenology" < eesserver@eesmail.elsevier.com>	
Para: samara.sandy@bol.com.br	
•	
*** Automated email sent by the system ***	
Dear Dr. Samara Sandy Moreira,	
You have been listed as a Co-Author of the following submission:	
Journal: Theriogenology Title: Biochemical profile of collared peccary seminal plasma obtained during dry and rainy periods in a semiarid climate Corresponding Author: Alexandre Silva Co-Authors: Samara Sandy J Moreira, M.Sc.; Andréia M Silva, M.Sc.; Erica Camila G Praxedes, M.Sc.; Lívia B Campos, f Souza, PhD; Alexsandra F Pereira, PhD; Leonardo Lelis M Costa, PhD;	PhD; Caio S Santos, M.Sc.; Ana Liza P
To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).	
Register here: https://ees.elsevier.com/therio/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Samara Sandy&Iname=Moreira&email=samara.sandy@bol.com.br	
Or log in: https://ees.elsevier.com/therio/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=samara.sandy@bol.com.br	
If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author legio2000@yahoo.com.	of this submission at
Thank you,	
Theriogenology	

ANEXO 1- RESUMOS



INFLUÊNCIA DAS ESTAÇÕES SECA E CHUVOSA DE CLIMA SEMIÁRIDO NOS PARÂMETROS DO SÊMEN E NO PERFIL BIOQUÍMICO DO PLASMA SEMINAL DE CATETOS

S.S.J. Moreira¹; A.V. Brasil¹; M.C.G.Rebouças¹; C.S Santos¹; A.F. Pereira²; A.R. Silva¹

Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

*Laboratório de Biotecnologia Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

*andrezavieirabrasil@botmail.com

O cateto (Pentri tojacu Linnaeus, 1758) é um porco selvagem presente na fauna sul-americana, de grande importància ecológica e económica. Para ampliar o conhecimento sobre sua biologia reprodutiva, estudou-se a influência das estações em um clima semirido sobre seus parâmetros seminais e perfil bioquímico do plasma seminal. O sémen de 12 machos adultos foi obtido por eletroejaculação nas estações seca (setembro a novembro de 2017) e chavosa (fevereiro a abril de 2018). As amostras foram avaliadas quanto a volume, concentração, motilidade, morfologia espermática e pH. Foram então centrifugadas a 385 ×g por 10 minutos e o sobrenadante armazenado a -20°C até análise. Posteriormente, foram aquecidos a 25°C por 2 minutos e analisados utilizando-se kits bioquímicos comerciais. As absorbâncias foram mensuradas em espectrofotômetro, mediante os comprimentos de ondas sugesidos para cada kit. Os resultados foram expressos em média e erro padrão e comparados por ANOVA seguida do teste Post hoc (P-0,05). Durante a estação seca, os ejaculados apresentaram volume de 1,9 ± 0,4 mL, concentração de 245,8 ± 50,2 espermatozoides/mL, 89,6 ± 1,9% de espermatozoides moveis, 80,4 ± 4% espermatozoides morfologicamente normais e pH 7,9 ± 0,3°. Na estação chuvosa, obtiveram valores de 1,8 ± 0,5 mL para volume, concentração de 295,8 ± 60,6 espermatozoides/mL, 89,6 ± 5,5% de espermatozoides moveis, 72,08 ± 7,1% espermatozoides normais e pH 8,5 ± 0,3°, cujo qual sofreu influência da estação. Quanto ao perfil bioquímico, não foram identificadas diferenças (P>0,05) entre as estações para vários constituintes do plasma seminal, com valores de 140,8 ± 36,03 mg/dL e 169,7 ± 19,9 mg/dL para ácido círico, 152,3 ± 33,65 mg/dL e 331,97 ± 99,57 mg/dL para colesterol, 8,0 ± 2,26 g/dL e 7,0 ± 1,5 g/dL para proteínas totais, 5,72 ± 0,5 mg/dL e 5,9 ± 0,24 mg/dL) a colesterol, 8,0 ± 2,26 g/dL e 7,0 ± 1,5 g/dL para proteínas totais, 5,72 ± 0,5 mg/dL e 5,9 ± 0,24 mg/dL) foram significativamente mais predominantes na estação chuvosa, (P<0,05). Em conclusão,

Palavras-chave: cateto; plasma seminal; bioquimica.

Agradecimentos: CAPES.

22

Perfil bioquímico do plasma seminal de catetos obtido durante o período seco em clima semiárido

Alexandre Rodrigues Silva ¹, Samara Sandy Jerônimo Moreira ¹, Ana Liza Paz Souza ¹, Andreia Maria Silva ¹, Lívia Batista Campos ¹, Erica Camila Gurgel Praxedes ¹, Alexsandra Fernandes Pereira ¹, Moacir Franco Oliveira ¹

¹ UFERSA - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (BR 110, Km 47, s/n, Bairro Presidente Costa e Silva, Mossoró, RN)

Os catetos (Pecari tajacu Linnaeus, 1758) são amplamente distribuídos e bem adaptados ao cativeiro. Estes têm sido criados para fins comerciais e usados como modelos experimentais para espécies próximas, como o Tayassu pecari e Catagonus wagneri. Nesse sentido, o conhecimento sobre seus aspectos reprodutivos é de extrema importância para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida visando sua conservação e multiplicação. Portanto, objetivou-se caracterizar o perfil bioquímico do plasma seminal e verificar a existência de relações entre os componentes bioquímicos e as características seminais de catetos criados em condições semiáridas. Dezesseis machos adultos foram contidos com rede e anestesiados com Propofol (5 mg/kg) em bolus endovenoso. Um ejaculado por indivíduo foi obtido por eletroejaculação e avaliado quanto ao volume, pH, motilidade, vigor, concentração, integridade e funcionalidade da membrana, morfologia e condensação da cromatina. As amostras foram centrifugadas a 385 ×g por 10 minutos e o sobrenadante armazenado a -20º C. Subsequentemente, as amostras foram aquecidas a 25° C durante 2 minutos e avaliadas quanto a bioquímica a partir de kits comerciais. As absorbâncias foram mensuradas em espectrofotômetro de acordo com os comprimentos de ondas indicados para cada análise. Os resultados foram expressos em média e erro e a existência de relações entre os constituintes bioquímicos e as características seminais foram verificadas através do teste de correlação de Spearman (P<0.05). Os ejaculados apresentaram volume de 2±0,3mL, pH 7,8±0,2 e 208,8±41,7 x 106 espermatozoides por mL, sendo 84,1±5,3%

142

Anais da XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões Florianópolis, 2018

espermatozoides móveis, 84,3±1,9% de integridade de membrana, 78,25±4,37% de membrana funcional, 76,6±4,7% de espermatozoides morfologicamente normais e 93,7±5,9% de cromatina condensada. Pela análise bioquímica foram encontrados: ácido cítrico (170,5±43,4 mg/dL), frutose (97,2±31,8mg/dL), frutosamina (519,9±122,5µmol/L), cálcio (16,1±3,7 mg/dL), colesterol (137,4±27,9 mg/dL), proteínas totais (6,5±1,8 g/dL), triglicérides (1427±782,3 mg/dL), magnésio (5,8±0,4 mg/dL), cloretos (415,1±153,9 mEq/L), albumina (34,2±23,3 g/dL) e fósforo (249,2±237,1 mg/dL). Uma correlação positiva foi identificada entre a integridade da membrana espermática e as proteínas totais (r = 0,66; P<0,01); por outro lado, a integridade da membrana espermática foi correlacionada negativamente com os níveis de magnésio (r = -0,59; P<0,028). Em conclusão, esta é a primeira descrição do perfil bioquímico do plasma seminal de catetos e foi claramente demonstrado que alguns componentes bioquímicos (proteínas totais e magnésio) podem influenciar a integridade de sua membrana espermática.