



## O coágulo seminal de primatas neotropicais sob diferentes abordagens biológicas

*The seminal coagulum of neotropical primates under different biological approaches*

Patrícia da Cunha Sousa\*, Wlaila Vasconcelos Sampaio, Danuza Leita Leão,  
Sheyla Farhayldes Souza Domingues

Laboratório de Biologia e Medicina de Animais Silvestres da Amazônia (Biomedam), UFPA, Castanhal-PA, Brasil.

### Resumo

Após a ejaculação o sêmen de primatas pode coagular em consistência variável, dependendo da espécie. Tanto em termos biológicos quanto em aspectos relacionados à manipulação *in vitro* para fins de desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas, a coagulação seminal é tratada por muitos pesquisadores como um evento intrigante, no qual muitas questões básicas que envolvem a constituição e função do coágulo seminal na reprodução neste grupo de mamíferos, incluindo os primatas neotropicais, ainda permanece em aberto. A fim de reunir informações até hoje divulgadas sobre conceito, mecanismos fisiológicos, agrupamentos moleculares e aspectos evolutivos relacionados à coagulação seminal, este texto-base busca destacar o progresso e as lacunas nas pesquisas a esse respeito, bem como as particularidades relacionadas aos símios da Amazônia.

**Palavras-chave:** *Saimiri*, *Sapajus*, vida selvagem, biobancos, biomoléculas.

### Abstract

*After ejaculation, the semen of primates can coagulate in variable consistency, depending on the species. Both in biological terms and in aspects related to in vitro manipulation for the purpose of developing reproductive biotechniques, seminal coagulation is treated by many researchers as an intriguing event in which many basic issues involving the constitution and function of the seminal coagulum in reproduction in this group of mammals, including the neotropical primates, still remains open. In order to gather information to date on concepts, physiological mechanisms, molecular clusters and evolutionary aspects related to seminal coagulation, this basic text seeks to highlight progress and gaps in research in this regard, as well as the particularities related to Amazonian monkeys.*

**Keywords:** *Saimiri*, *Sapajus*, wildlife, biobank, biomolecules.

### Introdução

Em alguns primatas o sêmen é caracterizado por rápida coagulação que varia de consistência entre espécies (Dixson e Anderson, 2002), e relatos apontam que a seleção sexual teria favorecido esse evento durante a evolução (Birkhead e Moller, 1998; Parker, 1998). Ao que parece, o grau de solidificação do coágulo seminal tende a ser maior em primatas onde as fêmeas compartilham de múltiplos parceiros durante o período fértil (espécies promíscuas) (Jensen-Seaman e Li, 2003). Frente a isso, a seleção sexual pode ter agido sobre a escolha de características fisiológicas que impeçam a investida de machos competidores para fecundação da fêmea, como a aplicação de uma barreira física, o *plug* copulatório, implantada pelo macho na vagina da fêmea durante a cópula (Fromhage, 2012). Considerando o fato de que repetidas tentativas de cópula por outros machos foi desenvolvida como uma contra-estratégia evolutiva, para expulsão de *plugs* copulatórios anteriores (Lynch-Alfaro, 2005), a hipótese denominada de "cinto de castidade" foi discutida em primatas poligâmicos (Lima et al., 2017).

Outras funções são atribuídas ao coágulo seminal, entre as quais, a de armazenar e proteger gametas masculinos (Hoskins e Petterson, 1967), servindo como fonte de energia (Hernandez-Lopez et al. 2008) e facilitador do transporte dos espermatozoides ao longo do trato reprodutor da fêmea (Dixson, 1998). Além desses registros, o mecanismo da coagulação-liquefação do sêmen foi explicado por meio de bases biomoleculares, suas interações, e vias reguladoras (Malm et al., 2007). Em termos práticos, os estudos biomoleculares possuem elevado potencial para estabelecer alternativas à recuperação *in vitro* de gametas viáveis a partir de sêmen com elevado grau de coagulação, frequentemente encontrado em primatas neotropicais tais como do gêneros *Saimiri* (Oliveira et al., 2015; 2016a,b) e *Sapajus* (Oliveira et al., 2011; Leão et al., 2015).

Os esforços para entender a coagulação seminal e desenvolver meios adequados de liquefação do sêmen vem sendo descritos há décadas com primatas do velho mundo, principalmente os pertencentes ao gênero *Macaca* (Hoskins e Petterson, 1967; Settlege e Hendrickx, 1974), e mais recentemente no grupo dos neotropicais como *Callithrix* (Valtonen-André et al., 2005; 2007), *Sapajus* (Lima et al., 2017; Leão et al., 2015; *Cebus* - Oliveira et al., 2011) e *Saimiri* (Oliveira et al., 2015; 2016a,b). Nestes, as vias fisiológicas envolvidas no mecanismo de coagulação-liquefação do sêmen ainda são pouco esclarecidas, e estudos básicos da constituição molecular do

\*Correspondência: pattbio13@hotmail.com

Recebido: 19 de setembro de 2018

Aceito: 28 de março de 2019

coágulo seminal são uma interrogação para a maioria das espécies neotropicais. Assim, o objetivo desta revisão é produzir um texto-base a partir das informações sobre conceito, aspectos evolutivos, mecanismos fisiológicos e biomoleculares relacionados à coagulação seminal, considerando os avanços e perspectivas nas pesquisas deste evento e suas particularidades no grupo dos primatas neotropicais.

### O coágulo seminal em primatas neotropicais

Em primatas, a resposta fisiológica da interação de proteínas secretadas pelas vesículas seminais e próstata resulta na coagulação seminal, comum no momento pós-ejaculatório (Dixson e Anderson, 2002). No entanto, em ejaculados colhidos por electroejaculação (EEJ), foi constatado que o sêmen pode adquirir o molde do canal uretral do macho, como observado em macacos-de-cheiro (*S. sciureus* - Bennet, 1967; *Saimiri collinsi* - Oliveira et al., 2015), e macacos prego (*Sapajus apella*) (*Cebus apella* - Oliveira et al., 2011; Lima et al., 2017), em que a coagulação do sêmen ocorre de maneira instantânea, dentro da uretra (*S. sciureus* - Bennett, 1967; *S. boliviensis* - Yeoman et al., 1998).

Nos macacos-prego (*Sapajus apella*), o sêmen pode ser compacto, fibroso, e não se desfazer espontaneamente (Oliveira et al., 2011; Lima et al., 2017). Já em sagui-de-tufos-brancos (*Callithrix jacchus*) o sêmen forma um coágulo solto, facilmente disperso por pipetagem suave (Cui et al., 1991)(Cui et al., 1998), semelhante ao coágulo seminal do homem (Dixson e Anderson, 2002). Por outro lado, existem relatos de que a fração coagulada do sêmen desta espécie pode não sofrer processo de liquefação (Valtonen-André et al., 2005). Em mico-de-goeldi (*Callimico goeldii*), após EEJ, a emissão de sêmen coagulado foi de 100%, fato atribuído à variação da frequência e intensidade do estímulo elétrico sobre a próstata e glândulas acessórias, ocasionando alterações na composição do plasma seminal (Arakaki et al., 2017). Associado a isso, Arakaki et al. (2017) também observaram que outras técnicas de coleta de sêmen (estimulação peniana e lavagem vaginal) resultaram em menor formação de coágulo seminal e melhor qualidade espermática.

Ademais, em macacos-de-cheiro (*S. collinsi*, *S. vanzolinii*, *S. cassiquiarensis* e *S. macrodon* - Oliveira et al., 2015; 2016b), sagui-do-tufo-branco (*C. jacchus* - Valtonen-André et al., 2005) e macacos-aranha (*Ateles geoffroyi* - Dixson, 1998; Hernández-López et al., 2008) Hernández-López et al., 1998), foi observada a coexistência de frações líquida e coagulada, ou apenas uma das duas em um mesmo ejaculado. Nas espécies *Saimiri* sp., a porção coagulada pode, algumas vezes, não ser emitida (Oliveira et al. 2015; 2016a,b), e em *A. geoffroyi* o sêmen coagula totalmente minutos após a ejaculação (Hernández-López et al., 2008). (Hernández-López et al., 1998)

Tomando como referência os escores (ou graus) que categorizam a viscosidade pós-ejaculatória do sêmen de primatas (Dixson e Anderson, 2002), o coágulo seminal de primatas neotropicais pode ser classificado, a depender da espécie, em grau I, quando o sêmen é fluido, não gelatinoso ou não exibe coagulação; em grau II, que corresponde ao sêmen gelatinoso e semifluido, onde não há coágulo distinto; em grau III, que equivale ao sêmen coagulado em uma massa esbranquiçada, não fluida, não gelatinosa e não compacta; e por último grau IV, onde o ejaculado torna-se compacto, elástico, semi-sólido ou sólido, e firme. Nas espécies do gênero *Saimiri* (Oliveira et al., 2016a,b) e em *S. apella* (Lima et al., 2017), um mesmo animal pode apresentar ejaculados em todos os graus de coagulação, diferente do que ocorre em *C. jacchus*, onde o sêmen foi caracterizado semifluido (Valtonen-André et al., 2007) de grau II.

### Funções reprodutivas: armazenamento, proteção e motilidade de espermatozoides

A partir de estudos feitos com o gênero *Saimiri*, o coágulo seminal foi descrito como uma porção do ejaculado desprovida de espermatozoides (Bennett, 1967). Mais tarde foi confirmado que nele encontra-se a maior proporção desses gametas (30 a 90% da concentração espermática do animal) (Yeoman et al., 1998) Yeoman et al., 1997; Wildt, 1986; Hernández-López et al., 2008) Hernández-Lopez et al., 2002; Oliveira et al., 2015; 2016a,b). Durante avaliação seminal em macaco aranha (*A. geoffroyi*), foi possível analisar os espermatozoides presentes na fração líquida do sêmen, uma vez que a fração coagulada aprisionou a maioria dos gametas (Hernández-López et al., 2008). Entretanto, após a cópula, independente da consistência do coágulo seminal, este tende a se liquefazer no interior do trato reprodutivo da fêmea, onde os espermatozoides são gradativamente liberados (Jaskzak e Hafez, 1972; Harper, 1994). Nos macacos-prego (*Cebus apella*) o coágulo seminal pode ficar retido no interior da vagina das fêmeas por até 12 horas, e parece liquefazer-se lentamente para liberar os espermatozoides (Alfaro, 2005). Contudo, nada é esclarecido a respeito do mecanismo fisiológico regulador desse processo.

O pH baixo presente na vagina é desfavorável para os espermatozoides e resulta em sua rápida deterioração e motilidade prejudicada (Miller e Kurzrok, 1932), assim a alcalinidade do coágulo seminal (*C. jacchus* (pH 7-8,1) - Cui et al., 1991; *S. collinsi* (pH 6,5-8) - Oliveira et al., 2016a,b) pode ser responsável em neutralizar a acidez vaginal e proteger os espermatozoides até que ascendam no interior do trato reprodutivo da fêmea (Suarez e Pacey, 2006) (Suarez e Pacey, 2005). Em *S. apella* (*Cebus apella*) foi observado o aumento da sobrevivência dos espermatozoides em até 5h após a ejaculação, quando esses gametas ainda se encontravam presos ao coágulo seminal (Oliveira et al., 2011). Isto pode estar relacionado à presença de moléculas antioxidantes enzimáticas (Aitken, 1995) e não enzimáticas (Thiele et al., 1995), associadas à proteção dos espermatozoides contra os metabólitos tóxicos do oxigênio (espécies reativas de oxigênio – EROs) (Agarwal et al., 2006) (Agarwal et al.,



2012) produzidos a partir de vários tipos celulares, incluindo os espermatozoides nos seus vários estágios de desenvolvimento (Aitken, 1995). Quando o coágulo seminal é dissolvido *in vitro* por substâncias diluidoras, sejam elas solução salina 0,9% (Nagle e Denari, 1983), TES-Tris e solução a base de água de coco *in natura* (ACIN) (Leão et al., 2015; Oliveira et al., 2011), ocorre diminuição na concentração de antioxidantes naturais do plasma seminal, provocando desequilíbrio do sistema redox, estresse, e injúrias sobre a motilidade, viabilidade e capacidade de fertilização dos espermatozoides (Agarwal et al., 2006; Leão et al., 2015). Em macacos-aranha (*Ateles geoffroyi*), a frequência e o tempo em que os espermatozoides apresentavam movimento retilíneo uniforme (MRU), mudou significativamente conforme a presença ou ausência do coágulo seminal (Hernandez-Lopez et al., 2008). As fêmeas quando inseminadas com sêmen coagulado apresentaram uma maior quantidade de espermatozoides em MRU em um espaço de até 30 minutos, mantendo o padrão do movimento. Essa situação apresentou-se ausente quando a inseminação não apresentava o coágulo.

### Aspectos evolutivos da coagulação seminal em primatas neotropicais

A corrida para a fecundação de oócitos nos sistemas de acasalamento onde a fêmea copula com mais de um macho, resultou em uma disputa inter-individual dos espermatozoides conhecida como competição espermática (Birkhead e Moller, 1998), e a coagulação seminal foi proposta como um mecanismo evolutivo em resposta a tal concorrência (Dorus et al., 2004; Dixson e Anderson, 2002) Anderson e Dixson, 2002). Nas espécies de primatas que possuem sistemas de acasalamentos multimachos-multifêmeas, dispersos e poliândicos, a competição espermática se apresenta mais intensa, e a coagulação do sêmen tende a apresentar uma consistência mais sólida com elevada consistência (grau IV) (Dixson e Anderson, 2002) sendo muitas vezes denominado *plug* copulatório. Em tais sistemas, parte do ejaculado depositado na vagina da fêmea é interpretado como uma barreira para impedir a cópula subsequente de outros machos, funcionando como “cinto de castidade” (Dixson, 1998; Dixson e Anderson, 2002). Ainda assim, alguns pesquisadores discorrem sobre a ocorrência de cópulas sequenciadas de múltiplos machos em uma única fêmea, tanto em vida livre como em cativeiro (Carosi et al., 2005; Matthews, 2012). Em *Sapajus nigritus* (*Cebus apella nigritus*), por exemplo, foram observados fragmentos de sêmen coagulado saindo da vagina da fêmea durante cópulas sequenciais, como resultado da expulsão do ejaculado depositado nela anteriormente por outro macho (Alfaro, 2005), ou a própria fêmea, que após a cópula, remove manualmente o ejaculado depositado em sua vagina e o consome (Carosi et al., 2005), ou ainda machos de *Brachyteles arachnoides* que removem manualmente os tampões copulatórios nas fêmeas (Strier, 1992). Diante disso, nesses exemplos onde o “*plug* copulatório” não cumpre o papel de “cinto de castidade”, o coágulo foi sugerido a ser designado de “coágulo sólido” (Lima et al., 2017), cuja função reprodutiva é ainda contenciosa.

Estudos moleculares demonstraram que a coagulação seminal está fortemente relacionada com o comportamento sócio sexual exibido pelas diferentes espécies de primatas, resultado da ação evolutiva que convergiu para a perda da função de genes responsáveis pela expressão de proteínas seminais coagulantes, como a semenogelina (Sg) e suas isoformas (SgI e SgII), resultando na ausência da formação do coágulo seminal em alguns mamíferos (Schneider et al., 2016). Em associação com as Sg, outros grupos de proteínas relacionadas à coagulação seminal, como as calicreínas do tipo KLK2, análogas ao antígeno prostático específico-PSA e a KLK3, possuem importante papel na liquefação do coágulo por clivarem as semenogelinas, sendo também alvos da evolução adaptativa recorrente, onde mutações que levam a formação de pseudogenes, até mesmo a deleção gênica são repetidamente direcionadas à fixação por seleção (Dorus et al., 2004). Um estudo filogenético, envolvendo quatro espécies Platyrrhini (*Saguinus oedipus*, *C. jacchus*, *Aotus nancymae* e *Callicebus moloch*) sofreram alterações genéticas representadas por deleção, acúmulo de mutações deletérias e formação de pseudogenes sobre *KLK 2* (Marques et al., 2012). A esse respeito, foi inferido que em *S. oedipus* e *C. jacchus* as alterações nos genes da semenogelina, devido à seleção sexual, podem ser independentes daquelas ocorridas com KLK2/PSA (Valtonen-André et al., 2007). Contudo, o significado biológico e evolutivo desses achados ainda não está claro, sendo necessário estudos moleculares futuros sobre função, estrutura gênica, evolução, associados às particularidades reprodutivas e sócio sexuais de primatas neotropicais e outros grupos relacionados.

### Moléculas associadas com a coagulação-liquefação do sêmen em primatas Neotropicais

Em descrições sobre a natureza e a interação dos componentes bioquímicos envolvidos na coagulação-liquefação do sêmen (Jonson et al. 2005; Malm et al. 2007) moléculas denominadas de semenogelinas (Sg) e suas isoformas (Sg I – 50 kDa e Sg II – 63 kDa), identificadas em humanos e também primatas não humanos, são consideradas as proteínas principais do coágulo seminal e expressas principalmente pelas vesículas seminais (Lilja e Lundwall, 1992) (Lilja e Lundwall, 1992). Um trabalho comparativo sobre os genes para expressão da Sg I e Sg II, realizado em humanos, macacos do velho mundo (Rhesus e babuínos) e neotropicais (sagui-de-tufos-brancos - *Callithrix* sp. e sagui-cabeça-de-algodão - *Saguinus* sp.), mostrou que entre esses grupos os transcritos podem apresentar diferentes padrões de tamanhos. Tais resultados deduzem que o tamanho dessas proteínas pode afetar as forças de ligação entre as moléculas do coágulo seminal, uma vez que espécies portadoras de proteínas maiores, produzem um coágulo mais firme (Ulvsback e Lundwall, 1997).



Basicamente, o processo de coagulação é iniciado quando as Sg armazenadas separadamente nas vesículas seminais se misturam aos antígenos prostáticos específicos (PSA), glicoproteínas (28.5 kDa) que pertence à família das caliceínas glandulares (Lilja, 1985), inibidos por  $Zn^{2+}$ , após a ejaculação. Nesse momento as Sg sofrem uma mudança conformacional ao se ligarem ao  $Zn^{2+}$ , o que resulta na formação do coágulo seminal. Com a diminuição da concentração de  $Zn^{2+}$  livre, o PSA torna-se ativo e cliva as Sg, promovendo a liquefação do coágulo e liberação dos espermatozoides (Malm et al., 2007). Um fato curioso a respeito do sêmen de *C. jacchus* é que nesta espécie foi verificada ausência de PSA e baixa concentração de  $Zn^{2+}$  no plasma seminal, indicando uma menor contribuição da próstata na composição do ejaculado, e consequente resistência à liquefação do coágulo seminal (Valtonen-André et al., 2005). Contudo, neste estudo, foi proposto que a ausência do PSA parece não ser a razão crítica para este fato, já que a sua aplicação exógena surtiu efeito proteolítico discreto sobre a Sg I. Resultados da análise estrutural primária de proteínas mostraram que oito sítios para glicosilação N-ligadas (Huber et al., 1998) conferiram maior proteção à Sg I (48 kDa) de *C. jacchus* contra proteases (Valtonen-André et al., 2005). Deste modo, o processo de coagulação-liquefação do sêmen entre as espécies de primatas torna-se ainda mais complexo, mostrando que as vias sinalizadoras e os componentes bioquímicos estruturais que compõem o plasma seminal não seguem um padrão, de tal modo que os estudos a esse respeito devem ser tratados considerando particularidades interespecíficas.

### Manipulação *in vitro* do coágulo seminal e perspectivas

Algumas técnicas foram estudadas para evitar a coagulação do sêmen em primatas neotropicais, considerada uma barreira em estudos laboratoriais para recuperação de espermatozoides viáveis durante a manipulação *in vitro* (Oliveira et al. 2011; 2015; 2016a; Leão et al., 2015; Lima et al., 2017). O uso de soluções contendo enzimas proteolíticas (tripsina) adicionadas ao sêmen foi um método empregado para dissolução do coágulo seminal na espécie *A. Geoffroyi*; porém, os resultados demonstraram que a eficácia da tripsina para digestão do coágulo seminal só ocorre em altas concentrações, tendo como consequência a diminuição da motilidade espermática e lise das membranas dos espermatozoides (Hernández-López et al., 2002). Já em *S. apella* (*C. apella*) foi avaliada a eficiência da água de coco em pó (ACP<sup>®</sup>) com o objetivo dissolver o coágulo seminal e também verificar o nível de conservação do sêmen em diferentes temperaturas (33°C, 35°C e 37°C), durante 24 horas (Oliveira et al., 2010). Neste experimento, a ACP<sup>®</sup> em conjunto com a maceração mecânica mostrou eficácia para dissolução quase que total do coágulo seminal após 12 horas de incubação, sem efeitos deletérios aos espermatozoides.

No ano seguinte, Oliveira et al. (2011) testaram a dissolução do coágulo seminal nesta mesma espécie com a água de coco *in natura* (ACIN) e TES-Tris, em que CWS proporcionou dissolução mais rápida (2,8 h) comparada ao TES-Tris (4,5 h). Recentemente, em sêmen de mico-de-goeldi (*Callimico goeldii*), foi utilizada ACIN a 37°C para dissolução completa ou parcial do coágulo seminal permitindo a recuperação de espermatozoides com motilidade acima de 80% (Arakaki et al., 2017). Em macacos de cheiro (*S. collinsi*, *S. vanzolinii*, *S. cassiquiarensis* and *S. macrodon*) o sêmen coagulado, obtido por EEJ, foi dissolvido *in vitro* com ACP<sup>®</sup> associado a procedimentos de fragmentação mecânica com resultados favoráveis na recuperação de espermatozoides viáveis e que depois foram aplicados em protocolos de criopreservação (Oliveira et al., 2016a). O processo que envolve a dissolução do coágulo seminal por meio do uso de soluções a base de água de coco ainda não são conhecidos. Todas essas tentativas foram movidas no intuito de promover melhores protocolos para recuperação e manutenção *in vitro* de gametas masculinos viáveis para serem aplicados com a finalidade de conservação das espécies.

### Considerações finais

As pesquisas direcionadas para o estudo das funções do coágulo seminal em primatas neotropicais apresentam, cada uma em seu tempo, respostas esclarecedoras. A persistência em aprofundar os conhecimentos sobre este tema, principalmente no âmbito molecular, pode auxiliar na resolução de muitas questões ainda não elucidadas sobre o fenômeno de coagulação-liquefação seminal. Os avanços tendem a ocorrer à medida que as lacunas do conhecimento são preenchidas e as respostas comecem a ser de fato extrapoladas para um âmbito mais prático e rotineiro da reprodução assistida em macacos da Amazônia.

### Referências

- Aitken RJ. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod Fertil Dev*, v.7, p. 659-68, 1995.
- Alfaro JWL. Male mating strategies and reproductive constraints in a group of wild tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigrinus*). *Am J Primatol*, v.67, p.313-328, 2005.
- Agarwal A, Gupta S, Sikka S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol*, v.18, p. 325-332, 2006.
- Arakaki PR, Carvalho FM, Castro PHG, Muniz JAPC, Valle RDRD. Collection, evaluation, and coagulum dissolution of semen from Goeldi's Monkey, *Callimico goeldii*. *Folia Primatol (Basel)*, v.88, p.334-343, 2017.
- Bennett JP. Semen collection in the squirrel monkey. *J Reprod Fertil*, v.13, p.353-355, 1967.
- Birkhead TR, Moller AP. Sperm competition and sexual selection. Academic Press, CA: San Diego, 1998.



- Carosi M, Linn GS, Visalberghi E.** The sexual behavior and breeding system of tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Adv Study Behav*, v.35, p.105-149, 2005.
- Cui KH, Flaherty SP, Newble CD, Guerin MV, Napier AJ, Mathews CD.** Collection and analysis of semen from the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *J Androl*, v.12, p.214-220, 1991.
- Dixon AF.** *Primate Sexuality: Comparative Studies of the Prosimians, Monkeys, Apes, and Human Beings*. Oxford: Oxford University Press, 1998.
- Dixon AL, Anderson MJ.** Sexual selection, seminal coagulation and copulatory plug formation in primates. *Folia Primatol*, v.73, p.63-69, 2002.
- Dorus S, Evans PD, Wyckoff GJ, Choi SS, Lahn BT.** Rate of molecular evolution of the seminal protein gene *SEMG2* correlates with levels of female promiscuity. *Nature Genet*, v.36, p.1326-1329, 2004.
- Fromhage L.** Mating unplugged: a model for the evolution of mating plug (dis-) placement. *Evolution*, v.66, p.31-39, 2012.
- Harper MJK.** Gamete and zygote transport. In: E. Knobil, J. D. Neill, *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1994. p.123-187.
- Hernández-López L, Cerda-Molina AL, Páez-Ponce DL, Mondragón-Ceballos R.** The seminal coagulum favours passage of fast-moving sperm into the uterus in the black-handed spider monkey. *Reproduction*, v.136, p.411-421, 2008.
- Hoskins DD, Patterson DL.** Prevention of coagulum formation with recovery of motile spermatozoa from rhesus monkey semen. *J Reprod Fertil*, v.13, p.337-340, 1967.
- Huber AE, Fraser H, Del Rio-Garcia J, Kreil G, Smyth DG.** Molecular cloning in the marmoset shows that semenogelin is not the precursor of the TRH-like peptide pGlu-Glu-Pro amide. *Biochim Biophys Acta*, v.1387, p.143-152, 1998.
- Jaszak S, Hafez ESE.** The cervix uteri and sperm transport in macaques. In: E. L. Goldsmith, J. Moor-Jankowski, *Proceedings of the 3rd Conference Experimental Medicine and Surgery in Primates Basel*. *Med Primatol*, p.273-280, 1972.
- Jensen-Seaman MI, Li W-H.** Evolution of the hominoid semenogelin genes, the major proteins of ejaculated semen. *J Mol Evol*, v.57, p.261-270, 2003.
- Jonsson M, Linse S, Frohm B, Lundwall A, Malm J.** Semenogelins I and II bind zinc and regulate the activity of prostate-specific antigen. *Biochem J*, v.387, p.447-453, 2005.
- Leão DL, Miranda SA, Brito AB, Lima JS, Santos RR, Domingues SFS.** Efficacious long-term cooling and freezing of *Sapajus apella* semen in ACP-118<sup>®</sup>. *Anim Reprod Sci*, v.159, p.118-123, 2015.
- Lilja H.** A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest*, v.76, p.1899, 1985.
- Lilja H, Lundwall A.** Molecular cloning of epididymal and seminal vesicular transcripts encoding a semenogelin-related protein. *Proc Natl Acad Sci*, v.89, p.4559-4563, 1992.
- Lima JS, Leão DL, Oliveira KG, Brito AB, Sampaio WV, Santos RR, Domingues SFS.** Seminal coagulation and sperm quality in different social contexts in captive tufted capuchin monkeys (*Sapajus apella*). *Am J Primatol*, [https://doi: 10.1002/ajp.22643](https://doi.org/10.1002/ajp.22643), 2017.
- Lynch-Alfaro JW.** Male mating strategies and reproductive constraints in a group of wild tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigritus*). *Am J Primatol*, v.67, p.313-328, 2005.
- Malm J, Jonsson M, Frohm B, Linse S.** Structural properties of semenogelin I. *FEBS J*, v.274, p.4503-4510, 2007.
- Marques PI, Bernardino R, Fernandes T, Green ED, Hurlle B, Quesada V, Seixas S.** Birth-and-Death of *KLK3* and *KLK2* in Primates: Evolution Driven by Reproductive Biology Genome. *Biol Evol*, v.4(12), p.1331-1338, 2012.
- Matthews LJ.** Variations in sexual behavior among capuchin monkeys function for conspecific mate recognition: a phylogenetic analysis and a new hypothesis for female proceptivity in tufted capuchins. *Am J Primatol*, v.74, p.287-298, 2012.
- Miller EG, Kurzrok R.** Biochemical studies of human semen III: factors affecting migration of sperm through the cervix. *Am J Obstet Gynecol*, v.24, p.19, 1932.
- Nagle CA, Denari JH.** The Cebus Monkey (*Cebus apella*). In: J. P. Hearn, *Reproduction of New World Primates*. Lancaster: MTP, p.149-179, 1983.
- Oliveira KG, Castro PHG, Muniz JAPC, Domingues SFS.** Semen conservation and seminal clot liquefaction of capuchin monkey (*Cebus apella*) in powdered coconut water extender (PCW) at different temperatures. *Ciênc Rural*, v.40, p.617-621, 2010.
- Oliveira KG, Miranda SA, Leão DL, Brito AB, Santos RR, Domingues SF.** Semen coagulum liquefaction, sperm activation and cryopreservation of capuchin monkey (*Cebus apella*) semen in coconut water solution (CWS) and TES-TRIS. *Anim Reprod Sci*, v.123, p.75-80, 2011.
- Oliveira KG, Leão DL, Almeida DVC, Santos RR, Domingues SFS.** Seminal characteristics and cryopreservation of sperm from the squirrel monkey, *Saimiri collinsi*. *Theriogenology*, v.84, p.743-749, 2015.
- Oliveira KG, Santos RR, Leão DL, Brito AB, Lima JS, Sampaio WV, Domingues SF.** Cooling and freezing of sperm from captive, free-living and endangered squirrel monkey species. *Cryobiology*, v.72, p.283-289, 2016a.



- Oliveira KG, Santos RR, Leão DL, Queiroz HL, Paim FP, Vianez-Júnior JLSG, Domingues SFS.** Testicular biometry and semen characteristics in captive and wild squirrel monkey species (*Saimiri* sp.). *Theriogenology*, v.86, p.879-887, 2016b.
- Schneider MR, Mangels R, Dean Matthew D.** The molecular basis and reproductive function(s) of copulatory plugs. *Mol Reprod Dev*, v.83, 755-767, 2016.
- Settlage DSF, Hendrickx AG.** Observations on coagulum characteristics of the rhesus monkey electroejaculate. *Biol Reprod*, v.11, 619-623, 1974.
- Strier KB.** Faces in the forest: The Endangered Muriqui Monkeys of Brazil. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- Suarez SS, Pacey AA.** Sperm transport in the female reproductive tract. *Hum Reprod Update*, v.12, p.23-37, 2006.
- Thiele JJ, Freisleben HJ, Fuchs J, Ochsendorf FR.** Ascorbic acid and urate in human seminal plasma: determination and interrelationships with chemiluminescence in washed semen. *Hum Reprod*, v.10, p.110-115, 1995.
- Ulvback M, Lundwall A.** Cloning of the semenogelin II gene of the rhesus monkey. Duplications of 360 bp extend the coding region in man, rhesus monkey and baboon. *Eur J Biochem*, v.245, p.25-31, 1997.
- Valtonen-André C, Olsson AY, Nayudu PL, Lundwall A.** Ejaculates from the common marmoset (*Callithrix jacchus*) contain semenogelin and beta-microseminoprotein but not prostate-specific antigen. *Mol Reprod Dev*, v.71, p.247-255, 2005.
- Valtonen-André C, Olsson AY, Kullberg M, Nayudu PL, LUNDWALL A.** The common marmoset (*Callithrix jacchus*) has two very similar semenogelin genes as the result of gene conversion. *Biol Reprod*, v.76, p.604-610, 2007.
- Wildt DE.** Collection, evaluation, metabolism, freezing and artificial insemination. In: W. R. Dukelow, J. Erwin, *Comparative Primate Biology*. New York: Reproduction and Development, 1986. p.171-193.
- Yeoman RR, Sonksen J, Gibson SV, Rizk BM, Abee CR.** Penile vibratory stimulation yields increased spermatozoa and accessory gland production compared with rectal electroejaculation in a neurologically intact primate (*Saimiri boliviensis*). *Hum Reprod*, v.13, p.2527-2531, 1998.
-