

Influência das estações do ano na concentração de ácido cítrico e de frutose no sêmen de carneiros

Leira Tutida, Orlando Rus Barbosa*, Elias Nunes Martins, Francisco de Assis Fonseca de Macedo e Gentil Vanini de Moraes

Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil.

*Author for correspondence. E-mail: obarbosa@cca.uem.br

RESUMO. As concentrações de ácido cítrico e de frutose foram estudadas, de março de 1996 a março de 1997, utilizando-se 24 carneiros, de três a quatro anos de idade, sendo nove da raça Bergamácia (Be), oito Corriedale (Co) e sete Hampshire Down (Hd). As colheitas de sêmen foram efetuadas a cada 30 dias, assim como as variáveis meteorológicas: velocidade do vento (v), temperatura do ar (T_a), temperatura do globo (T_g) e umidade relativa do ar (U_r). A concentração de ácido cítrico apresentou comportamento quadrático ($P < 0,05$) sendo esses maiores no verão (janeiro - 3,16 e 5,24mg/ml), com menores valores na primavera (setembro - 0,23 e 2,31mg/ml), respectivamente, para as raças Be e Hd. Não houve efeito ($P > 0,05$) da estação do ano sobre a concentração de ácido cítrico para a raça Co. A raça Be apresentou comportamento linear ($P < 0,05$) para frutose, sendo maior no verão (janeiro - 4,70mg/ml), com decréscimo no outono (maio - 3,08mg/ml) e primavera (novembro - 0,65mg/ml). Não houve efeito ($P > 0,05$) da estação do ano sobre a concentração de frutose para as raças Co e Hd. A raça Corriedale foi a que menor efeito sofreu quanto à concentração de ácido cítrico e de frutose, indicando melhor condição de aclimação às condições ambientais.

Palavras-chave: ácido cítrico, estação do ano, frutose, ovinos, sêmen.

ABSTRACT. Season influence on citric acid and fructose concentration in ram semen. Citric acid and fructose concentrations were studied from March 1996 to March 1997, using 24 rams, of three to four years of age. Nine of them were from the breeds Bergamácia (Be), eight Corriedale (Co) and seven Hampshire Down (Hd). The semen was collected each 30 days, as well as climatic conditions data: wind speed (v), air temperature (T_a), globe temperature (T_g) and relative humidity (U_r). The citric acid concentration showed a quadratic behavior ($P < 0.05$), being higher in summer (January - 3.16 and 5.24mg/ml) and smaller in spring (September - 0.23 and 2.31mg/ml), respectively for Be and Hd breeds. There was no effect ($P > 0.05$) of the season on citric acid concentration for Co breed. The Be breed had a linear behaviour ($P < 0.05$) for fructosis, being higher in summer (January - 4.70mg/ml), decreasing in fall (May - 3.08mg/ml) and spring (November - 0.65mg/ml). There was no seasonal effect ($P > 0.05$) on fructosis concentration for the Co and Hd breeds. Corriedale breed suffered smaller effect on the concentration of citric acid and fructose, indicating better acclimatization the environmental conditions.

Key words: citric acid, fructosis, season, semen, sheep.

Os cruzamentos utilizados, principalmente a inseminação artificial com sêmen importado, têm sido aceitos como critério para aumentar a produtividade dos animais nativos, já que animais exóticos, quando introduzidos em áreas com diferentes condições agroclimáticas, apresentam um baixo desempenho reprodutivo, além de outros fatores evidenciados pelas alterações nos

constituintes bioquímicos e na qualidade do sêmen (Rao *et al.*, 1983).

Pineda (1989) afirma que a atividade metabólica e a capacidade do espermatozoide de sobreviver a congelamento apresentam variações relacionadas com a estação. Os espermatozoides colhidos no inverno utilizam mais frutose e produzem mais ácido láctico do que os colhidos no verão e, assim, os

ovinos, por serem animais de reprodução estacional, apresentam problemas quanto ao congelamento do sêmen colhido fora da estação reprodutiva. Gonzales *et al.* (1989), citados por Borque e Sagues (1992), relataram que essas variações podem ser devidas, entre outras causas, a um funcionamento inadequado de um ou de mais órgãos que compõem o aparelho reprodutor masculino e que liberam fluidos no processo ejaculatório.

A frutose e o ácido cítrico são importantes para o sêmen como fonte de energia metabólica e como componente de sistema tampão (Galil e Galil, 1982). A frutose é um marcador da função secretora das vesículas seminais, importante para a sobrevivência dos espermatozoides em condições anaeróbicas e está estreitamente relacionada com a motilidade inicial das células espermáticas. O ácido cítrico reflete a atividade secretora da próstata e, ainda que a sua função não seja conhecida, parece ter papel importante como ativador da fosfatase ácida, mantendo também o equilíbrio osmótico, junto com o sódio e o potássio, favorecendo, assim, a motilidade dos espermatozoides (Mann, 1948).

Por outro lado, as concentrações de frutose e de ácido cítrico, no plasma seminal, estão diretamente relacionadas com a atividade da testosterona, constituindo, portanto, um indicador da função endócrina dos tecidos (Mann, 1948). Há evidências de que o nível de ácido cítrico no plasma seminal reflita o estado androgênico, já que existe uma correlação positiva com a testosterona sangüínea, estando ainda sujeito às variações estacionais, especialmente no garanhão e no bode (Dondero *et al.*, 1972, citados por Mann e Lutwak-Mann, 1981).

O teor de ácido cítrico e de frutose dependem da contribuição relativa dos diferentes órgãos secretórios do trato reprodutivo. Em geral, sêmen com alta concentração espermática tem proporcionalmente menos frutose, como o do bovino e do caprino que apresentam 0,5g a 1g/100ml e o do suíno que raramente excede 50mg/100ml (Mann e Lutwak-Mann, 1981). Nos reprodutores ovinos, observaram-se concentrações variáveis de frutose e de ácido cítrico, sendo de 200 a 1200mg/100ml e de 50 a 300mg/100ml, respectivamente (Mittal, 1980). Roca *et al.* (1993), estudando o sêmen de caprino nas diferentes estações do ano, observaram altas variações nas concentrações de frutose e de ácido cítrico no verão (867,57 e 311,98mg/100ml, respectivamente) e no outono (931,42 e 327,66mg/100ml, respectivamente); porém, baixos valores na primavera (567,95 e 249,11mg/100ml, respectivamente).

De acordo com o exposto, procurou-se verificar os efeitos das estações do ano nas concentrações de ácido cítrico e de frutose no sêmen de carneiros das raças Bergamácia, Corriedale e Hampshire Down.

Material e métodos

O experimento foi realizado de março/96 a março/97, na Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizada a 23°25' de latitude Sul, 51°57' de longitude Oeste e 542 metros de altitude.

Foram utilizados 24 carneiros de três a quatro anos de idade, sendo nove da raça Bergamácia (Be), oito Corriedale (Co) e sete Hampshire Down (Hd), pertencentes ao rebanho da UEM/Campus Arenito, Cidade Gaúcha, selecionados através de exames andrológicos, conforme Mies Filho (1987). Esses animais foram mantidos em regime de semiconfinamento, durante o período experimental, sob luminosidade natural e mantidos em uma área de pastagem de estrela africana (*Cynodon nienfuensis*), com piquete de aproximadamente 120 m², com suplementação de 0,5 kg/cabeça/dia de concentrado com 14 % de proteína bruta, mais mistura mineral e água *ad libitum*.

As normas de manejo foram as usuais da fazenda, tendo havido controle de ecto e de endoparasitas, sendo realizadas contagens mensais de ovos nas fezes. Uma tosquia foi realizada no início (jan/96) e outra durante o experimento (jan/97).

As colheitas de sêmen foram efetuadas a cada 30 dias, durante 12 meses, por meio de vagina artificial, modelo curto, usando-se como manequim uma ovelha estrogenizada (Mies Filho, 1987). Do sêmen colhido, uma amostra foi congelada para ser posteriormente submetida às análises de quantificação bioquímica dos teores de frutose e de ácido cítrico (Piva, 1988).

Nos dias reservados a essas coletas, eram obtidas, a cada hora, a temperatura do ar (Ta) e a umidade relativa do ar (Ur), através de um psicrômetro não ventilado; a velocidade do vento (v), através de um catatermômetro (Silva e Brasil, 1986); temperatura do globo negro ao sol (Tg), através do uso de um globo de Vernon de 0,15m de diâmetro (Silva, 1989).

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, cujo modelo estatístico é expresso por:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + A_j/R_i + b_{ti} (V_{mijk} - V_m) + b_{2i} (V_{mijk} - V_m)^2 + e_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} = observação da variável bioquímica, da raça i , no animal j , sob a medida k da variável mês;

μ = constante geral;

R_i = efeito da Raça i , $i = 1;2;3$;

A_j/R_i = efeito do animal j na raça i ;

V_{mijk} = medida k da variável mês, no animal j , da raça i ;

V_m = média da variável mês;

$b_{1i}(V_{mijk}-V_m)$ = coeficiente linear de regressão da variável bioquímica em função da variável mês, na raça i ;

$b_{2i}(V_{mijk}-V_m)^2$ = coeficiente quadrático de regressão da variável bioquímica em função da variável mês, na raça i ;

e_{ijk} = erro aleatório associado à observação Y_{ijk} .

Os dados foram interpretados por meio de análise de variância e regressão, adotando-se o nível de 5% de probabilidade para o teste F. Para o processamento dos dados, utilizou-se o programa Saeg versão 7.0 (UFV, 1995).

Resultados e discussão

Na concentração de ácido cítrico, verificou-se efeito significativo ($P < 0,05$) para as raças Be e Co, sendo que o efeito quadrático para a época do ano ocorreu nas raças Be e Hd (Tabela 1). Diferentemente da frutose, o ácido cítrico mostrou-se mais dependente da variável mês. Os valores encontrados foram semelhantes às médias obtidas por Schons *et al.* (1974), em bovinos, mostrando que há efeito da raça nas variações das concentrações desses componentes em bovinos de origem indiana (370,49mg/100ml) e nos da raça Holandesa (678,63mg/100ml).

Tabela 1. Análise de variância da concentração de ácido cítrico e de frutose no sêmen de carneiros das raças Bergamácia (Be), Corriedale (Co) e Hampshire Down (Hd) em função do mês

Fontes de Variação	GL	Quadrado médio	
		Ácido Cítrico	Frutose
Raça	2	30,033*	42,20**
Animal Bergamácia (Be)	8	7,480*	27,55**
Animal Corriedale (Co)	7	9,176*	4,889 ^{NS}
Animal Hampshire Down (Hd)	6	4,382 ^{NS}	5,706 ^{NS}
Mês Be/Hd - Linear	1	17,067*	-
Mês Be/Hd - Quadrático	1	3,684*	-
Mês Be - Linear	1	-	39,872*
Resíduo		3,68	3,73
GL Resíduo		249	250
CV(%)		94,353	111,986

* = significativo a 5%; ** = significativo a 1%; ns = não significativo; CV = Coeficiente de Variação

A tabela 2 mostra as condições ambientais durante o experimento, onde se podem verificar

variações acentuadas nas mesmas, refletindo nas respostas dos animais quanto aos teores de ácido cítrico e de frutose.

Tabela 2. Valores da temperatura do ar (T_a), umidade relativa do ar (U_r), temperatura do globo negro (T_g) e velocidade do vento (V_v), durante o período experimental

Variáveis climáticas	Mínima	Máxima	Média
Temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$)	17,0	33,1	26,1
Umidade relativa do ar (%)	28,5	86,5	66,6
Temperatura do globo negro ($^{\circ}\text{C}$)	27,5	48,0	37,3
Velocidade do vento (m.seg^{-1})	0,05	0,89	0,27

Nas tabelas 3 e 4, estão presentes as concentrações de ácido cítrico e da frutose, respectivamente, durante os meses de colheita do sêmen. Nota-se uma variação entre os meses, valores esses chegando a zero, motivado, às vezes, pela ausência de sêmen, ou seja, azoospermia de determinados animais, no momento da colheita. Por outro lado, alguns animais não demonstravam interesse de monta e de procura pela fêmea, não havendo colheita naquele mês.

Tabela 3. Valores de ácido cítrico no sêmen de carneiros das raças Bergamácia, Corriedale e Hampshire Down, durante os meses de coleta

MÊS/ANO	Ácido Cítrico (mg.ml^{-1})								
	Bergamácia			Corriedale			Hampshire Down		
	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Méd.	Mín.	Máx.	Méd.
Março/96	0,00	5,18	1,60	0,00	13,21	2,97	0,00	4,80	2,97
Maior/96	0,00	4,60	2,35	0,00	5,14	1,92	0,00	2,10	0,68
Junho/96	0,00	1,92	0,33	0,00	3,54	1,25	1,77	6,68	3,65
Julho/96	1,44	2,22	2,38	0,00	5,46	2,34	0,00	14,80	2,11
Agosto/96	0,00	6,60	2,42	0,00	2,70	1,53	0,00	5,86	1,97
Setembro/96	0,00	5,97	2,51	0,00	2,61	0,92	0,00	3,45	1,37
Outubro/96	0,00	5,82	1,98	0,00	5,33	2,27	0,00	4,78	2,60
Novembro/96	0,00	3,48	0,95	0,00	5,91	2,72	0,00	2,30	1,23
Dezembro/96	0,00	2,26	1,15	0,27	3,03	1,46	0,00	1,61	0,49
Janeiro/97	0,00	5,91	3,26	0,00	6,90	3,61	0,00	5,62	2,92
Fevereiro/97	0,00	2,38	1,59	0,00	4,49	2,17	0,00	5,63	3,13
Março/97	0,00	4,44	0,95	0,00	4,37	2,04	0,00	4,80	3,06

Tabela 4 Valores de frutose no sêmen de carneiros das raças Bergamácia, Corriedale e Hampshire Down, durante os meses de coleta

MÊS/ANO	Ácido Cítrico (mg.ml^{-1})								
	Bergamácia			Corriedale			Hampshire Down		
	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Méd.	Mín.	Máx.	Méd.
Março/96	0,00	5,18	1,60	0,00	9,74	2,00	0,00	6,55	3,00
Maior/96	0,00	8,22	2,26	0,00	5,84	1,80	0,00	7,46	1,91
Junho/96	0,00	0,94	0,17	0,00	1,79	0,61	0,59	6,53	3,05
Julho/96	0,00	3,43	1,55	0,00	7,78	1,66	0,00	2,82	0,40
Agosto/96	0,49	3,40	1,47	0,00	0,91	0,65	0,00	7,40	2,27
Setembro/96	0,00	4,24	1,83	0,00	3,68	0,78	0,00	3,95	1,95
Outubro/96	0,00	3,46	1,12	0,00	1,49	0,85	0,00	4,18	1,47
Novembro/96	0,00	4,41	0,78	0,00	8,87	2,03	0,00	7,67	1,91
Dezembro/96	0,00	2,34	0,84	0,76	1,02	0,89	0,00	1,00	0,50
Janeiro/97	0,00	10,41	4,28	0,00	11,75	3,99	1,17	8,03	3,31
Fevereiro/97	0,00	1,93	0,78	0,00	2,86	1,24	0,83	8,94	2,83
Março/97	0,00	4,36	0,83	0,00	9,74	2,00	0,00	6,55	2,17

Na Figura 1, observa-se que a concentração de ácido cítrico apresentou um comportamento

quadrático decrescente para as raças Be e Hd, enquanto na raça Co este se manteve constante. As concentrações de ácido cítrico foram mais elevadas no mês de janeiro (de 3 a 5mg/ml), sofrendo uma queda gradativa até os meses de agosto e de setembro (0,5mg/ml), época na qual se verificaram os menores valores. Resultados semelhantes foram obtidos por Borque e Sagues (1992) em carneiros Manchega, apresentando as maiores concentrações no verão (1,58mg/ml) e as menores (0,81mg/ml) no inverno; Roca *et al.* (1993), pesquisando os efeitos das estações do ano em bodes Muriano-Granadina, mostraram que as mudanças nos padrões cíclicos de testosterona em função de variações do fotoperíodo em que as maiores concentrações de ácido cítrico ocorreram no verão e outono (3,20 e 3,50mg/ml, respectivamente) e menores na primavera (2,20mg/ml). Mittal (1980) observou maiores valores para carneiros Magra e Marwari nos meses de setembro e de outubro (3,90mg/ml) e os menores valores em dezembro, aumentando gradativamente nos meses seguintes; segundo o autor, esses baixos valores em dezembro estão relacionados com a deficiência alimentar, que faz que a concentração de ácido cítrico seja reduzida.

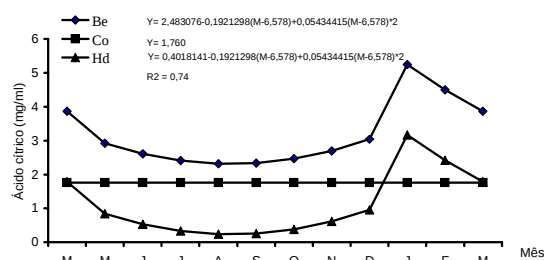


Figura 1. Comportamento da concentração do ácido cítrico no sêmen de carneiros das raças Bergamácia (Be), Corriedale (Co) e Hampshire Down (Hd), segundo o mês de coleta

Em relação a frutose, houve influência ($P < 0,05$) de raça, destacando-se o efeito de animal para a raça Be; enquanto as demais raças (Co e Hd) não apresentaram diferenças ($P > 0,05$), e o modelo que explicou o comportamento anual da frutose foi linear (Tabela 1).

A Figura 2 mostra que a raça Be apresentou comportamento linear, sendo os valores de frutose maiores no verão (janeiro a março), com decréscimo gradual no outono e na primavera. Mittal (1980) observou diferenças nas concentrações de frutose em carneiros Magra e Marwari, devido ao manejo de separar o macho da fêmea um período antes da estação de monta, tendo notado aumento nas concentrações de frutose e de LH. Esses animais

apresentaram maiores concentrações de frutose nos meses de julho e de agosto (7 a 8mg/ml) e as menores em dezembro e janeiro (aproximadamente 4mg/ml). Por outro lado, Roca *et al.* (1993) também relataram maiores concentrações de frutose no verão e outono (9 a 10mg/ml) e menores na primavera (4 a 4,5mg/ml), em bodes Murciano-Granadina, cujas mudanças estacionais estariam relacionadas com os níveis de testosterona induzidos pelas mudanças circanuais no fotoperíodo, embora os valores sejam superiores aos encontrados neste estudo. Schons *et al.* (1974), avaliando raças de touros, observaram nos animais indianos que a concentração de frutose foi menor (290,00mg/100ml) que nos animais da raça Holandesa (621,36mg/100ml); e Oba *et al.* (1989), ao avaliar a frutose de ejaculado de bovinos nelore, com diferentes faixas etárias, obtiveram uma concentração de $(2,17 \pm 0,39\text{mg/ml})$ no verão.

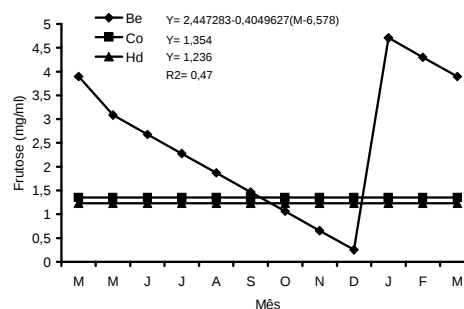


Figura 2. Comportamento da concentração de frutose no sêmen de carneiros das raças Bergamácia (Be), Corriedale (Co) e Hampshire Down (Hd), segundo o mês de coleta

Comportamentos diferentes foram observados por Rao *et al.* (1983), utilizando carneiros da raça Nali e Corriedale, em que encontraram os maiores valores no inverno (12,57mg/ml) e os menores no verão (4,63mg/ml). Esses baixos valores nas duas raças foram atribuídos aos baixos níveis de testosterona. Borque e Sagues (1992) afirmaram que carneiros Manchega apresentaram maiores concentrações no outono (novembro), quando a luz diurna é decrescente (fotoperíodo curto) e menores concentrações na primavera (abril), sendo os valores de 2,90mg/ml e de 0,87mg/ml, respectivamente.

Neste experimento, foram observadas diferenças estacionais nas concentrações de ácido cítrico e de frutose, diferenças que podem estar relacionadas com a qualidade seminal. Tutida *et al.* (1998, comunicação pessoal), trabalhando com carneiros, também verificaram influência estacional e genética na qualidade espermática (motilidade progressiva, vigor e volume), sendo que o comportamento dessas

variáveis foi semelhante ao observado na concentração de ácido cítrico e de frutose, em que se apresentaram maior motilidade progressiva, vigor e volume nos meses de novembro e dezembro e os menores em junho e julho, acompanhando as variações de ácido cítrico e de frutose nos mesmos períodos.

Mann (1948) relatou que os níveis normais de frutose podem sofrer flutuações quando esses são provenientes de sêmen coletado do mesmo animal em épocas diferentes. E que, geralmente, o sêmen com baixas concentrações pode coincidir com outros sintomas de mal funcionamento hormonal e espermatozoides de baixa qualidade; as concentrações altas de frutose indicam boa atividade das glândulas acessórias, mas não implicam sêmen de melhor qualidade (motilidade e densidade). Knight (1973), administrando injeções de propionato de testosterona, em carneiros, obteve maiores concentrações de frutose, sugerindo uma relação entre o hormônio androgênico e as concentrações de frutose. A síntese de frutose pelas vesículas seminais é andrógeno dependente, embora outros fatores, como frequência ejacutória, teor de glicose no sangue e condição nutricional, também possam influir (Luke e Coffey, 1993). No período de repouso sexual, na maioria dos animais estacionais, os testículos diminuem de tamanho, o T3 e o T4 aumentam e reduzem o LH e o FSH, diminuindo a síntese de substâncias pelas glândulas anexas, pois diminui a síntese de andrógeno (Ritar, 1991).

Schons *et al.* (1974), Borque e Sagues (1992) e Roca *et al.* (1993) também reforçam que as variações na concentração de ácido cítrico e de frutose no sêmen dependem de fatores como as variações estacionais, genéticas, estado nutricional, método de coleta de sêmen e frequência da ejaculação. Da variação total ocorrida nas concentrações de ácido cítrico e de frutose, a idade explica muito pouco. A variação pode ser atribuída à alimentação, à época de coleta do material, à propriedade, ao erro de técnica de determinação, ao fornecimento de sais minerais, entre outras coisas.

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que a raça Corriedale foi a que menor efeito sofreu quanto à concentração de ácido cítrico e de frutose, indicando melhor condição de aclimação às condições ambientais.

Assim como o ácido cítrico, a concentração de frutose foi maior no verão que no inverno, demonstrando a ação das estações do ano nesses componentes.

Agradecimentos

Ao laboratório São Camilo, na qualidade do Dr. Sérgio Piva, pelo apoio para a realização na determinação desses componentes.

Referências bibliográficas

- Borque, M.C.; Sagues, A. Variaciones estacionales de los niveles de fructosa, ácido cítrico y proteínas totales en eyaculados de moruecos de raza Manchega. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.*, 7:235-240, 1992.
- Galil, K.A.A.; Galil, A.K.A. Seasonal variation in some characteristics of ejaculated spermatozoa of Sudan desert sheep in the tropics. *J. Agric. Sci.*, 99(1):35-43, 1982.
- Knight, T.W. The effect of the androgen status of rams on sexual activity and fructose concentration in the semen. *Aust. J. Agric. Res.*, 24:573-578, 1973.
- Luke, M.C.; Coffey, D. The male sex absorby tissues structure, androgen action, and physiology. In: Knobil, E.; Neill, J.D. *The physiology of reproduction*. 2.ed. New York: Raven Press, 1993. v.1. p.1435-1487.
- Mann, T. Fructose content and fructolysis in semen: practical application in the evaluation of semen quality. *J. Agric. Sci.*, 38:323-331, 1948.
- Mann, T.; Lutwak-Mann, C. *Male reproductive function and semen*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1981. 495 p.
- Mies Filho, A. *Reprodução dos animais domésticos e inseminação artificial*. 6 ed. Porto Alegre: Editora Sulina S/A, 1987. 645 p. v.1 e 2.
- Mittal, J.P. Seasonal changes in semen characteristics of Marwari e Magra sheep of the Indian desert. *J. Agric. Sci.*, 95:721-724, 1980.
- Oba, A.E.; Ramos, A.A.; Wischral, A.; Define, R.M. Avaliação do ácido cítrico e frutose no sêmen de bovinos Nelore em diferentes idades. *Pesq. Agropec. Bras.*, 24:37-41, 1989.
- Pineda, M.H. Male reproduction. In: McDonald, L.E.; Pineda, M.H. *Veterinary endocrinology and reproduction*. 4 ed. Philadelphia, London: Lea & Fasiger. 1989. 571 p.
- Piva, S. *Espermograma: análises técnicas*. 7 ed. São Paulo: Editora Santos. 1988. 123p.
- Rao, B.R.; Pandey, J.N.; Jairam, B.T. Seasonal variation of certain biochemical constituents in the semen of Nali and Corriedale rams and their relationship with physical attributes under semi-arid tropical regions. *Ind. Vet. J.*, 60:199-204, 1983.
- Ritar, A.J. Seasonal changes in LH, androgens and tests in the male Angora goat. *Theriogenology*, 36(6):959-972, 1991.
- Roca, J.; Martínez, E.; Vázquez, J.M. Seasonal variation in fructose and citric acid in seminal plasma of Murciano-Granadina goats. *Small Rum. Res.*, 10:219-226, 1993.
- Schons, J.A.B.; Neto, J.M.F.; Garcia, O.S.; Rocha, M.C. Teores de frutose inicial e de ácido cítrico no sêmen

- total de touros indianos e holandeses normais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 26:215-222, 1974.
- Silva, R.G. Equações para estimar a carga térmica radiante através do globo negro. In: WORKSHOP BRASILEIRO DE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL, 2, 1989, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: Unesp, 1989. p.1-9.
- Silva, R.G.; Brasil, D.F. Calibração de catatermômetro para avaliação de pequenos deslocamentos de ar. *Ciências Zootéc.*, 1:1-3, 1986.
- Universidade Federal de Viçosa. Saeg: *Sistema de análises estatísticas e genéticas*). Viçosa: UFV, 1995. (Versão 7.0).
- Received on June 29, 1999.*
- Accepted on August 27, 1999.*