

AVALIAÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO E FRUTOSE NO SÊMEN DE BOVINOS NELORE EM DIFERENTES IDADES¹

EUNICE OBA², ALCIDES DE AMORIM RAMOS³, AUREA WISCHRAL⁴
e RONALDO MATEUS DEFINE⁵

RESUMO - O objetivo do presente estudo foi avaliar a concentração média de ácido cítrico e frutose no sêmen de três grupos de 20 reprodutores Nelore, com idades médias de 20,3, 29,7 e 61,1 meses, criados em condições de campo, no município de Anhembi, SP. O sêmen foi colhido após os estímulos provocados por eletroejaculador durante o verão de 1985. Os dados foram transformados em log e analisados pelo método dos quadrados mínimos, e as diferenças entre médias das classes de idades, avaliadas pelo teste de Duncan. Os valores médios obtidos para a concentração de ácido cítrico e frutose foram: $2,33 \pm 0,30$ mg% (CV = 12,91%) e $2,17 \pm 0,39$ mg% (CV = 17,94%), respectivamente. Observou-se efeito significativo ($P < 0,05$) das classes de idades, tendo revelado diminuir linearmente, com o aumento da idade, para ambas as características.

Termos para indexação: Nelore, eletroejaculador, classes de idades.

EVALUATION OF CITRIC ACID AND FRUCTOSE IN THE SEMEN OF NELORE SIREs OF VARIOUS AGE GROUPS

ABSTRACT - The purpose of this study was to evaluate the average concentration of citric acid and fructose in the semen of 3 groups of 20 Nelore sires with an average age of 20.3, 29.7 and 61.1 months under range conditions. The semen was collected after stimulation through electric ejaculator during the summer of 1985. Data were transformed in logarithm and analysed by the least-square method, and the differences between age groups by the Duncan's test. The average values for citric acid and fructose concentrations were: 2.33 ± 0.30 mg% (CV = 12.91%) and 2.17 ± 0.39 mg% (CV = 17.94%), respectively. There was a significant effect ($P < .05$) for age groups with a decrease ($P < .05$) with the advance of age for both variables.

Index terms: Nelore, electric ejaculator, age groups.

INTRODUÇÃO

O conhecimento preciso da morfologia espermática e da composição dos elementos químicos do sêmen são dois requisitos básicos para o estudo e o aperfeiçoamento da técnica visando à fecundação. Nesse sentido, a maioria dos estudos fazem referência somente às características morfológicas ligadas ao material fecundante. Os componentes bioquímicos do sêmen são raramente determinados, embora sejam essenciais para o desenvolvimento de métodos de sua preservação e congela-

mento. Além disso, requerem um procedimento analítico adequado, a fim de permitir, com segurança, o estabelecimento do grau de normalidade.

Concentração de ácido cítrico - No Brasil, Schons et al. (1974), realizando dosagens de ácido cítrico no sêmen de sete touros indianos normais, encontraram a média de $370,49 \pm 16,87$ mg% com uma oscilação de 233,79 a 598,09 mg%. Já Muniz (1975), estudando as variações bioquímicas do sêmen de doze animais zebuínos, encontrou, na fase pré-experimental, uma variação de 573,1 a 657,1 mg%.

Concentração de frutose - Igboeli & Rakha (1971), em dez touros adultos Angoni, na estação de calor, encontraram o valor médio de $420,5 \pm 25,0$ mg%. Já Kulkarni & Bhosrekar (1973) verificaram concentração de $586,12 \pm 45,14$; $701,25 \pm 54,17$ e $726,75 \pm 53,84$ mg/100 ml, em três touros da raça Tharparkar.

No Brasil, Schons et al. (1974), trabalhando com sêmen de sete touros zebuínos, observaram a

¹ Aceito para publicação em 30 de agosto de 1988.

² Méd. - Vet., Dra., Profa.-Assist., Dep. de Cirurgia Vet. e Reprod. Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Caixa Postal 502, CEP 18600 Botucatu, SP.

³ Eng. - Agr., Dep. de Produção e Exploração Animal, FMVZ, UNESP.

⁴ Méd. Vet., Dep. de Cirurgia Vet. e Reprodução Animal, FMVZ, UNESP.

⁵ Méd. - Vet., Dep. de Cirurgia Vet. e Rep. Animal, FMVZ, UNESP.

média de $290,06 \pm 14,14$ mg% de frutose. Em animais adultos da raça Sahiwal, examinados por McFarlane & Abiss (1975), foi encontrada a média de $340,4$ mg/100 ml. Muniz (1975), em doze touros zebuínos, numa fase pré-experimental, constatou, em três animais de 40 meses, uma variação de $521,0$ a $578,7$ mg%, durante 30 dias de colheitas semanais, e no período de 118 dias encontrou uma oscilação de $541,1$ a $578,7$ mg% de frutose no sêmen. Analisando o sêmen de 178 ejaculados de quatro touros Tharparkar, Rao & Rao (1975) verificaram a média de $625,87$ mg%. Também Fields et al. (1979), estudando 24 garrotes Brahman de treze a vinte meses, durante os meses de abril a agosto, constataram a concentração média de $375,51$ e 232 ± 51 mg%.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o conteúdo de frutose e ácido cítrico no sêmen de bovinos Nelore, em diferentes idades, submetidos a regime de criação extensiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 60 animais da raça Nelore, distribuídos em três classes, com 20 reprodutores cada, cujas idades médias eram de 20,3, 29,7 e 61,1 meses, procedentes do município de Anhembi, São Paulo, criados em regime permanente de pasto.

O sêmen dos animais foi colhido por eletroejaculador durante o verão, nos meses de janeiro e fevereiro, totalizando, assim, 60 amostras. Imediatamente, uma pequena alíquota do ejaculado fresco foi processada para verificação do conteúdo de frutose, pela técnica de Mann (1948). O restante do sêmen foi acondicionado em recipiente de vidro devidamente identificado, e armazenado a uma temperatura de -20°C para posterior determinação do conteúdo de ácido cítrico.

Após a descongelação, tomou-se uma alíquota de sêmen anteriormente armazenado a -20°C , e procedeu-se à desproteinização com ácido tricloroacético a 5%. A determinação de ácido cítrico nessa amostra seguiu a técnica descrita por Saffran & Denstedt (1948).

As análises estatísticas dos dados foram realizadas no Centro de Computação e Informática da UNESP, Botucatu, SP, utilizando o programa MLSPML-76 (Mixed Model Least Squares and Maximum Likelihood Computer Program) descrito por Harvey (1977). Foi aplicado o logaritmo de base 10 nos valores observados das variáveis ácido cítrico e frutose, por apresentarem alto coeficiente de variação. As variáveis foram analisadas pelo método dos quadrados mínimos, segundo o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = u + I_i + E_{ij}$$

onde

Y_{ij} = resposta esperada para cada variável dependente;

u = média populacional;

I_i = efeito de i ésima classe de idade, para $i = 6,25, 9,5, 20,3, 29,7$ e $61,1$ meses de idade; e

E_{ij} = erro amostral ou resíduo.

As diferenças entre médias foram avaliadas pelo teste de Duncan, e o coeficiente de determinação (R^2), calculado pela razão entre a soma de quadrado da causa de variação pela soma de quadrado total corrigida.

As classes de idades dos animais foram decompostas por meio de uma regressão polinomial não ortogonal, em efeitos linear e de segunda, terceira e quarta potência, para verificar as tendências das variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Concentração de ácido cítrico - A concentração média no sêmen da amostra populacional estudada foi de $257,75 \pm 152,58$ mg%, ou $\log = 2,33 \pm 0,30$ com coeficiente de variação de 59,20% ou 12,91%, respectivamente. É um valor baixo, quando confrontado com resultados obtidos por Schons et al. (1974), ou seja, $370,49$ mg%, e Muniz (1975), $573,1$ a $657,1$ mg%, em 13 e 12 zebuínos, respectivamente.

Na avaliação do efeito das classes de idade sobre esta característica, constatou-se efeito significativo ($P < 0,05$), sendo responsável por apenas 9,64% da variação proporcionada na soma de quadrados total (Tabela 1). Constatou-se que os animais adultos apresentaram concentração significativamente menor ($P < 0,05$), pelo teste de Duncan, do que os jovens (Tabela 2).

O estudo da regressão polinomial de idade sobre a concentração de ácido cítrico no sêmen demonstrou efeito linear significativo ($P < 0,05$) (Tabelas 1 e 3), sendo responsável por 91,28% da variação da soma dos quadrados total da causa de classe de idade. A equação de regressão apresentou um coeficiente linear negativo ($b_1 = -0,005206$), indicando que o teor de ácido cítrico do sêmen decresce linearmente com o aumento da idade (Fig. 1).

Concentração de frutose - O valor médio para o logaritmo da concentração de frutose no sêmen de 60 zebuínos das três classes etárias foi de

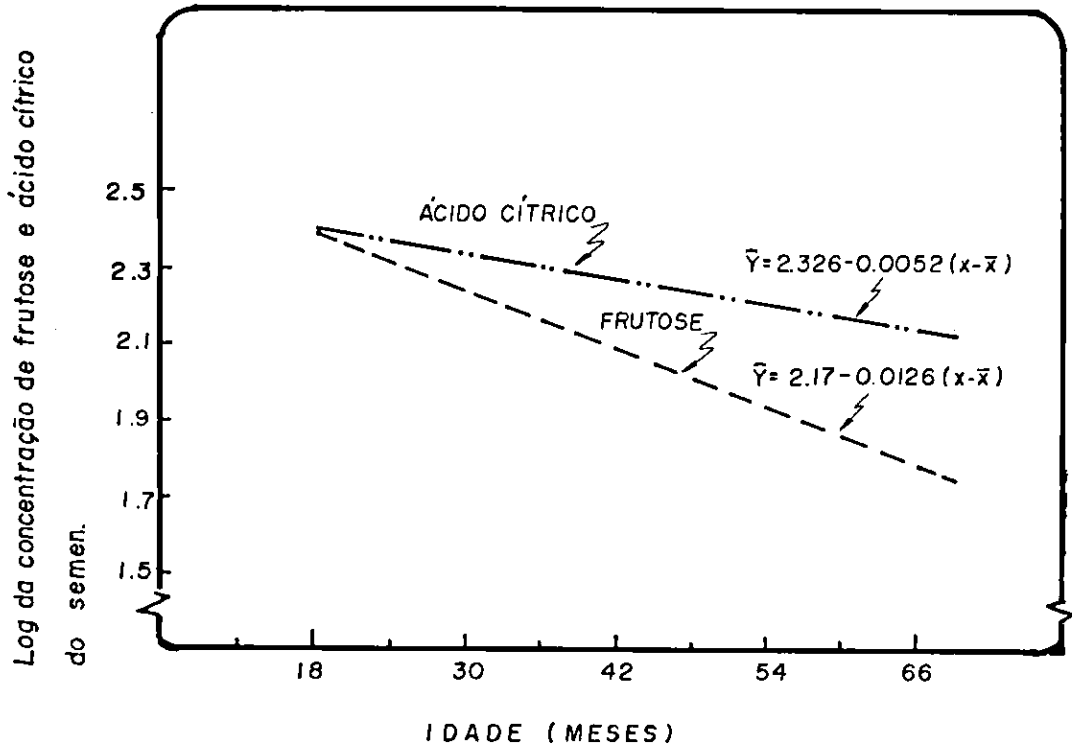


FIG. 1. Concentração de frutose e ácido cítrico (mg %) do semen, segundo a idade dos animais. Botucatu 1985.

TABELA 1. Aspectos bioquímicos do sêmen: concentração de ácido cítrico e frutose. Resumo da análise de variância, segundo a classe de idade, pelo método dos quadrados mínimos, e os respectivos coeficientes de determinação (%R²). Botucatu, 1985.

| Causa de variação | G.L. | Variável | | | |
|-------------------|------|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | Log. do ác. cítrico | | Log. da frutose | |
| | | QM | %R ² | QM | %R ² |
| Classe de idade | 2 | 0,2711* | 9,64 | 1,4639** | 29,39 |
| Linear | 1 | 0,4949* | 91,28 | 2,8815** | 98,42 |
| Quadrática | 1 | 0,0473 | 8,72 | 0,0464 | 1,58 |
| Resíduo | 57 | 0,0838 | — | 0,1057 | — |

2,17 ± 0,39 mg%, com coeficiente de variação de 17,94%. É um valor baixo, quando com os valores relatados por Igboeli & Rhaka (1971), Kulkarni & Bhosrekar (1973), Schons et al. (1974), McFarlane & Abiss (1975), Muniz (1975), Rao & Rao (1975) e Fields et al. (1979), e semelhante aos apontados por Schons et al. (1974) e Fields et al. (1979), na estação de outono.

A análise de variância dos dados revelou que a idade interfere de modo significativo (P < 0,01) no logaritmo da concentração de frutose, sendo responsável por 98,42% da variação ocorrida na soma de quadrados total (Tabela 1).

Os valores médios estimados por classe de idade revelam uma diferença significativa (P < 0,05), no teste de Duncan, entre o valor observado para

TABELA 2. Concentração de ácido cítrico e frutose: número de observações por classe de idade, média e seus respectivos erros padrões estimados pelo método dos quadrados mínimos. Botucatu, 1985.

| Classe de idade | N | Variável | | | |
|-----------------|----|-------------------------|-------|---------------------|-------|
| | | Log. do ác. cítrico mg% | | Log. da frutose mg% | |
| | | Média* | ±E.P. | Média* | ±E.P. |
| < 24 | 20 | 2,38 a | 0,06 | 2,41 a | 0,07 |
| 24 - 36 | 20 | 2,40 a | 0,06 | 2,23 a | 0,07 |
| < 36 meses | 20 | 2,19 b | 0,06 | 1,88 b | 0,07 |
| Total | | 2,33 | 0,04 | 2,17 | 0,04 |

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 3. Equações de regressão polinomial do efeito da classe de idade do animal sobre os teores de ácido cítrico e frutose do sêmen. N = 60 animais. Botucatu, 1985.

| Variável | Coeficiente angular | | |
|---------------|---------------------|----------------|----------------|
| | b ₀ | b ₁ | b ₂ |
| Ácido cítrico | 2,326 | -0,005206* | - |
| Frutose | 2,171 | -0,01256** | - |

X = 37,03 meses de idade.

* P < 0,05.

** P < 0,01.

os animais acima de 36 meses e as classes etárias menores (Tabela 2).

A regressão polinomial do efeito das classes de idade sobre o logaritmo da concentração de frutose no sêmen mostra a ocorrência de diminuição linear significativa ($P < 0,01$), à medida que a idade aumenta ($b = -0,01256$) (Tabela 3 e Fig. 1), e justifica 98,42% da variação da causa da classe de idade.

A correlação entre a concentração de frutose com a de ácido cítrico foi $r = 0,63$, significativa

($P < 0,01$), revelando uma interdependência entre as características.

No geral, para as características que compõem os aspectos bioquímicos do sêmen: ácido cítrico e frutose, além de outros, a classe de idade explicou muito pouco da variação total ocorrida na soma de quadrados, devendo o restante ser atribuído a outras causas, como: alimentação, época de colheita de material, fazenda, erro de técnicas de determinação, fornecimento de sais minerais, e outras, o que justifica novos estudos.

CONCLUSÕES

1. Os valores médios normais foram $2,33 \pm 0,30$ mg% para o log da concentração de ácido cítrico, e $2,17 \pm 0,39$ mg% para o log da concentração de frutose.

2. A análise de variância revelou que a idade dos animais exerceu efeito significativo sobre o log da concentração do ácido cítrico.

3. Decomposta a idade, o log da concentração de ácido cítrico e da frutose no sêmen revelaram diminuir linearmente, de modo significativo, com o seu aumento.

4. O log da concentração de ácido cítrico mostrou ser dependente do log da concentração de frutose na amostra populacional estudada.

REFERÊNCIAS

- FIELDS, M.J.; BURNS, W.C.; WARNICK, A.C. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. *J. Anim. Sci.*, 48: 1299-304, 1979.
- HARVEY, W.R. *User's guide for LSMM 76 Mixed Model Least Squares and Maximum Likelihood Computer Program*. Ohio, Ohio State University, 1977. 76p.
- IGBOELI, G. & RAKHA, A.M. Seasonal changes in the ejaculate characteristic of Angoni (Short Horn Zebu) bulls. *J. Anim. Sci.*, 33:651-4, 1971.
- KULKARNI, R.S. & BHOSREKAR, M. Studies on seminal attributes of exotic and zebu bulls. *Indian J. Anim. Sci.*, 43:183-6, 1973.

- MCFARLANE, J.S. & ABISS, T.P. Seminal fructose levels as a parameter of libido in entire and vasectomised zebu bulls. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 7:51-5, 1975.
- MANN, T. Fructose content and fructolysen in the semen. Practical application in the evaluation of semen quality. *J. Agric. Sci.*, 38:322-31, 1948.
- MUNIZ, V.M.M. Frutose, ácido cítrico, proteína total e o seu fracionamento eletroforético no sêmen de touros azebuados submetidos à insulação testicular. Belo Horizonte, UFMG. Esc. Veterinária, 1975. 39p. Tese Mestrado.
- RAO, R.M. & RAO, A.R. Studies on semen characteristics of Tharparkar and Jersey bulls. *Indian Vet. J.*, 52:889-900, 1975.
- SAFFRAN, M. & DENSTEDT, O.S. A rapid method for the determination of citric acid. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, 175:849-55, 1948.
- SCHONS, J.A.B.; FERREIRA NETO, J.M.; GARCIA, O.S.; ROCHA, M.C. Teores de frutose inicial e ácido cítrico no sêmen total de touros indianos e holandeses normais. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. MG*, 26: 215-22, 1974.