

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO SÊMEN DE BOVINOS DO ECÓTIPO MANTIQUEIRA⁽¹⁾

TEREZINHA APARECIDA MARTINS GOMES DE CASTRO⁽²⁾, CÂNDIDO EDUARDO PAIVA MACHADO⁽²⁾ e FERNANDO GOMES DE CASTRO JÚNIOR⁽²⁾

RESUMO: O gado mantiqueira está sendo estudado quanto às características leiteiras na Estação Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba, São Paulo. As características do sêmen dos touros do referido ecótipo foram estudadas, quanto ao seu poder fecundante, utilizando 160 amostras oriundas de oito touros, com idade média de 3,5 anos, durante o ano de 1979. Os animais foram arraçoados com silagem de sorgo e água *ad libitum*. As colheitas foram realizadas semanalmente durante cerca de cinco meses, tendo sido analisadas as características físicas (volume, pH, concentração espermática, motilidade, porcentagem de vivos e turbilhonamento) e químicas (proteínas, frutose e ácido cítrico). Os valores médios observados foram: 1) concentração espermática de $0,97 \pm 0,07 \times 10^6$ espermatozoides/mm³; 2) motilidade de $3,46 \pm 0,31$; 3) porcentagem de vivos de $69 \pm 3,89\%$; 4) turbilhonamento de $2,83 \pm 0,192$; 5) volume de $6,51 \pm 0,62$ ml; 6) pH de $6,46 \pm 0,05$; 7) concentração protéica de $4,84 \pm 0,058$ g%; 8) concentração de frutose de $650 \pm 73,29$ mg% e 9) concentração de ácido cítrico de $577,50 \pm 16,44$ mg%.

Termos para indexação: bovino, sêmen, proteína, frutose, ácido cítrico.

Physical and chemical characteristics of Mantiqueira semen bulls

SUMMARY: Eight Mantiqueira bulls with average age 3.5 years old from Experimental Station of Pindamonhangaba, São Paulo were selected for study of semen characteristics. They were maintained in good health throught the experimental period. Each bull received per day four kilograms of ration consisting of ground suapped corn (40%), wheat meal (40%), soybean meal (10%), cottonseed meal (10%) and mineral salt (1%). Semen collects were made with artificial vagina and the ejaculates were obtained once a week during a period of five months. Thus, the physical characteristics (volume, pH, sperm concentration, initial motility, percentage of live sperms) and chemical characteristics (levels of fructose, citric and proteins) were analysed. The average obtained were: 1) Sperm concentration of 0.97 ± 0.07 spermatozoa $\times 10^6$ /mm³; 2) initial motility of $3.46 \pm 0.31\%$; 3) percentage of live sperms of $69 \pm 3.89\%$; 4) mass activity of 2.83 ± 0.192 ; 5) volume of 6.51 ± 0.62 ml; 6) pH of

(1) Parte do Projeto IZ. 14-017/78. Recebido para publicação em dezembro de 1989.

(2) Seção de Reprodução e Inseminação Artificial. Divisão de Técnica Básica e Auxiliar.

6.46 ± 0.05; 7) protein concentration of 4.84 ± 0.058 g%; 8) fructose concentration of 650 ± 73.29 mg% and 9) citric acid concentration of 577.50 ± 16.44 mg%.

Index terms : bull, semen, fructose, protein, citric acid.

INTRODUÇÃO

O gado mantiqueira, ecótipo encontrado na região da Serra da Mantiqueira (Estado de Minas Gerais) está sendo estudado quanto às suas características leiteiras na Estação Experimental de Zootecnia de Pindamonhangaba, do Instituto de Zootecnia de São Paulo. Este ecótipo originou-se do acasalamento em fins do século, de touros holandeses variedade preta e branca (importado da França) e gado nativo da região ou bovinos de origem portuguesa. Devido às dificuldades encontradas na época em relação à importação, ocorreu mestiçagem utilizando-se possivelmente de touro 3/4 a 7/8 de sangue holandês sobre vacas mestiças. Atualmente, o ecótipo, encontra-se disseminado em várias partes do Estado de São Paulo e Minas Gerais.

O estudo das características físicas, químicas e bioquímicas do sêmen de bovinos do ecótipo mantiqueira fornecerão subsídios à obtenção dos parâmetros utilizados nas análises quali-quantitativas dos ejaculados referente ao seu poder de fecundação, bem como o estabelecimento de padrões normais da raça (ecótipo); além de fornecer suporte aos processos de criopreservação do sêmen.

O estudo das características do sêmen de reprodutores do ecótipo mantiqueira, iniciaram-se com publicações de CASTRO *et al.* (1983), CASTRO *et al.* (1986 a, b, c), que determinaram os níveis de transaminase glutâmica oxaloacética (TGO) no espermatozóide e fosfatase ácida, fosfatase alcalina e proteínas no plasma seminal, bem como o fracionamento eletroforético das proteínas seminais em disco em gel de poliacrilamida. Esses ensaios permitem uma visualização dos parâmetros normais de características bioquímicas do sêmen de bovinos do ecótipo mantiqueira bem como a correlação destas com as características físicas e químicas.

EHLERS *et al.* (1953) determinaram os níveis de frutose e ácido cítrico tanto no sêmen total como no plasma seminal de ejaculados de bovinos das raças Jersey, Holstein e Guernsey. Os autores observaram que não houve diferenças significativas com relação à determinação dos níveis de frutose e ácido cítrico no sêmen total e plasma seminal. Os valores médios obtidos para as raças Jersey, Holstein e Guernsey foram de 468, 548 e 608 mg % de frutose e 719, 778 e 681 mg % de ácido cítrico.

KODAGALE (1961) estudou as características físicas do sêmen de bovinos da raça Khillar e os valores médios obtidos para volume, pH, motilidade, densidade espermática foram 3,88 ml, 6,4, 3,5 a 4 (70 a

80%) e $1,875 \times 10^6$ espermatozóides/ml, respectivamente.

KIRTON *et al.* (1964) utilizando-se de ejaculados consecutivos de cinco bovinos da raça Holstein com idade de 2 a 5 anos de idade, obtiveram em média 8,51 ± 0,48 ml de volume ejaculado, densidade espermática de $1,80 \pm 0,08 \times 10^9$ espermatozóides/ml, pH 6,26 ± 0,04, frutose 681 ± 52 mg %, ácido cítrico 520 ± 42 mg% e proteína 7,14 ± 0,36 g % no primeiro ejaculado e valores decrescentes destes valores para os ejaculados subsequentes.

De acordo com SZUMOWSKI (1966) a concentração de proteínas totais no sêmen de bovinos varia de 2,52 a 6,50 g % distribuída em quatro frações principais; albumina (2,52%), α globulina (66,50%), β globulina (19,60%) e γ globulina (10,40%).

GLOVER (1968) utilizando-se de touros da raça Sahival (Kênia) obteve os seguintes valores médios: volume do ejaculado 4,9 ± 2,5ml; porcentagem de vivos 72 ± 19%; densidade espermática de $1,39 \pm 0,92 \times 10^6$ /ml. A grande variação apresentada em relação às características físicas estudadas foi atribuída ao início da maturidade sexual.

RAO & RAO (1975) analisaram as características físicas e químicas do sêmen de quatro bovinos da raça Tharparkar e quatro bovinos jersey. No total de 212 e 178 ejaculados, os valores médios para as duas raças foram: volume de sêmen ejaculado $3,84 \pm 1,29$ e $4,02 \pm 1,61$ ml; motilidade $81,62 \pm 3,94\%$ e $97,20 \pm 9,99\%$; densidade espermática $1,33 \pm 0,14$ e $1,29 \pm 0,18 \times 10^6$ ml; porcentagem de espermatozóides vivos $88,44 \pm 6,76\%$ e $85,15 \pm 10,15\%$; pH 6,79 ± 1,43 e 6,79 ± 1,54; frutose $625,827 \pm 55,20$ e $648,054 \pm 48,81$ mg%.

LINFORD *et al.* (1976) estudaram a relação entre os métodos de avaliação da qualidade do sêmen e a fertilidade em bovinos. Os resultados obtidos revelaram inadequência dos testes de laboratório para prever a fertilidade de amostras de sêmen, mas mostrou os limites nos quais as amostras mais pobres em espermatozóides devem ser descartadas.

ORESNIK *et al.* (1978) analisaram o volume ejaculado e a qualidade do sêmen coletado de dez bovinos slovenian brown e cinco bovinos black pied e obtiveram os seguintes resultados: volume ejaculado de 5,78 e 6,63 ml, motilidade 71,8 e 74,9%, densidade espermática $1,29 \times 10^6$ e $1,12 \times 10^6$ espermatozóides / mm³, respectivamente.

RAO & RAO (1980) estudaram as características físicas do sêmen de dois bovinos ongole com idade ao

redor de três anos e dos 158 ejaculados obtidos, os valores foram de volume $4,19 \pm 0,78$ ml, motilidade inicial $84,40 \pm 3,50\%$, densidade espermática $0,76 \pm 0,13 \times 10^6$ espermatozoides/ml e porcentagem de vivos $88,22 \pm 3,48\%$. Os autores observaram que só o volume ejaculado variou significativamente entre os bovinos.

SINGH et al. (1982) ao analisarem o sêmen de bovinos cruzados jersey - sahival - danish red coletados semanalmente, observaram que no sêmen fresco a motilidade foi em média $70,42 \pm 0,96\%$ (que na escala 0-5 corresponde a $3,7 \pm 0,05$), a porcentagem de espermatozoides vivos $79,15 \pm 1,06\%$ e a concentração protéica $8,09 \pm 0,45$ g/100 ml.

DEDE et al. (1983) estudaram as características físicas do sêmen coletado de seis bovinos holstein-friesian, na Nigéria, com idade de 26 a 33 meses no início da coleta. Após um período experimental de 36 semanas, os resultados obtidos foram: densidade espermática de $0,58 \pm 0,10 \times 10^6$ espermatozoides/mm³, motilidade $57,63 \pm 27,40\%$, volume ejaculado $3,45 \pm 0,18$ ml e pH $6,4 \pm 0,12$.

Os autores observaram que só não houve diferença estatisticamente significativa entre os bovinos somente para o volume ejaculado e pH.

YURDAYDIN & SEVINC (1985) analisaram 120 ejaculados de seis bovinos austrian brown e os valores obtidos foram: volume 5,38/ml; pH 6,7, densidade espermática $0,82 \times 10^6$ /mm³ e motilidade espermática 54,58% para o primeiro ejaculado.

MORELLI et al. (1985) analisaram 222 amostras de sêmen coletadas de seis bovinos pitangueira, dos quais três eram portadores de translocação robertsoniana e três eram normais. Para os touros normais, os autores obtiveram uma motilidade espermática de 43,13%, 35,97% e 35,36% imediatamente após descongelamento e porcentagem de vivos de 72,89%, 58,98% e 57,93%.

ASOKAN et al. (1986) realizaram um estudo comparativo nas características biofísicas e bioquímicas do sêmen de bovinos cruzados. Os autores utilizando-se de quarenta e quatro ejaculados de vinte e dois bovinos cruzados, com idade entre 5 e 7 anos, observaram que trinta amostras foram consideradas de boa qualidade: motilidade 4 ou 5, densidade espermática de $1,0 \times 10^6$ espermatozoides/mm³, 80% de espermatozoides vivos e 993 ± 69 mg% de frutose.

No presente ensaio é proposto o estudo das características físicas (turbilhamento, densidade espermática, motilidade, porcentagem de vivos, volume e pH) e químicas (frutose, proteínas e ácido cítrico), objetivando o estabelecimento dos padrões normais destas características bem como a sua variação entre touros.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados oito touros normais com idade variando de 2,5 a 4,5 anos, ecótipo Mantiqueira da Estação Experimental de Pindamonhangaba por um período de cinco meses, durante o ano de 1979. Cada animal recebia por dia 4 kg de ração à base de milho (40%), farelo de trigo (40%), farelo de soja (10%), farelo de algodão (10%) e sal mineral (1%).

A coleta de sêmen foi feita pelo processo clássico da vagina artificial realizada semanalmente, num total de 160 amostras.

No material coletado foi determinado o volume em tubo graduado e mantido a 37°C. Alíquotas foram retiradas para exame microscópico (turbilhamento, motilidade, densidade espermática e porcentagem de vivos) e determinação quantitativa de frutose e ácido cítrico.

O pH foi determinado potenciométricamente e a densidade espermática foi realizada segundo a técnica empregada em hematimetria na diluição 1:200. A densidade espermática do ejaculado foi obtida multiplicando-se o volume total pela concentração espermática por ml. A avaliação da motilidade foi realizada pelo exame microscópico, atribuindo-se notas variando de 1 a 5. Para a determinação da porcentagem de vivos, utilizou-se de técnica de coloração com nigrosina.

A determinação da concentração de frutose foi realizada de acordo com a metodologia de MANN (1948), na qual a coloração desenvolvida é lida espectrofotometricamente a 505 nm.

A avaliação da concentração de ácido cítrico foi realizada segundo a técnica descrita por SAFFRAN & DENSTEDT (1948) após desproteínização do sêmen com ácido tricloacético 5% e o produto final corado lido a 420 nm.

A concentração protéica foi determinada no plasma seminal (obtido por centrifugação do sêmen total a 2.500 rpm durante 10 minutos a 4°C) de acordo com o processo do biureto modificado de URIEL (1961) utilizando a soroalbumina bovina como padrão e a leitura do produto final feita a 545 nm.

Os parâmetros estudados foram analisados através de medidas de posição (teste t) sendo a hipótese nula de rejeição pré-estabelecida ao nível de $P < 0,05$ para o contraste efeito de touro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média, o desvio padrão e o coeficiente de variação individual e do ecótipo, referente às características físicas (volume em ml, porcentagem de vivos, densidade espermática $\times 10^6$ /ml, turbilhamento, motilidade e pH) e químicas (proteínas em g%,

frutose em mg% e ácido cítrico em mg%) encontram-se nos quadros 1 e 2, bem como os resultados no teste t para o contraste efeito de touro.

Características Físicas

Volume: Os valores médios para o volume do ejaculado foi de $6,67 \pm 1,95$ ml e coeficiente de variação de 29,23%. Os valores médios individuais variaram de $4,81 \pm 0,93$ até $9,19 \pm 1,34$ e quando analisadas pelo teste t apresentaram diferenças estatisticamente significativas ao nível de $P < 0,05$. Os valores médios obtidos para o volume do ejaculado do ecótipo Mantiqueira são próximos aos valores encontrados por YURDAYDIN & SEVINC (1985) para bovinos austrian brown que foi de 5,38 ml e ORESNIK *et al.* (1978), que estudando bovinos slovenian brown e black pied encontraram valores de 5,78 e 6,63 ml, respectivamente. A variabilidade do volume espermático no presente ensaio, poderia ser explicada não só pela resposta individual do touro como também pelos efeitos ambientais relatados por EHLERS *et al.* (1953) que estudaram esta variabilidade para outras características do sêmen que estariam correlacionadas com o volume.

Porcentagem de espermatozoides vivos: Os valores médios obtidos foram de 60,55 8,16% e coeficientes de variação de 11,9%. Observou-se uma resposta individual dos touros, variando de $61,87 \pm 6,29\%$ à $72,50 \pm 7,30\%$ sendo detectadas diferenças sig-

nificativas ao nível de $P < 0,05$ para o contraste efeito do touro quando aplicado o teste t.

Os valores médios encontrados para o ecótipo Mantiqueira assemelham-se aos da raça Sahival (Kênia) que foram de $72,00 \pm 19,00$ citados por GLOVER (1968). Observa-se uma maior variação nos resultados de GLOVER (1968), que utilizou-se de animais na faixa de idade de 24 meses, o que nos permite inferir, que além do efeito do touro, possa existir o efeito da idade para estas características. Em relação aos resultados obtidos por ASOKAN *et al.* (1986), observa-se uma inferioridade, visto que os mesmos encontraram valores de cerca de 80%, porém, utilizaram-se de animais cuja idade estava entre 5 e 7 anos.

Motilidade: Os valores médios da motilidade dos ejaculados foram de $3,47 \pm 0,60$ e coeficiente de variação de 17,29%. Houve uma variação individual de touros de $2,87 \pm 0,62$ a $3,81 \pm 0,40$, sendo detectada diferenças estatisticamente significativas ao nível de $P < 0,05$ para o contraste efeito de touros. Estes valores encontram-se dentro dos limites citados por KODAGALE (1961), para bovinos da raça Khillar, SINGH *et al.* (1982) para bovinos cruzados jersey - sahiwal - donish red, porém superiores aos valores encontrados por DEDE *et al.* (1983), utilizando-se de bovinos holstein friesland, MORELLI *et al.* (1985) analisando sêmen de bovinos da raça Pitangueiras e inferiores aos citados por ASOKAN (1986) estudando bovinos cruzados e RAO & RAO (1980) analisando o

Quadro 1. Características físicas (volume, % vivos, densidade espermática, pH e motilidade), do sêmen de bovinos do ecótipo mantiqueira

Touro Nº	Coletas Nº	Volume			pH			% Vivos			(x 10 ³) Dens. Esp.			Turb.			Motilidade (1-5)		
		X	S	CV	X	S	CV	X	S	CV	X	S	CV	X	S	CV	X	S	CV
1	16	9,19	1,34	14,58	6,56	0,13	1,98	65,00	8,94	13,75	903,37	100,61	11,14	3,00	0,95	31,66	3,56	0,51	14,32
2	16	6,10	1,02	16,72	6,47	0,12	1,85	68,12	9,10	13,36	1076,37	93,69	8,70	2,77	0,60	21,67	3,62	0,50	13,81
3	16	8,56	1,62	18,92	6,56	0,15	2,29	70,00	7,07	10,10	1003,00	83,32	8,36	2,69	0,75	27,88	3,68	0,48	13,04
4	16	6,03	1,74	28,85	6,42	0,14	2,18	72,50	7,30	10,06	826,62	115,78	14,00	2,92	1,04	35,61	3,06	0,68	22,22
5	16	5,84	1,16	19,86	6,54	0,16	2,45	70,62	8,14	11,52	981,12	196,42	20,01	2,92	1,04	35,61	2,87	0,62	21,60
6	16	4,81	0,93	19,33	6,49	0,13	2,00	70,31	3,40	4,83	1051,12	100,96	9,60	2,85	0,69	24,20	3,48	0,51	14,65
7	16	6,80	1,68	24,70	6,49	0,11	1,69	61,87	6,29	10,16	1011,00	109,06	10,78	3,00	0,79	23,66	3,81	0,40	10,50
8	16	6,06	1,58	26,07	6,49	0,12	1,85	70,00	9,49	13,56	976,37	86,50	8,85	2,92	1,21	41,43	3,62	0,50	13,81
Total	128	6,67	1,95	29,23	6,50	0,14	2,15	68,55	8,16	11,90	978,62	135,50	13,84	2,88	0,87	30,20	3,47	0,60	17,29

Quadro 2. Características químicas (proteínas, frutose e ácido cítrico) do sêmen de bovinos do ecótipo mantiqueira

Touro Nº	Coleta Nº	Proteínas (g%)			Frutose (mg%)			Ácido cítrico (mg%)		
		X	S	CV	X	S	CV	X	S	CV
1	16	4,88a	0,32	6,56	657,50a	51,43	7,82	594,15ab	58,66	9,87
2	16	4,87a	0,26	5,37	661,00a	61,74	9,34	570,28ab	42,38	7,43
3	16	5,04a	0,31	6,15	668,43a	44,83	6,71	558,43ab	48,76	8,73
4	16	4,90a	0,24	4,90	657,86a	59,21	9,00	614,36b	71,68	11,68
5	16	5,04a	0,30	5,95	668,71a	28,83	4,31	602,00ab	44,61	7,41
6	16	5,00a	0,27	5,40	659,57a	32,39	4,91	573,14ab	33,61	5,86
7	16	4,87a	0,23	4,72	634,86a	52,82	8,32	572,57ab	59,52	10,39
8	16	4,81a	0,18	3,74	644,71a	60,08	9,32	548,28a	32,65	5,95
Total	128	4,92	0,27	5,49	656,58	49,90	7,60	577,21	48,22	8,40

sêmen de bovinos ongole.

Densidade espermática: Os valores médios da densidade espermática dos ejaculados foram de $978,62 \pm 135,50 \times 10^3$ e coeficiente de variação de 13,84%. Observou-se uma resposta individual dos reprodutores que variou de $826,626 \pm 115,78$ a $1.076,37 \pm 93,69$, sendo detectada diferenças significativas ao nível de $P < 0,05$ para o contraste efeito do touro, ao ser aplicado o teste t. Os valores médios encontrados para o ecótipo Mantiqueira, são superiores aos valores observados por RAO & RAO (1980) para reprodutores ongole e por DEDE et al. (1983), utilizando-se de bovinos holstein-friesian. No entanto, o que se observa em ambos os casos, é que os reprodutores utilizados encontram-se numa faixa de idade inferior ou ao redor de três anos, permitindo assim, inferir a possibilidade do efeito da idade para esta característica.

pH: Os valores médios do pH dos ejaculados foram de $6,50 \pm 0,14$ e coeficiente de variação de 2,15%, havendo uma variação individual entre reprodutores de $6,42 \pm 0,14$ a $6,56 \pm 0,15$. Estes valores encontrados estão em concordância com os obtidos por KODAGALE (1961) para bovinos da raça Killan e DEDE et al. (1983) para bovinos holstein-friesian. Observa-se ainda uma superioridade nos resultados obtidos por RAO & RAO (1975) para as raças Tharparkar e Jersey.

Turbilhonamento: Os ejaculados de bovinos do ecótipo Mantiqueira apresentaram valores médios para turbilhonamento de $2,88 \pm 0,87$, com coeficiente de variação de 30,20%, ocorrendo variação individual entre touros de $2,69 \pm 0,75$ a $3,00 \pm 0,95$.

Características Químicas

Frutose: Os valores da concentração de frutose no sêmen total de bovinos do ecótipo mantiqueira variaram de 634,86 a 668,43 mg%, com um valor médio entre $634,86 \pm 52,82$ e $668,71 \pm 28,83$ mg%. Tais resultados assemelham-se aos observados por RAO & RAO (1980) em bovinos da raça Ongole, sendo inferiores aos obtidos por KIRTON et al. (1964) utilizando-se de bovinos da raça Holstein e superiores aos valores encontrados por EHLERS et al. (1953) que analisaram o teor de frutose tanto no sêmen total como no plasma seminal de bovinos das raças Jersey, Holstein e Guernsey.

Ácido cítrico: Os valores encontrados para o nível de ácido cítrico no sêmen total variaram de 548,28 a 614,36 mg%, apresentando um valor médio de $577,21 \pm 48,22$ e coeficiente de variação de 8,40% sendo observada diferença estatisticamente significativa ao nível de $P < 0,05$. Estes valores estão levemente superiores aos encontrados por KIRTON et al. (1964) em bovinos da raça Holstein e inferiores aos valores encontrados por EHLERS et al. (1953) em bovinos das

raças Jersey, Holstein e Guernsey.

Proteínas: Os valores observados para as concentrações protéicas encontram-se entre $4,81 \pm 0,18$ e $5,04 \pm 0,30$ g%, apresentando um valor médio de $4,92 \pm 0,27$ g% e coeficiente de variação de 5,49%. A pequena variabilidade observada entre os reprodutores pode-se atribuir ao grande número de amostras de touros bem como pelo fato de se tratar de animais sadios em regime de coleta. Os resultados obtidos para o ecótipo Mantiqueira são superiores aos encontrados por KIRTON et al. (1964) com bovinos da raça Holstein e SINGH et al. (1982) estudando o sêmen de bovinos cruzados jersey - sahiwal - danish red. Em relação aos valores obtidos por SZUMOWSKI (1966), observa-se que estão dentro dos limites, já que eles variaram de 2,52 a 6,50 g% acrescido ao fato de que o autor utilizou-se de amostra provenientes de touros de diferentes raças, o que incrementaria a amplitude da variação.

CONCLUSÕES

1. Para os parâmetros de pH, concentração protéica e teor de frutose não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre touros.

2. O volume espermático, porcentagem de vivos, motilidade, densidade espermática e concentração de ácido cítrico no ejaculado dos animais em estudo, apresentaram diferenças significativas ao nível de $P < 0,05$ entre touros, sendo que maiores variabilidades foram detectadas para o volume do ejaculado seguido da motilidade e porcentagem de vivos.

AGRADECIMENTO

À escriturária Arlete Duarte pelos trabalhos de datilografia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASOKAN, S.A.; PATTABIRAMAN, S.R. & VENKATAS WAMY, V. Comparative study on certain biophysical and biochemical characters of semen in crossbreed bulls. Cheiron, Mardas, India, 15(2):198-201, 1986.
- CASTRO, T.A.M.G.; MACHADO, C.E.T. & FERRAZ, E.F. Atividade glumato exalacetato transaminase (GOT) em sêmen de bovinos do tipo Mantiqueira. B. Industr. anim., Nova Odessa, SP, 40(2):169-72, 1983.
- _____; _____ & _____. Atividade glumato piruvato transaminase (GPT) em sêmen de bovinos do tipo Mantiqueira. B. Industr. anim., Nova Odessa, SP, 43(1):33-6, 1986a.
- _____; _____ & LIEPIN, N.R. Níveis de proteína total e eletroforese das proteínas do plasma seminal de bovinos do ecótipo Mantiqueira. B. Industr. anim., Nova Odessa, SP, 43(1):37-44, 1986b.

- _____; _____; SILVA, D.J. & PROCKNOR, M. Atividades fosfatases ácida e alcalina em sêmen de bovinos do tipo Mantiqueira. *B. Indústr. Anim.*, Nova Odessa, SP, 43, (2):223-30, 1986c.
- DEDE, T.I., AKPOKODGE, J.U. & ODILI, P.I. Seminal characteristics and libido of Holstein / Freiesian bulls raised in a tropical environment. *Trop. Vet.*, Ibadan, Nigéria, 1(2):77-84, 1983.
- EHLERS, M.H.; FLERCHINGER, F.H. & ERB, R.E. Initial levels of fructose and citric acid in bull semen as related to fertility. *J. Dairy Sci.*, Champaign, Ill, 36(9):1020-6, 1953.
- GLOVER, F.A. Physical method of measuring the motility of bull spermatozoa. *Nature*, London, 219:1263-4, 1968.
- KIRTON, K.T.; HAFS, H.D. & HUNTE, R.A.G. Levels of some normal constituents of bull semen during repetitive ejaculation. *J. Reprod. fertil.*, Oxford, 8:157-64, 1964.
- KODAGALE, S.B. Observations on the semen characteristics and reaction time of KHILLAR BREED of cattle. *Indian J. Vet. Sci.*, New Dehli, India, 33(1):26-8, 1961.
- LINFORD, E.; GLOVER, F.A.; BISHOP, C. & STEWART, D.L. The relationship between semen evaluation methods and fertility in the bull. *J. Reprod. Fertil.*, Oxford, 47:283-91, 1976.
- MANN, T. Fructose content and fructolysis in semen. Practical application in the evaluation of semen quality. *J. Agric. Sci.*, New York, NY, 38:323-31, 1948.
- MORELLI, R.H.; MALHEIROS, E.B. & PINHEIRO, E.L. Avaliação físico-morfológica dos espermatozoides de bovinos normais e de portadores da translocação Robertsoniana 1/29. *Ars.Vet.*, Jaboticabal, SP, 1(1):103-10, 1985.
- ORESNIK, A.; GRABLJEVEL, A. & BERGANT, J. The volume and quality of semen collected from young Brown and Black-Pied bulls in Slovenia. *Zbornik Biotehniske, Fakultete Univerze V Ljubnani*, 32:59-76, 1978.
- RAO, R.M. & RAO, A.R. Studies on semen characteristics of Tharparkar and Jersey bulls. *Indian Vet.*, 52(12):889-900, 1975.
- RAO, T.L.N. & RAO, A.R. Studies on semen characteristics of Ongole bulls. *Indian Vet. J.*, Madras, India, 57(4):316-21, 1980.
- SAFFRAN, M. & DENSTEDT, O.F.A. Rapid method for the determination of citric acid. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, MD. 175(2):849-55, 1948.
- SINGH, S.K.; SAVENA, V.B. & TRIPATHI, S.S. Note on the biochemical attributes of semen of cross-bred bulls. *Indian J. of Anim. Sci.*, New Delhi, India, 52(1):47-50, 1982.
- SZUMOWSKI, P. Proteins constituentes and enzymes of the seminal plasma. In: MANN, T. *The biochemistry of semen and the male reproductive tract*. London, Mathuen. 1966. p.161-70.
- URIEL, J. Interaction entre des protéines sériques et des cations métalliques. *Biol. Med.*, Paris, 50:27-30, 1961.
- YURDAYDIN, N. & SEVIC, A. Semen characters of bulls. *Lalahan Zootečni, Arastirma Enstitüsü Dergisi*, 25(1-4):30-41, 1985.