

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS – CCAA
CURSO: ZOOTECNIA
PROJETO DE MONOGRAFIA DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO
ANDROLÓGICA DE BOVINOS NO PERÍODO
PERIPUBERAL

Aluno: Joaquim Henrique Lima Cunha
Orientador: Prof. Dr. José de Ribamar de Souza Torres Júnior

CHAPADINHA-MA

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS – CCAA
CURSO: ZOOTECNIA
MONOGRAFIA DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO
ANDROLÓGICA DE BOVINOS NO PERÍODO
PERIPUBERAL

Trabalho apresentado ao Curso de Zootecnia da
Universidade Federal do Maranhão para a
obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Aluno: Joaquim Henrique Lima Cunha

Orientador: Prof. Dr. José de Ribamar De Souza Torres Júnior

Co-Orientadora: M.Sc. Itamara Gomes França

CHAPADINHA – MA

2017

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

LIMA CUNHA, JOAQUIM HENRIQUE.

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE BOVINOS
NO PERÍODO PERIPUBERAL / JOAQUIM HENRIQUE LIMA CUNHA. -
2017.

58 p.

Coorientador(a): ITAMARA GOMES FRANÇA.

Orientador(a): JOSÉ RIBAMAR DE SOUZA TORRES JÚNIOR.

Monografia (Graduação) - Curso de Zootecnia,
Universidade Federal do Maranhão, CHAPADINHA, 2017.

1. BOVINOS. 2. SÊMEN. 3. TESTÍCULOS. 4.
ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER. I. DE SOUZA TORRES JÚNIOR, JOSÉ
RIBAMAR. II. GOMES FRANÇA, ITAMARA. III. Título.

JOAQUIM HENRIQUE LIMA CUNHA

**DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE BOVINOS NO
PERÍODO PERIPUBERAL**

Trabalho apresentado ao Curso de Zootecnia da
Universidade Federal do Maranhão como requisito
indispensável para obtenção do título de Bacharel em
Zootecnia.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alécio Matos Pereira
Curso de Zootecnia – CCAA/UFMA

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Curso de Zootecnia – CCAA/UFMA

Prof. Dr. José Ribamar de Souza Torres Júnior
Curso de Zootecnia – CCAA/UFMA
Orientador

CHAPADINHA-MA

2017

Dedico esse trabalho a toda a minha família:

*Minha mãe, **Sergiana Lopes de Lima**, meu pai **Antonio Joaquim da Cunha** e minhas irmãs **Amanda Cunha** e **Thayara Kelly**, minha namorada **Natielle Freitas** e meus avós **Raimundo** e **Raimunda** por tudo que representa para mim, por todo afeto, amor, carinho, ensinamentos se tornando grande parte dessa obra...*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me permitir a conquista desse sonho, uma etapa da minha vida, e a todos que me ajudaram nessa trajetória, por isso dedico a todos vocês esse momento...

*Ao meu orientador **José Ribamar de Souza Torres Júnior**, cuja orientação foi fundamental para realização deste trabalho, pelos ensinamentos, confiança, dedicação e contribuição no meu processo de graduação...*

*A minha **Co-Orientadora** e amiga **Itamara Gomes França**, pela amizade e total contribuição no desenvolvimento deste trabalho, por sempre estar disposta a compartilhar seus conhecimentos e ajudar-me sempre que precisei;*

*Aos colegas do grupo LAPIVE que me ajudaram na realização e desenvolvimento deste trabalho em outras demais atividades **Itamara, Hélyda, Diego, Joaquim de Sousa, Bento Douglas e Laryssa** onde me ajudaram sem medir esforços, mostrando o verdadeiro valor de companheiro é companheiro ...*

Ao proprietário da fazenda e os animais, pois sem eles seria impossível a realização deste trabalho.

*Aos amigos adquiridos durante essa longa jornada, pela amizade construída aos meus amigos **Mateus (Tripa)**, aos integrantes da Covardinase exclusivamente os da família **Nael** como **Sathanael, Verdenael, Cristianael, Leonael, Neguinael** e o mais ilustre formador de opiniões **Pedro Antônio**, sem esquecer da mestre das mestres **Alynne** exemplo de determinação e FOCO...*

*E ao grupo mais açoitado de todos **Os Rasssgaaaaados**, **Itamara, Hélyda, Diego, Larissa, Dr. Cícero, Joaquim não gente e Neguinho.***

Obrigado a todos!

*O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou,
mais sim pelas dificuldades que superou no caminho...*

RESUMO

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE BOVINOS NO PERÍODO PERIPUBERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros testiculares por ultrassonografia Doppler e exame andrológico em touros jovens em diferentes faixas etárias (<18 e >24 meses de idade). A ultrassonografia Doppler foi realizada para estudar o fluxo sanguíneo testicular. Foram também avaliadas as características físicas e morfológicas do sêmen. Os touros de <18 meses apresentaram menor peso corporal e menor perímetro escrotal quando comparado com animais >24 meses. Não houve efeito da idade em relação ao escore da condição corporal nem na resposta ao estímulo da eletroejaculação. O percentual de animais púberes foi maior na categoria >24 meses de idade. Em animais púberes, o percentual de espermatozoides normais não diferiu significativamente. A avaliação Doppler dos vasos sanguíneos do plexo testicular e do parênquima não mostrou diferenças significativas na fluxometria. Com isso a faixa etária determina evolução nos parâmetros biométricos testiculares e no alcance da puberdade, sem, contudo, influenciar as características dopplerfluxométricas testiculares.

Palavras-chave: bovinos, ultrassonografia Doppler, testículos, sêmen.

ABSTRACT

DOPPLERFLUXOMETRY IN THE ANDROLOGICAL EVALUATION OF BOVINE ANIMALS IN THE PERIPHERAL PERIOD

The aim of this study was to evaluate the testicular Doppler and sperm traits in young bulls at different age groups (<18 and >24 months of age). Doppler ultrasonography was performed to study testicular blood flow. It was conducted breeding soundness evaluation and physical and morphological characteristics of semen were evaluated. The <18 months old bulls showed lower body weight and lower scrotal circumference. There was no effect of age on body condition score nor on the response to electroejaculation stimulus. The percentage of pubertal animals was higher in >24 months old animals. In pubertal animals, the percentage of normal sperm cells did not differ significantly. The Doppler evaluation of testicular plexus and parenchyma blood vessels showed no significant differences in velocimetry nor flowmetry. It was concluded that there is no significant relationship between scrotal circumference, sperm characteristics and testicular Doppler data in normal bulls during the peripubertal period.

Keywords: bulls, doppler ultrasonography, testicles, sêmen.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	Aparelho reprodutivo do macho bovino	16
3.2	Desenvolvimento testicular bovino	17
3.3	Avaliação andrológica de bovinos	18
3.3.1	Avaliação Clínica	19
3.3.2	Biometria Testicular	20
3.3.3	Métodos de coleta de sêmen	21
3.3.4	Espermograma	21
4.	Princípios da ultrassonografia	23
4.1	Modo Bidimensional (Modo B)	24
4.2	Color Doppler	24
4.3	Doppler espectral	25
5.	Ultrassonografia e caracterização do fluxo sanguíneo escrotal	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	45

LISTA DE TABELAS

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE BOVINOS NO PERÍODO PERIPUBERAL

Tabela 1. Médias e erros-padrão (média \pm EPM) do peso e escore de condição corporal (ECC) de machos bovinos em diferentes faixas etárias 37

Tabela 2. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) do perímetro escrotal e características seminais de machos bovinos em diferentes faixas etárias 39

Tabela 3. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) das características físicas do ejaculado de bovinos Nelore em diferentes faixas etárias 40

Tabela 4. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) Características hemodinâmicas do plexo pampiniforme e parênquima testicular de bovinos Nelore (*Bos indicus*) em diferentes faixas etárias 42

LISTA DE FIGURAS

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE BOVINOS NO PERÍODO PERIPUBERAL

- Figura 1. Ultrassonografia Doppler da artéria testicular no plexo pampiniforme de bovinos para obtenção do índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR), velocidade de pulso sistólico (VPS) e velocidade diastólica final (VDF) no modo espectral 30
- Figura 2. Fluxo sanguíneo do plexo pampiniforme por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet, Mindray). A. Escore 1. B. Escore 2. C. Escore 3. D. Escore 4. E. Escore 5 32
- Figura 3. Fluxo sanguíneo do parênquima testicular por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet, Mindray). A. Escore 1. B. Escore 2. C. Escore 3. D. Escore 4..... 33
- Figura 4. Ultrassonografia Doppler colorido em tempo real do plexo pampiniforme (A) e parênquima testicular (C) e as mesmas imagens tratadas, através do programa Adobe Photoshop (B e D) 34
- Figura 5. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) das características morfológicas de bovinos Nelore em diferentes faixas etárias 41
- Figura 6. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) dos índices Dopplervelocimétricos do plexo pampiniforme de bovinos Nelore (*Bos indicus*) em diferentes faixas etárias 43

1 INTRODUÇÃO

O exame andrológico auxiliado pelo o ultrassonográfico testicular tem se tornado um método rápido e não invasivo, que por meio dos dados obtidos pode-se realizar um diagnóstico precoce de desordens presentes nos órgãos reprodutivos, podendo avaliar a anatomia e alterações andrológicas ainda assintomáticas aos exames convencionais (JUCÁ et al., 2009). O conhecimento da fisiologia testicular e espermatogênese são fundamentais para identificação de causas de infertilidade e subfertilidade e a compreensão deste processo definindo a capacidade de produção espermática tanto em humanos (MACKAY, 2000; SHARPE et al., 2003).

Resultados obtidos pelo exame clínico, aliados a análise do sêmen podem ser insuficientes para uma avaliação de um animal com queda de fertilidade, sendo necessária a visualização por meio da ultrassonografia sobre possíveis alterações patológicas como também na escolha de um tratamento efetivo de possíveis anomalias (CARDILLI et al., 2010).

Na fase puberal o potencial reprodutivo do touro se faz presente, pois nesse período ocorrem a mudanças nos aspectos qualitativos e quantitativos de produção espermática, com o aumento do volume seminal, motilidade, vigor, concentração total e diminuição das patologias espermáticas (FIEDS et al., 1982; FRENEAU, 1991; EVANS et al., 1995; GUIMARÃES, 1997).

O fluxo sanguíneo testicular atua no processo de termorregulação, como também no suporte hormonal, levando consigo nutrientes essenciais para o processo de espermatogênese, então qualquer redução do fluxo sanguíneo pode acarretar um dano isquêmico e conseqüentemente uma deterioração espermática (KAY et al., 1992).

O estudo da perfusão testicular através da ultrassonografia Doppler já está bem estabelecido em humanos (MIDDLETON et al., 1989; DUBINSKY et al., 1998; FORESTA et al., 1998; SCHURICH et al., 2009; TARHAN et al., 2011). Na Medicina Veterinária, o estudo das características de imagem testicular vem adquirindo importância em bovinos, equinos e pequenos ruminantes. Estudos em equinos já fazem referências à determinação do padrão do fluxo sanguíneo da artéria testicular, concluindo que o índice de

resistência é um parâmetro clínico importante na avaliação de enfermidades testiculares (POZOR e MCDONNEL, 2004).

Neste contexto, é de grande importância a utilização da ultrassonografia Doppler para visualização e conhecimento de como se apresenta a hemodinâmica normal dos vasos que irrigam os testículos para que as alterações que possam ocorrer nos vasos testiculares sejam reconhecidas precocemente, tornando-se importante a descrição do padrão vascular normal do plexo pampiniforme e parênquima mediastino testicular de bovinos e mostrando ser uma ferramenta útil, que aliando a análise das características andrológicas possam fornecer um diagnóstico preciso em tempo real sobre toda a arquitetura vascular e capacidade reprodutiva dos animais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a vascularização sanguínea testicular por dopplerfluxometria associada aos parâmetros andrológicos convencionais em bovinos no período peripuberal.

2.2 Objetivos específicos

Estudar a perfusão sanguínea e a hemodinâmica testicular por meio de ultrassonografia Doppler em bovinos de diferentes faixas etárias, no período peripuberal.

Avaliação andrológica de bovinos de diferentes faixas etárias, no período peripuberal.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aparelho reprodutor do macho bovino

O sistema reprodutor masculino bovino é formado pelos testículos, epidídimos, ductos deferentes, glândulas sexuais acessórias e o pênis, cada órgão desse sistema possui uma função específica dentro do ciclo reprodutivo dessa categoria animal (HAFEZ, 2004).

Os testículos estão localizados de forma pendular na região inguinal dentro da bolsa escrotal, onde estão suspensos por um cordão espermático e pelo músculo cremáster externo responsável pela sua regulação térmica (HAFEZ, 2004). A função dos testículos é a secreção de hormônios e por um processo contínuo denominado espermatogênese que seu início é caracterizado pela diferenciação do epitélio, formação do lúmen e aumento do diâmetro dos túbulos seminíferos (TORRES-JÚNIOR e HENRY, 2005) sendo responsável pela produção diária de espermatozoides a partir das espermatogônias que são células troncas da linhagem germinativa (SETCHELL, 1978). A função testicular está diretamente relacionada com a temperatura testicular que deve estar entre 2 a 6° C abaixo da temperatura corpórea do animal para que não afete a espermatogênese, ou seja, que a produção de testosterona e espermatozoides não seja comprometida (GABALDI et al., 2002).

Do ponto de vista morfológico e funcional, a massa testicular encontrada no interior dos testículos compõe cerca de 85% do volume testicular (WROBEL et al., 1995), sendo composto pelo parênquima que se divide em túbulos seminíferos que são um emaranhado de estruturas contendo em seu interior o epitélio germinativo e o espaço intertubular composto de tecido conjuntivo onde estão alojados os vasos sanguíneos, linfáticos, nervos e as células de Leydig que tem a função da produção de andrógenos (SETCHELL, 1978).

Dentre as funções dos testículos, que são realizadas pelo os túbulos seminíferos que é a produção de espermatozoides, e a produção de hormônios esteroides pelas células intersticiais (Leydig), que está envolvida na secreção de andrógenos, normalmente a testosterona é importante para o desenvolvimento e manutenção da espermatogênese e as características masculinas, assim como outros esteroides incluindo o estrógeno (O'DONNELL et al., 2001), possui relação direta com as células de Sertoli que atuam

coordenando as funções dos três compartimentos testiculares (túbulos seminíferos, interstícios e vasos) e sequência de eventos que constitui o ciclo espermatogênico (SHARPE et al., 1986), envolvendo tanto os mecanismos endócrinos como parácrinos, onde o endócrino envolve o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH)(KRETSER et al., 1998).

O epidídimo proporciona um ambiente especial para os espermatozoides recém-produzidos nos túbulos seminíferos. É no epidídimo que ocorre o transporte, maturação e armazenamento dos espermatozoides, proporciona um ambiente especial para que eles amadureçam e adquiram motilidade, mudanças morfológicas, metabolismo e capacidade de fertilização (MARQUES-FILHO et al., 2006). O epidídimo é um órgão alongado medialmente a porção final do testículo, dividido em três partes onde a cabeça e corpo tem a função de transporte e maturação e na cauda de armazenamento dos espermatozoides (SILVA et al., 2006), esse ciclo de maturação e transporte dura em média de 10 dias nos bovinos (MARQUES-FILHO et al., 2006).

Os espermatozoides ao saírem do epidídimo recebem o plasma seminal oriundo das glândulas sexuais acessórias que incluem a próstata, glândulas bulbouretrais, glândulas vesiculares e ampulares, juntas contribuem com a variação do ejaculado, diferença de concentração, volume e características, que atuam como veículo para condução dos espermatozoides no trato reprodutivo (SILVA et al., 2006) para que possa ter a capacidade de fertilização no trato reprodutivo da fêmea.

O pênis órgão copulador é formado por uma porção denominada corpo, músculo retrator e pela glande, onde se encontra escondido em uma invaginação da cútis do abdômen denominado prepúcio, possuindo uma flexura sigmoide que auxilia na ereção e relaxamento do pênis. É constituído por partes externas e internas contendo glândulas que atuam na lubrificação do pênis (MARQUES-FILHO et al., 2006). Este órgão entra em contato com o trato reprodutor da fêmea que através de estímulos permite a liberação dos espermatozoides dentro do trato reprodutivo da fêmea, possibilitando a capacidade de fertilização.

3.2 Desenvolvimento testicular bovino

O desenvolvimento testicular tem início por meio de um processo cíclico no qual os gonócitos que são as primeiras células germinativas a habitarem os túbulos seminíferos, multiplicando e diferenciando em espermatogônias caracterizando a espermatogênese que depende funcionalmente das células de Sertoli (MARTIN-DU PAN e CAMPANA, 1993).

O crescimento testicular tem um comportamento curvilíneo sigmoide, lento inicialmente seguindo de um pico em relação à idade, tendo um aumento gradativo até a fase pré-puberal aumentando conseqüentemente na fase puberal e na fase adulta do animal (ABDEL-RAUOF, 1960; PIMENTEL et al., 1984), caracterizando um coeficiente de correlação entre o perímetro escrotal e características de crescimento (BERGMANN et al., 1996).

Na fase puberal o potencial reprodutivo do touro se faz presente, pois nesse período ocorre a mudança nos aspectos qualitativos e quantitativos de produção espermática, aumento do volume seminal, motilidade, vigor e concentração espermática total e diminuição das patologias espermáticas (FIEDS et al., 1982; FRENEAU, 1991; EVANS et al. 1995; GUIMARÃES, 1997), porém as condições nutricionais, sanitárias, e climáticas parecem afetar a qualidade seminal dos animais tanto na puberdade como na fase pós-puberal (FONSECA et al., 1975; WILDEUS et al., 1984).

O perímetro escrotal (PE) nos bovinos pode variar entre as raças e linhagens entre uma mesma raça, em raças criadas no hemisfério norte como exemplo Aberdeen Angus, Holandês, Charolês e Santa Gertrudes, a que apresentou maior valor de PE foi a Aberdeen Angus que aos 12 meses apresentou 34,8cm e a Holandesa com menor PE com 31,7cm, porém aos 36 meses a situação se inverteu com a raça Holandesa superando as demais chegando a 39,3cm de perímetro escrotal (COULTER, 1986). Nas raças que compõem a quantidade maior de animais dentro dos rebanhos do Brasil, apresentaram medidas de perímetro escrotal em média na raça Gir 34,73cm; Nelore 35,35cm; Guzerá 37,21cm; Tabapuã 39,61cm e Indubrasil 43,58cm (PINHO, 1987).

3.3 Avaliação andrológica de bovinos

A capacidade reprodutiva do touro está diretamente relacionada com um conjunto de fatores como a idade a puberdade, qualidade do sêmen, perímetro escrotal e condição física para que ocorra o processo de monta e fertilização (FONSECA et al., 1991).

O conhecimento do potencial de fertilidade, biometria testicular e sua capacidade de serviço tem suma importância dentro da produtividade de um rebanho (MIES FILHO et al., 1980; FONSECA et al., 1997; PASTORE et al., 2005), pois o desempenho reprodutivo da fazenda está diretamente relacionada com a fertilidade do touro, pois a fertilidade do reprodutor é muito maior do que a das fêmeas, pois um touro pode acasalar com um número muito maior de fêmeas. Os principais métodos para avaliar o trato genital masculino são a palpação dos testículos, a medição do perímetro escrotal e a avaliação da qualidade do esperma (FONSECA et al., 2009).

O exame andrológico é caracterizado pela avaliação do potencial de reprodução do touro de um determinado rebanho, tendo como objetivo principal a seleção, avaliação do potencial reprodutivo, diagnóstico de fertilidade, comercialização de reprodutores e preservação *in vitro* de sêmen (FONSECA et al., 2000; FRANCO et al., 2006).

É comumente utilizado para indicar a aptidão reprodutiva de touros a serem inseridos na estação de monta ou doação de sêmen (SIQUEIRA et al., 2009). Estão relativamente baseados na ausência de enfermidades, saúde do animal, normalidade dos órgãos genitais, libido e habilidade sexual, com ótimos desempenhos quantitativos e qualitativos de produzir espermatozoides para fecundação (DIAS et al., 2007).

Para a realização do exame deve-se conhecer o histórico reprodutivo do animal, dados do rebanho, manejo dos animais da propriedade, número e frequência dos acasalamentos, situação sanitária e qualquer outro diagnóstico que se torne necessária (BARBOSA et al., 2005).

3.3.1 Avaliação Clínica

A avaliação se inicia por meio da análise clínica da condição corpórea do animal onde inclui os sistemas nervoso, respiratório, digestivo, locomotor, apêndices, articulações, casco tanto em repouso como em movimento, e o estado nutricional do animal, (UNANIAN et al., 2000). Para eficiência máxima de um reprodutor ele deve estar

fisicamente normal, principalmente em relação ao sistema locomotor tanto para caminhar em busca do alimento como para detecção de cio nas fêmeas e para efetuar a cópula (BARBOSA et al., 2005). Além da análise clínica é necessário à avaliação dos órgãos do sistema genital do animal por meio da palpação e inspeção da parte externa, e da parte interna por meio da palpação retal (BARBOSA et al., 2005).

3.3.2 Biometria Testicular

O perímetro escrotal tem sido utilizado para indicar o potencial de produção espermática no processo de seleção, por ser de fácil mensuração e ter correlação direta com o parâmetro reprodutivo (GALVANE et al., 2000). O PE varia de acordo com a raça, idade e estado nutricional do animal (GUIMARÃES et al. 1993), porém, com o passar da idade outros fatores podem atuar como degeneração testicular e fibrose, diminuindo a correlação do PE e potencial de produção espermática (GALVANE et al., 2000). Para a aferição do PE que pode ser feita por uma fita métrica ou com um auxílio de um paquímetro, descontando a calda do epidídimo, e largura dos testículos tanto direito como o esquerdo, onde o tamanho pode ser afetado pela idade, raça, peso corporal, anormalidades de desenvolvimento adquiridos ou congênitos (CBRA, 1998).

A avaliação da consistência dos testículos possui uma variação de flácida até firme (CBRA, 1998), existindo uma pontuação de acordo com Viu et al. (2006) com a numeração de 1-5 onde: 1- muito mole, 2- mole, 3- moderado, 4- firme, 5- muito firme sendo a mais desejada a característica moderada e firme na avaliação sendo bastante eficiente quando avaliada por um profissional experiente. Outro fator a ser considerado é a posição dos testículos paralelos um ao outro em igual no plano basal, ou seja, a cauda dos epidídimos deve se situar na mesma altura, podendo ocorrer alterações nos casos de encurtamento de um ou dos dois (CBRA, 1998).

A mobilidade e sensibilidade dos testículos entre as camadas escrotais devem deslizar com naturalidade, sendo moveis em todas as direções dentro dos limites fisiológicos diferenciando de uma sensibilidade dolorosa da simples reação do animal (CBRA, 1998).

3.3.3 Coleta de sêmen

Inicialmente que o exame seja realizado é imprescindível que prepúcio seja higienizado para que não ocorra qualquer contaminação do ejaculado, podendo ser feito com água e sabão na parte externa e solução fisiológica na parte interna. Em bovinos o método mais utilizado é por meio do eletroejaculador onde o animal é contido em um tronco de contenção para melhor eficiência da atividade como evitando riscos de acidentes. Após a higienização do prepúcio e do reto do animal a probe é introduzida com os eletrodos na posição ventral. Os choques promovidos pela probe devem ser administrados de maneira pulsátil provocando os estímulos, os primeiros gotejamentos devem ser descartados então a partir do momento que a cor do sêmen se mostra mais opacos isso varia de acordo com a espécie e idade do animal este líquido deve ser coletado (REICHENBACH et al., 2008).

3.3.4 Espermograma

As características do ejaculado são avaliadas de acordo com a cor e aparência, que dependem principalmente da concentração de espermatozoides, presença de anomalias como sangue, pus, células epiteliais, urina e outros contaminantes (CBRA, 1998). Os parâmetros físicos em relação ao volume não tem um valor biológico específico podendo variar individualmente por animal variando de acordo com o método de coleta, regime prévio, tempo de excitação. O aspecto pode variar de cremoso, leitoso, opaco e até aquoso e a coloração varia de esbranquiçada, branca, marfim ou amarelada.

O turbilhonamento revela outra qualidade física do sêmen, que varia numa escala de zero a cinco, onde uma gota de sêmen recém-colhido é colocada em uma lamina previamente aquecida e visualizada em um microscópio com lente de 100x sendo necessário um profissional treinado e experiente para esta avaliação, sendo desejado um turbilhão com pontuação de 3 ou mais (CBRA, 1998).

O sêmen de qualidade tem que apresentar dois atributos importantes, uma boa motilidade e baixa taxa de anormalidade dos espermatozoides que normalmente é de natureza genética passando transmitindo a seus descendentes (SANTOS et al., 2000).

A motilidade é o parâmetro de maior importância dentro da avaliação do sêmen. É desejável que os espermatozoides tenham uma motilidade retilínea ou progressiva de 50% na avaliação de campo (CBRA, 1998). Nesses aspectos o crescimento gonadal e corporal já se estabilizaram caracterizando a maturidade sexual (GARCIA et al., 1987).

O vigor mostra a intensidade de movimentação dos espermatozoides, é graduado por uma escala de 0 a 5 que é utilizada tanto para sêmen fresco e congelado, evidenciando a intensidade de deslocamento da célula no campo do microscópio (CHACUR, 1999). O valor mínimo ideal aceitável é de três de espermatozoides em movimento progressivo retilíneo (MIES-FILHO, 1975; CBRA, 1998). As alterações espermáticas estão classificadas em dois grupos, em defeitos maiores e defeitos menores (BLOM, 1972). Os defeitos maiores não podem ultrapassar 15%, pois são consequência de qualquer anormalidade relacionada a infertilidade ou condição patológica do testículo ou epidídimo que são características encontradas nos espermatozoides em subdesenvolvido, *pout formation*, forma dupla, piriforme, estreito na base, contorno anormal, estreito na base, cabeça pequena anormal, cabeça isolada anormal, defeitos de peça intermediária, gotas proximais, pseudo-gotas, cauda fortemente dobrada e enrolada (BARTH e OKO, 1989; SILVA et al., 1993).

As anomalias espermáticas menos importantes são consideradas os defeitos menores, que não estão ligadas diretamente aos processos patológicos dos testículos, dentre eles estão: cabeça delgada, pequena, larga, gigante ou curta, cabeça isolada normal, destacamento de acromossoma, abaxial, gota distal, cauda dobrada e enrolada (BLOM, 1973).

É considerável tardio os animais de origem indiana em relação a maturidade sexual, chegando em média entre 30 a 36 meses de idade (VALE-FILHO et al., 1989). A maturidade sexual do touro é alcançada quando o ejaculado em percentual de defeitos maiores não excede a 15% e defeitos espermáticos totais não excede a 30% (GARCIA et al., 1987). Outros parâmetros que caracteriza a maturidade sexual é o aumento da concentração espermática no ejaculado no ejaculado em torno de $8,0 \times 10^9$ de células por ejaculado, motilidade mínima de 60% (VALE-FILHO et al., 1993).

Desta forma, é de grande importância a realização do exame andrológico pois dependendo do sistema de acasalamento utilizado no rebanho, um único reprodutor pode

servir a um grande número de fêmeas (KASTELIC et al., 2000), passando metade do seu material genético ao futuro rebanho, aplicando um diferencial de seleção das fêmeas do rebanho.

4. Princípios da ultrassonografia

A ultrassonografia de modo geral começou a ser usada no ano de 1956 na avaliação de carcaças bovinas (TEMPLE et al., 1956), o primeiro uso em diagnósticos na medicina veterinária foi em 1966 para identificar a gestação em caprinos (LINDAHL, 1966), a partir daí passou a ser apontado como novas possibilidades de estudos de microcirculação nos órgãos e fluxo sanguíneo, utilizada na medicina veterinária para estudo e mapeamento de pequenos fluxos, tendo em vista uma avaliação em tempo real do fluxo sanguíneo de determinados órgãos e do estado fisiológico real dos animais (SÁNCHEZ e AFONSO, 2000).

A ultrassonografia Doppler é o princípio físico no qual verifica a alteração da frequência das ondas sonoras refletidas quando o objeto refletor se move em relação a uma fonte de onda sonora. Este efeito é usado durante o exame dos vasos sanguíneos, pois as hemácias em movimento dentro dos vasos ao encontrarem uma onda sonora comportam-se como corpos refletoras, registrando o movimento do sangue no sistema cardiovascular (FEIGENBAUM, 1986; VERMILLON, 1997). Portanto se o sentido do fluxo sanguíneo for contrário ao do transdutor a frequência Doppler terá valores negativos devido a frequência refletida será mais baixa do que aquela transmitida. Já se o sentido do fluxo for em direção ao transdutor a frequência Doppler terá valores positivos, assim a velocidade detectada pela ultrassom Doppler possui função inversamente proporcional a frequência emitida pelo transdutor se tornando necessário utilizar frequências mais baixas para detectar fluxo sanguíneos em alta velocidades do que as aplicadas nos modos bidimensionais (CERRI et al., 1998). Tornando de suma importância da utilização dessa técnica para obtenção de dados fidedignos de velocidade de fluxo sanguíneo (CARVALHO et al., 2008).

4.1 Modo Bidimensional (Modo B)

O modo Bidimensional (modo B) permite a avaliação de diferentes estruturas anatômicas e determinação da ecogenicidade (PECHMAN e EILTS, 1987), de modo não invasivo, inócuo e seguro tanto para o operador como para o animal (KING, 2006). Baseia-se na emissão de ondas sonoras de alta frequência, mediante a estimulação elétrica de cristais piezoelétricos presentes nas ondas sonoras ou no transdutor, as ondas sonoras são emitidas em forma longitudinal e que a se chocarem com uma interface gera um eco, refletindo ao transdutor e transmitido em forma de pontos de brilho ao monitor, a tonalidade dos pontos está relacionada com a densidade dos tecidos que atravessa com profundidade e que chega a onda sonora (WILLIAM et al., 2001), as diferenças de intensidade de brilho determina a escala de cinza e quanto maior a reflexão da onda sonora, mais intenso o brilho do ponto luminoso (CARVALHO et al., 2004).

A imagem gerada em tempo real no monitor em contínua transmissão com recepção de ondas sonoras. Estruturas que não refletem o som aparecem na tela em cor negra denominada imagem anecóicas, podendo ser usada como ponto de referência para visualização do trato reprodutor como folículos ovarianos, vesículas embrionárias e bexiga. Já tecidos mais densos possui uma maior capacidade de transmitir ecos, ou transmitir sons se mostram no monitor como cor branca caracterizando imagens hiperecóicas como temos exemplos da superfície de osso pélvicos (WILLIAM et al., 2001; MOELLER, 2002; BELLENDÁ, 2006).

Com isso se torna de grande importância do conhecimento em tempo real da anatomia dos órgãos a serem examinados e como se comportam para avaliações mais precisas e diagnósticas fidedignas sobre a atual situação dos órgãos reprodutores na parte interna e externa (CARDILLI et al., 2012).

4.2 Color Doppler

A ultrassonografia Color Doppler é um método não invasivo que permite avaliar possíveis alterações vasculares, além de informações sobre a arquitetura vascular, sua direção e velocidade do fluxo sanguíneo no interior do tecido (LAM et al., 2005). Por meio

de uma imagem em escala de cinza bidimensional (modo B), onde é possível visualizar os órgãos e o fluxo sanguíneo dentro dele em uma região específica.

Por meio dessa técnica o fluxo sanguíneo pode ser avaliado, onde as hemácias em movimento dentro dos vasos atuam como corpos refletivos permitindo o registro do movimento do sangue dentro do sistema cardiovascular, além de fornecer informações anatômicas e dinâmicas em tempo real (FEIGENBAUM, 1986; VERMILLON, 1997). A imagem gerada pelo transdutor apresenta uma barra colorida que permite a visualização da direção do fluxo, a cor vermelha demonstra que o fluxo está em sentido ao transdutor, e o que tem condição contrária ao transdutor possui cor azul, podendo ter variação de mais clara ou mais escura em ambas as cores com fluxos de maiores velocidades (TAYLOR; HOLLAND, 1990).

Por meio do Color Doppler é demonstrado o deslocamento de frequência com um espectro de uma ou duas cores dentro de uma área definida, que contém parâmetros de magnitude do deslocamento da frequência Doppler como frequência do feixe ou do transdutor (f_t), velocidade das hemácias (v), ângulo Doppler que é formado pela interseção do eixo correspondente a direção do fluxo sanguíneo dentro do vaso, sendo capaz de estabelecer a velocidade da corrente sanguínea (CARVALHO et al., 2008).

4.3 Doppler espectral

O transdutor do Doppler espectral ou pulsado possui um cristal piezoelétrico que transmite ondas curtas de ultrassom em intervalos regulares e recebe o sinal refletido no resto de todo tempo, comparado com aquele transmitido. Nesse modo é possível a onda pulsátil permite ao Doppler medir uma região específica dentro de um campo de imagem, permitindo assim a medida de velocidade dentro dos vasos selecionados, além de informações qualitativas de permite identificar a presença ou ausência de fluxo, direção, sentido e morfologia das ondas espectrais (CARVALHO et al., 2008).

As frequências são extraídas a partir do sinal complexo detectado e são avaliados por analisadores de frequência que são circuitos eletrônicos capazes de separar diversas frequências no volume de amostragem e apresentá-las em forma de gráfico (MCDICKEN e HOSKINS, 1994), levando em conta o número de ondas apresentadas numa mesma

frequência (KAWAKAMA et al., 1993). O volume a ser avaliado é representado por um cursor retangular móvel que pode ser ajustado pelo operador captando os ecos originais do sangue em movimento que irão atingir o transdutor (CARVALHO et al., 2008).

Nesse modo tem a possibilidade de aferir os parâmetros dopplervelocimétricos para avaliação da perfusão sanguínea nos testículos onde podemos observar diversas variáveis como: velocidade do pico sistólico, velocidade diastólica final e os índices de resistência e pulsatilidade, que são automaticamente calculados pelo Doppler (WOOD et al., 2010). A velocidade do pulso sistólico e diastólico final representa a velocidade do sangue no pico da sístole cardíaca representado pelo ponto máximo no gráfico espectral e a velocidade sanguínea no final da diástole cardíaca é representada no gráfico espectral pelo ponto final do ciclo cardíaco (COELHO et al., 2008). O índice de pulsatilidade (IP) quantifica a pulsatilidade da onda, o índice de resistência (IR) indica a resistência do fluxo sanguíneo causada pelo leito microvascular distal ao local da medição (SCHURICH et al., 2009). No momento da avaliação da região específica selecionada no campo de imagem os sinais resultantes apresentam-se de forma audível cuja intensidade do som é diretamente proporcional à velocidade do fluxo gerando o gráfico. O som arterial tem características ou semelhança a um assovio, e o venoso a um sopro (CERRI e ROCHA, 1993). A altura do som é diretamente proporcional à quantidade de células sanguíneas em movimento e a velocidade do fluxo (SZATMARI et al., 2001).

O IR reflete a resistência vascular, sendo alto na vasoconstrição e baixo no vaso dilatação (DI SALVO et al., 2006). A perfusão normal dos tecidos tem relação direta com o IR, onde quaisquer alterações tissulares nos testículos acarretam na elevação dos valores em casos de contagem anormal dos espermatozoides (SCHURICH et al., 2009), como também a velocidade do pico sistólico para estimativa de taxa de produção espermática mostrando outra importância do IR (BIAGIOTTI et al., 2002).

O Doppler espectral é usado com a combinação com o ultrassom em modo bidimensional (modo B), formando um sistema duplo propiciando uma imagem em tempo real e localização do vaso alvo disposto na tela em modo B (SIGEL, 1998; CARVALHO et al., 2008; MCDICKEN e HOSKING, 2014).

5. Ultrassonografia e caracterização do fluxo sanguíneo testicular

Avaliações de rotina para um sucesso reprodutivo é frequentemente utilizada na rotina da Medicina Veterinária. O exame andrológico que inclui um exame clínico geral do animal, inspeção e palpação da genitália externa, coleta e análise do sêmen podem ser auxiliados pelo exame ultrassonográfico dos testículos e glândulas anexas (GRADIL, YEAGER e CONCANNON, 2006).

As técnicas ultrassonográficas para avaliação da genitália interna e da região escrotal vêm sendo aprimorada para estudos clínicos, por a ultrassonografia ser uma ferramenta muito precisa na obtenção de imagens do parênquima testicular, túnica vaginal, cordão espermático e epidídimo (POZOR, 2005).

O Doppler colorido, Power Doppler e o Doppler espectral permitem a avaliação da perfusão testicular onde a avaliação do fluxo sanguíneo é importante nesse processo, podendo detectar de forma consistente, a presença de uma artéria localizada dorsalmente entre os testículos e epidídimo (NYLAND e MATTON, 2002), avaliar enfermidades (GUNZEL-APEL et al., 2001) e o fluxo sanguíneo suficiente para o processo de espermatogênese (ZELLI et al., 2013).

Por apresentar ondas de baixa resistividade, baixa pulsatilidade e resistência, as artérias testiculares são caracterizadas por fluxos com picos sistólicos amplos e contínuos com alta velocidade de fluxo na diástole, mostrando sua demanda continua de sangue para sua atividade (CARVALHO et al., 2008). Essas ondas possuem um caráter monofásico com medições do fluxo na área marginal da artéria testicular mais facilmente do que no plexo pampiniforme (GUNZEL-APEL et al., 2001). Porém a ultrassonografia Doppler tem limitações sobre a descrição do curso das artérias do plexo pampiniforme e dos padrões gerais do fluxo sanguíneo, podendo ser facilmente detectado no cordão espermático, mais não visualizado na região próximo ao epidídimo.

Em humanos a ultrassonografia é utilizada para determinação de fertilidade (PINGGERA et al., 2008; SCHURICH et al., 2009). Foresta (1998) utilizou a ultrassonografia Doppler para diferenciar a ozoospermias obstrutivas e não obstrutivas em

homens. Utilizado nas avaliações que acometem os testículos como mudanças tanto na perfusão sanguínea quanto nos valores dopplervelocimétricos sendo observado tanto em homens (SCHURISCH et al., 2009) como também em cães (BUMIN et al., 2007).

Em garanhões a ultrassonografia é utilizada para mensuração do fluxo sanguíneo da artéria testicular (POZOR e MCDONNEL, 2004), que assim como nos cães a artéria testicular foi bem mais visualizada no cordão espermático.

A imagem ultrassonográfica em modo B tem sido utilizada em gatos que possui testículos localizados ventralmente ao ânus, e dorsalmente ao prepúcio, onde permite a obtenção da morfologia normal do órgão, com o fornecimento de medidas exatas de volume e detecção de mudanças nos testículos que possa gerar casos de infertilidade nos animais (DAVIDSON e BAKER, 2009).

Em bovinos já se tem buscado imagens sobre o padrão ultrassonográfico normal se tornando importante clinicamente para identificação de tais desordens se aliando ao exame clínico geral e andrológico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Buritirana, propriedade localizada no município de Tuntum, Maranhão, Brasil, a 5° 19' latitude Sul e 44° 38' longitude Oeste, a 111m de altitude em relação ao nível do mar. Foram utilizados 30 (trinta) bovinos machos da raça Nelore (*Bos indicus*), com idade entre 12 e 36 meses.

Os animais foram selecionados por faixa etária, em dois grupos: **Grupo < 18:** abaixo de 18 meses; **Grupo >24:** acima de 24 meses. Os animais foram mantidos em sistema extensivo durante todo período experimental, em pastagem de gramínea *Panicum maximum* cv. *Mombaça* com água e sal mineral *ad libitum*. Os animais não possuíam nenhum contato prévio com fêmeas, desta forma, não foi necessário descanso sexual para renovação das reservas espermáticas.

Para caracterizar o fluxo sanguíneo testicular foram realizados exames ultrassonográficos nos modos Bidimensional (Modo B) e Doppler, com auxílio de um aparelho de ultrassom equipado com um transdutor linear de 6 MHz (Mindray, Modelo Z5Vet, Digital Ultrasonic Diagnostic Imaging System).

Para obtenção de imagens de melhor qualidade, sem potenciais interferências, foi utilizado gel ultrassônico de contato entre o transdutor e a superfície da pele. O transdutor foi posicionado no saco escrotal, em sentido longitudinal, diretamente sobre pele da região central de ambos os cordões espermáticos para visualização dos plexos pampiniformes e também sobre a pele da região central dos testículos para visualização do parênquima testicular.

Inicialmente o ultrassom foi ajustado em modo bidimensional (modo-B; escala de cinza), para localização dos vasos sanguíneos. Em seguida, foi acionado o modo Color Doppler para determinar a perfusão sanguínea, na qual a direção do fluxo sanguíneo é indicada pelos sinais nas cores vermelha ou azul (GINTHER, 2007). Objetivando análises posteriores, foi gravada a imagem que evidenciou maior área de perfusão sanguínea e com melhor qualidade do fluxo sanguíneo. Para isso, o fluxo sanguíneo foi continuamente monitorado por um minuto e, por meio do recurso “cineloop” foi escolhida melhor imagem para posteriores análises.

O modo Doppler espectral foi utilizado para monitorar os valores dopplervelocimétricos da artéria testicular no plexo pampiniforme, obtendo-se uma sequência de gráficos espectrais com ciclos distintos e simétricos da sístole e diástole cardíaca. Um ciclo cardíaco foi selecionado para medir o índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP), velocidade do pulso sistólico (VPS) e a velocidade diastólica final (VDF). Todos os scanners nos modos Doppler colorido e espectral foram realizados em uma configuração constante de ciclo cardíaco, ganho, configurações de filtro e definição do intervalo de velocidade (Figura 1).

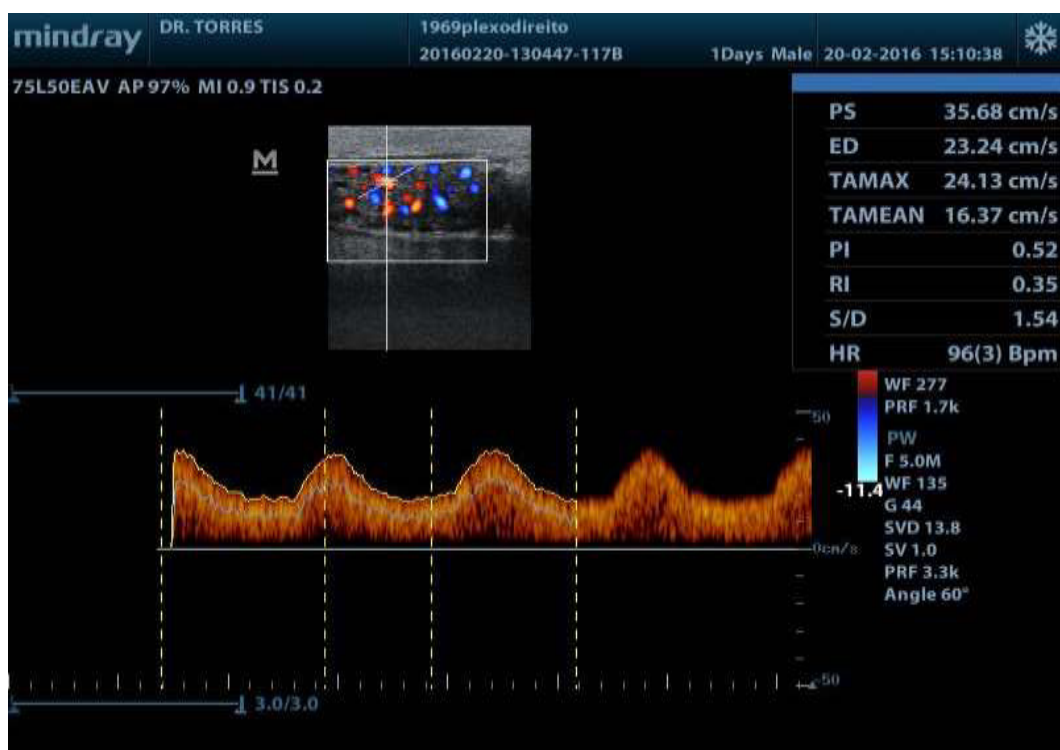


Figura 1. Ultrassonografia Doppler da artéria testicular no plexo pampiniforme de bovinos para obtenção do índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR), velocidade de pulso sistólico (VPS) e velocidade diastólica final (VDF) no modo espectral

A perfusão vascular foi avaliada subjetivamente por cinco avaliadores, por meio das imagens da maior extensão da perfusão sanguínea do plexo pampiniforme e do parênquima testicular, capturadas no modo Doppler colorido. As pontuações máximas e mínimas foram descartadas e as pontuações medianas utilizadas.

As avaliações foram classificadas em escores de 1 a 5 para o plexo pampiniforme, variando de vascularização extremamente baixa (escore 1) a extremamente alta (escore 5) (Quadro 1; Figura 2) (BATISSACO et al., 2013). Para o parênquima testicular a pontuação variou de 0 a 4, indicando vascularização aparentemente nula, baixa, intermediária, alta, muito alta, respectivamente (Quadro 2; Figura 3) (SILVA et al., 2005).

Quadro 1. Classificação dos escores utilizados para a avaliação da imagem obtida por ultrassonografia Doppler colorido do plexo pampiniforme de bovinos

Escore	Percentual de área colorida	Visualização
1	0%-20%	Vascularização extremamente pequena
2	21%-40%	Pequena vascularização
3	41%-60%	Media vascularização
4	61%-80%	Grande vascularização
5	81%-100%	Vascularização extremamente alta

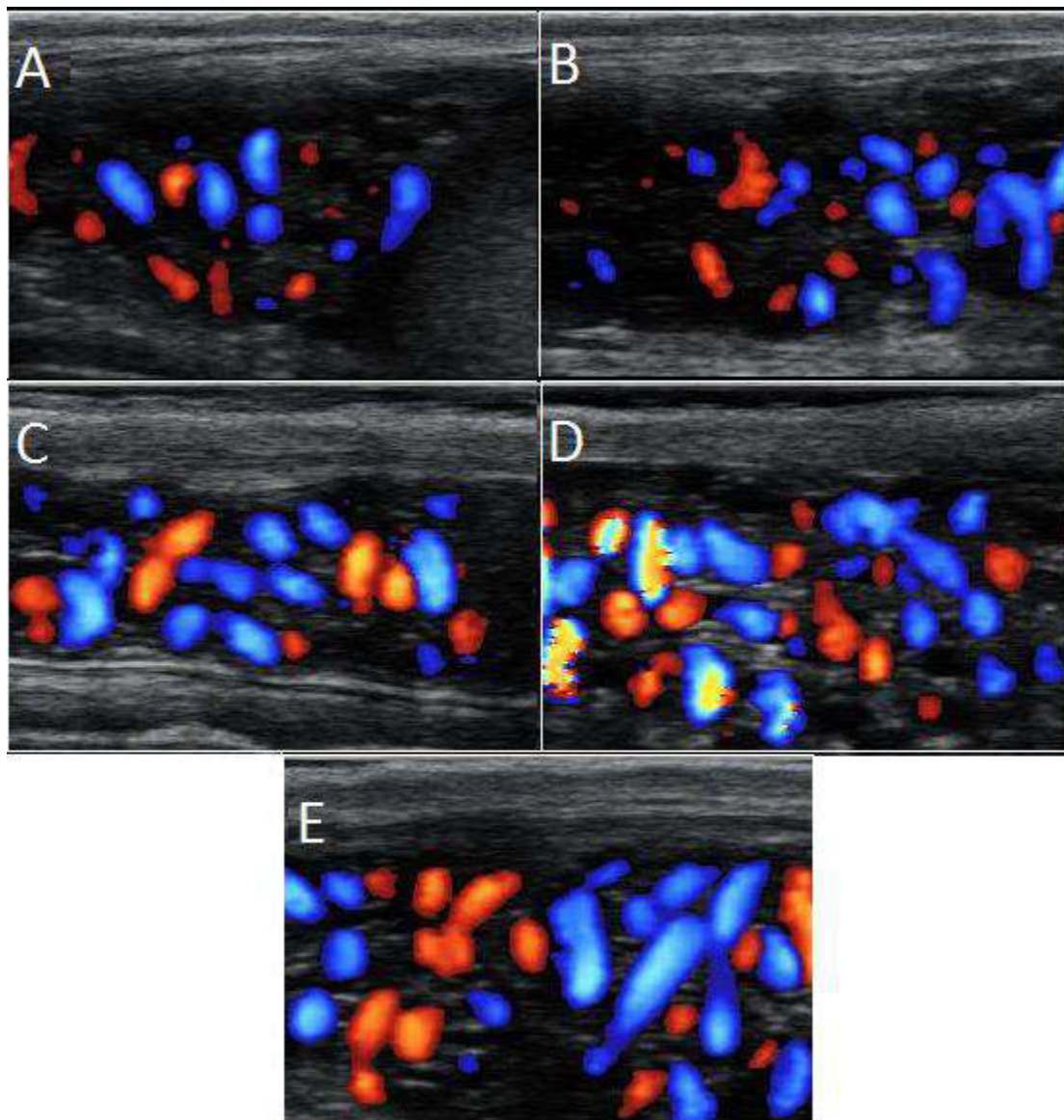


Figura 2. Fluxo sanguíneo do plexo pampiniforme por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet, Mindray). A. Escore 1. B. Escore 2. C. Escore 3. D. Escore 4. E. Escore 5

Quadro 2. Classificação dos escores utilizados para a avaliação da imagem obtida por ultrassonografia Doppler colorido do parênquima testicular de bovinos

Escore	Percentual de área colorida	Visualização
0	0% a 20%	Vascularização aparentemente nula
1	21% a 40%	Vascularização baixa
2	41% a 60%	Vascularização intermediária
3	61% a 80%	Vascularização alta
4	81% a 100%	Vascularização muito alta

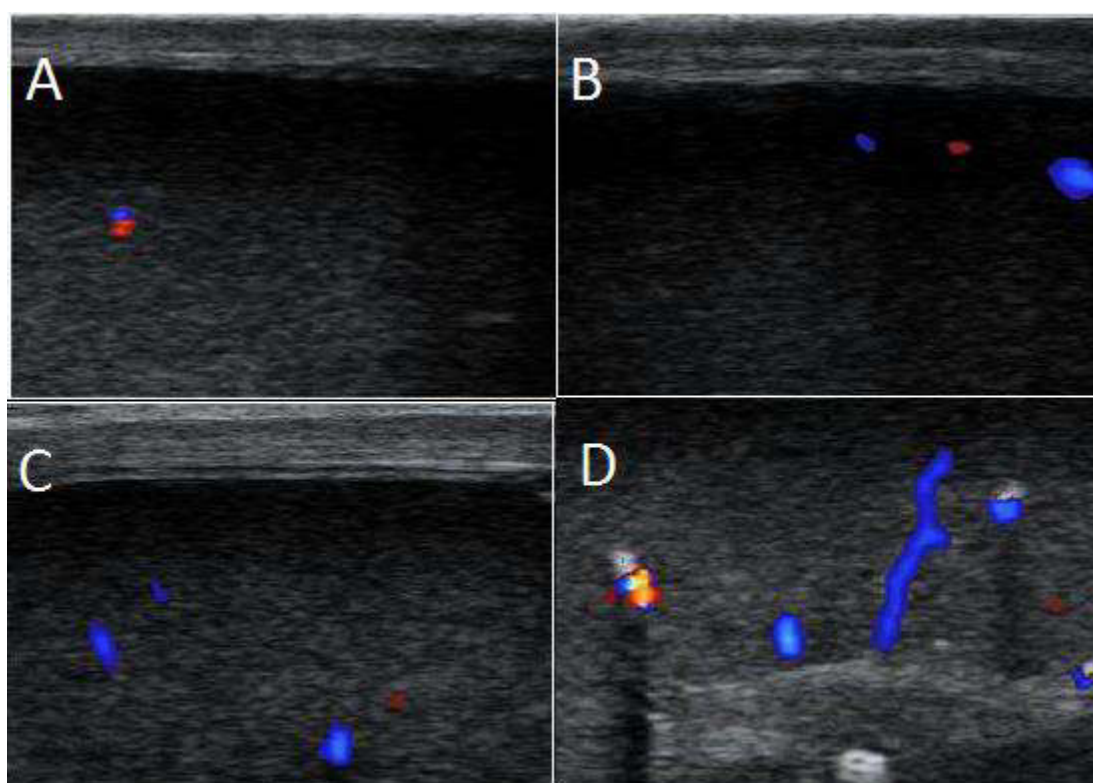


Figura 3. Fluxo sanguíneo do parênquima testicular por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet, Mindray). A. Escore 1. B. Escore 2. C. Escore 3. D. Escore 4

Também foi realizada avaliação objetiva da intensidade de pixels coloridos nas imagens, como descrito por Silva et al., 2005 e Ginther, 2007 e 2009. A medição da quantidade de pixels coloridos das imagens foi realizada com o auxílio do Adobe Photoshop CS5, que forneceu, em escala de pixels, a extensão da vascularização do plexo pampiniforme e do parênquima testicular (SILVA; GINTHER, 2010) (Figura 4).

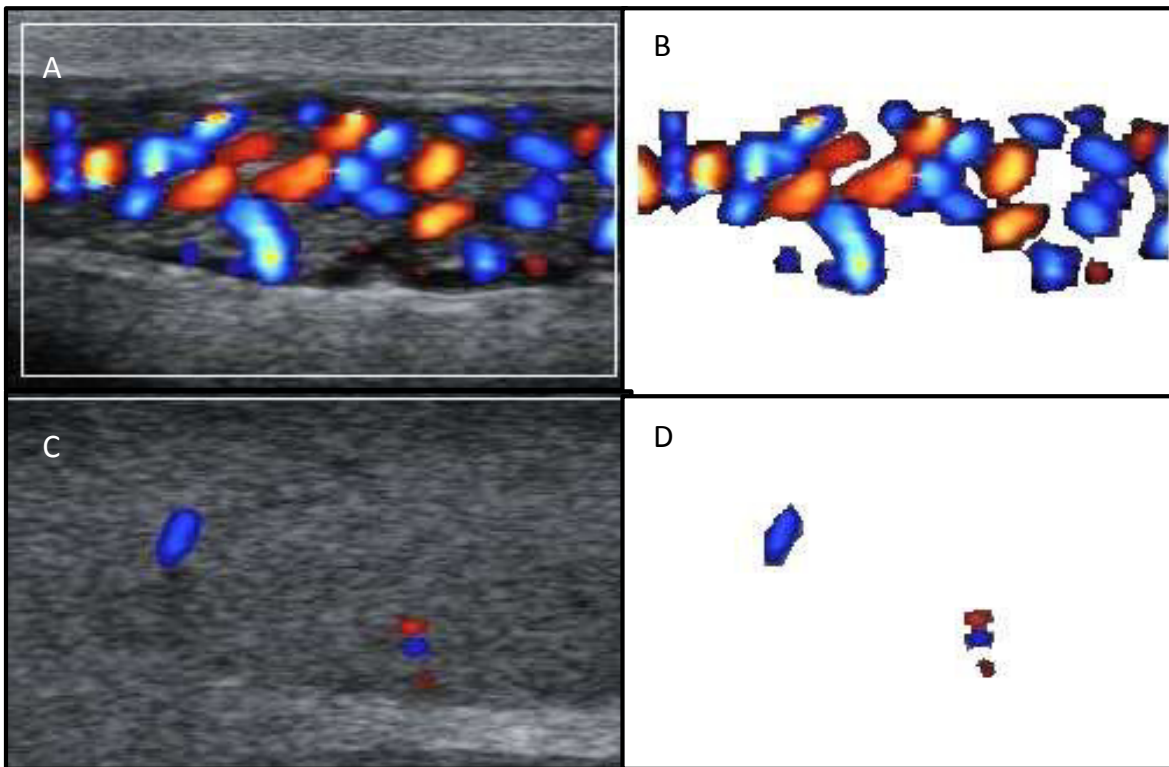


Figura 4. Ultrassonografia Doppler colorido em tempo real do plexo pampiniforme (A) e parênquima testicular (C) e as mesmas imagens tratadas, através do programa Adobe Photoshop (B e D)

Logo após as avaliações ultrassonográficas, os animais foram submetidos a exame andrológico, iniciado com o exame clínico geral, identificação do escore de condição corporal (MACHADO et al., 2008) seguido da inspeção do prepúcio, escroto, pênis, testículos, epidídimo, simetria, consistência e mobilidade testicular. A palpação dos testículos e epidídimos foi realizada individualmente, levando em consideração a consistência testicular e a mobilidade dos testículos dentro do escroto.

O perímetro escrotal foi aferido por meio de uma fita métrica flexível, na posição mediana do escroto, no ponto de maior dimensão horizontal, envolvendo as duas gônadas e a pele escrotal. Empregando-se paquímetro, foi medido o comprimento testicular (COMP), medida tomada no sentido dorsoventral de cada testículo, excluindo a cauda do epidídimo. O diâmetro testicular ou espessura dos testículos (DIÂM) foi aferido mensurando-se a maior distância no sentido craniocaudal de cada testículo. Os valores finais de comprimento e diâmetro testiculares expressam a média dos dois testículos (CBRA, 1998).

O sêmen foi coletado pelo método de eletroejaculação, realizado após a devida contenção do animal. Em seguida foi avaliado por microscopia de luz convencional, quanto às características físicas (volume, concentração espermática, motilidade progressiva, vigor e turbilhonamento) e morfológicas (defeitos maiores, menores e totais de defeitos espermáticos). A avaliação das características físicas foi realizada pela deposição de uma gotícula de sêmen entre lâmina e lamínula previamente aquecidas a 37°C e levadas à microscopia de luz com aumento de 100x. A motilidade foi expressa como percentual de espermatozoides móveis e, a vigor, representando a força do movimento e a velocidade dos espermatozoides (CBRA, 1998)

As avaliações microscópicas de turbilhonamento, motilidade progressiva e vigor das células espermáticas, por ser um exame subjetivo, foi realizada sempre pelo o mesmo examinador. Para análise de turbilhonamento, seguindo a escala de classificação de 1 a 5, retirou-se uma alíquota de 10 µL do sêmen, a qual foi colocada sobre a lâmina, e avaliada em aumento de 100x.

A motilidade espermática progressiva foi descrita em percentual (0 a 100%), seguida da avaliação do vigor espermático, em uma escala variando de 0 (ausente) a 5 (máximo), no aumento de 100x a 400x.

Para o cálculo da concentração espermática o sêmen foi diluído em solução de formol-salino na proporção de 1:200, a amostra homogeneizada e as células espermáticas contadas em câmara de Neubauer em aumento de 400x (CBRA, 1998).

A análise morfológica dos espermatozoides foi realizada após coloração simples direta com rosa bengala. Foram contadas 200 células espermáticas, entre lâmina e lamínula, utilizando óleo de imersão em lente de aumento de 100x, sobre microscopia de luz convencional. Foram registradas anormalidades de acrossoma, cabeça, peça intermediária e peça principal, como recomendado pelo COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA, 1998). Os defeitos foram classificados em maiores e menores seguindo a classificação proposta por Blom (1973).

A análise dos dados foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows SAS® (SAS, 2001). Através do aplicativo PROC UNIVARIATE, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e à homogeneidade das variâncias pelo teste de Shapiro-Wilk. As variáveis dependentes de distribuição normal (paramétricas)

foram expressas em média e erro padrão da média (média \pm EPM), analisadas por ANOVA e comparadas pelo teste *t* de Student (PROC GLM) e as de distribuição não-normal (não-paramétricas) pelo teste de Wilcoxon (PROC NPAR1WAY WILCOXON). As variáveis classificatórias consideradas no modelo estatístico para verificação dos efeitos foram: faixa etária e animal.

O nível de significância para rejeitar H₀ (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05, consideramos que houve efeito das variáveis classificatórias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme apresentado na Tabela 1, os animais com idade <18 meses apresentaram menor peso corporal ($P < 0,005$). Resultados semelhantes foram observados por Osório et al. (2012) estudando animais da raça Guzerá do desmame até os 36 meses. Van Melis et al. (2003) relacionando estimativas de musculatura, precocidade e peso em touros Nelores ao sobreano também relataram menor peso em animais mais jovens. De acordo com a idade, existe um aumento contínuo e progressivo no peso corporal, principalmente no período peri-puberal, sendo posteriormente mais lenta com a chegada da puberdade (QUIRINO et al., 1998), o que se ajusta ao modelo de curva de crescimento quadrático (TORRES-JÚNIOR e HENRY, 2005).

Não houve efeito da faixa etária sobre o escore de condição corporal (ECC), mostrando que a estimativa do *status* nutricional dos animais foi relativamente igual para as duas categorias ($P > 0,005$; Tabela 1).

Tabela 1. Médias e erros-padrão (média \pm EPM) do peso e escore de condição corporal (ECC) de machos bovinos em diferentes faixas etárias

Variável resposta	Categoria (Idade/Meses)		Valor de P
	<18	>24	
N	15	15	
Peso (kg)	288,13 \pm 9,63	433,00 \pm 22,92	0,001
Escore de Condição Corporal	3,00 \pm 0,05	3,13 \pm 0,07	0,17

($P < 0,05$) representa diferença estatística ao nível de 5% de significância

O perímetro escrotal (PE) foi significativamente maior nos animais de maior faixa etária (>24) quando comparados àqueles com idade <18 meses (Tabela 2; $P < 0,05$). Este pode ser utilizado como critério de seleção, por apresentar um comportamento linear/quadrático em relação à idade, com aumento gradativo até a fase pré-puberal, sendo acentuado na fase puberal (PIMENTEL et al., 1984) e tendendo à estabilização no período pós-puberal (TORRES-JÚNIOR E HENRY, 2005). Este crescimento testicular corresponde

ao aumento dos túbulos seminíferos como relataram Amann (1962) e Llauro e Dominguez (1963), encontrando-se em um estágio de desenvolvimento sexual rápido, como relatado por Fields, Burns e Warnick (1979) em bovinos, e ao desenvolvimento das células germinativas (KARMAZYN, 2010). Histologicamente os testículos apresentam, em grande parte do seu parênquima, os túbulos seminíferos, onde estarão localizadas as células da linhagem espermatogênica (DOGRA et al., 2003).

Em touros da raça Nelore até 18 meses de idade o PE se torna um dos mais importantes critérios de seleção de futuros reprodutores (SILVA et al., 2002). Viu et al. (2006) demonstraram que o PE aumenta com a idade e o ganho de peso em machos Nelore de 17 a 36 meses, tornando este um parâmetro útil na seleção de reprodutores. Brito et al. (2004) reportaram que o PE aumentou de forma linear à medida que aumentava a idade. Sendo ainda uma característica de alta herdabilidade sendo correlacionada com o peso ao nascimento, peso ao desmame e peso ao sobreano em animais da raça Nelore (SIQUEIRA et al., 2013).

A resposta ejaculatória, que corresponde a resposta pelo estímulo pelo método do eletroejaculador não foi influenciada pela categoria de idade ($P > 0,05$), esta, mostrou-se alta nas duas categorias.

O percentual de animais púberes foi significativamente maior na faixa etária > 24 meses (Tabela 2; $P < 0,005$). Este achado pode estar relacionado ao sistema extensivo de criação destes animais, pois animais Nelore criados em sistema extensivo dificilmente apresentam sêmen compatível com a puberdade antes dos 16 meses (BRITO et al., 2004). Resultados semelhantes foram observados por Cardilli et al. (2012) que observaram a puberdade somente aos 18 meses em Nelore. Já Freneau et al. (2006) encontraram a puberdade em Nelore aos 15 meses, porém criados em sistema intensivo, comprovando que a nutrição tem interferência direta idade a puberdade de bovinos.

Já, dentre os animais com faixa etária > 24 meses, 11 foram considerados púberes, classificação que é atribuída aos animais que apresentam no mínimo 50% de motilidade espermática com no máximo de 10% de defeitos espermáticos maiores e 20% de defeitos espermáticos menores (LUNSTRA e ECHTERNKAMP, 1982; GARCIAL et al., 1987). Neto et al. (2011) encontraram idade média à puberdade aos 13 meses em tourinhos da raça Simental, dados semelhantes aos descritos por Chase et al. (2001) que caracterizaram a

puberdade também aos 13 meses em tourinhos Brahman X Angus. Já Brito et al. (2004) encontrou a puberdade em Nelore aos 20 meses, mostrando que taurinos e zebuínos apresentam fisiologia semelhante, porém a puberdade ocorre mais tardiamente em zebuínos.

Dentre os animais púberes, o percentual de espermatozoides normais não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$; Tabela 2), ficando acima dos 70%, valor mínimo recomendado para reprodutores de campo (CBRA, 1998), tendo sido este valor encontrado por Assumpção et al. (2013), em animais púberes a partir dos 17 meses porém com baixa motilidade e vigor, melhorando a partir dos 20 meses. Com isso, a avaliação da morfologia espermática tem grande importância para prognosticar animais com deficiências espermáticas fazendo seleção mais precoce de animais destinados a reprodução (FRENEAU et al., 2011).

Tabela 2. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) do perímetro escrotal e características seminais de machos bovinos em diferentes faixas etárias

Variável resposta	Categoria (Idade/Meses)		Valor de P
	<18	>24	
N	15	15	
Perímetro Escrotal	27,70 \pm 1,04	37,70 \pm 1,02	0,0003
Resposta ejaculatória, n (%) [*]	12 (80,0%)	14 (93,3%)	0,31
Animais púberes ^{**} , n (%)	2 (13,3%)	11 (73,3%)	0,005
Espermatozoides normais (%)	88,0 \pm 0,00	82,45 \pm 3,74	0,58

($P < 0,05$) representa diferença estatística ao nível de 5% de significância

* animais que apresentaram pelo ou menos um espermatozoide no ejaculado, móvel ou imóvel

** $> 10 \times 10^6$ espermatozoides no ejaculado

Na tabela 3 estão apresentados os resultados referentes às características físicas do ejaculado. Não foi observada diferença significativa entre as categorias de idade sobre as características motilidade, vigor, turbilhonamento e concentração ($P > 0,005$).

Apesar de ter havido uma diferença de 36% na motilidade entre as faixas etárias <18 vs. >24 meses (40% vs. 76%), não houve significância estatística ($P > 0,05$). Isto se deve provavelmente ao fato de apenas dois animais no grupo <18 meses terem sido considerados

púberes, o que prejudicou a análise de comparação de médias da motilidade, devido a baixa quantidade de animais considerado púberes na categoria <18 meses.

Assumpção et al. (2013) relatou que somente aos 20 meses de idade a motilidade em Nelore superou os 50% e vigor próximo do escore 2, mesmo resultado encontrado por Silva et al. (2002) em Nelore aos 18 meses. Deste modo, se evidencia que a qualidade do sêmen pode ser utilizada como critério de seleção para animais Nelore somente a partir dos 18 meses, onde se encontra os parâmetros mínimos desejados de um animal que será utilizado como reprodutor.

O volume do ejaculado foi significativamente maior na categoria >24 ($P < 0,05$), que também é um indicativo da chegada deste grupo à puberdade, onde a quantidade e qualidade do ejaculado aumentam (VASCONCELOS, 2001). O volume do ejaculado tem relação direta com a idade dos animais sendo influenciado e afetado significativamente pela maturidade sexual (FUERST-WALTL et al., 2006).

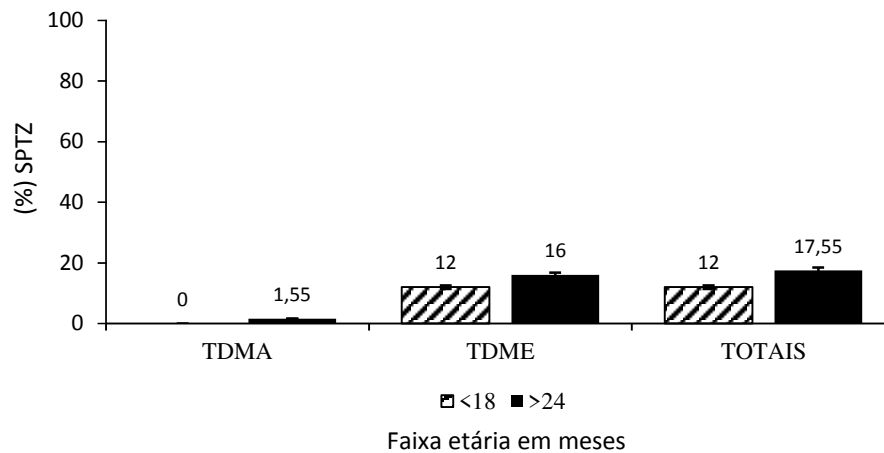
Tabela 3. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) das características físicas do ejaculado de bovinos Nelore em diferentes faixas etárias

Variável resposta	Categoria (Idade/Meses)		Valor de P
	<18	>24	
<i>n</i>	2	11	
Motilidade (%)	40 \pm 0	76,36 \pm 3,51	0,10
Vigor (0-5)	1 \pm 0	2,64 \pm 0,36	0,17
Turbilhão (0-3)	0 \pm 0	2,14 \pm 0,43	0,18
Concentração (n)	0,24 \pm 0,15	0,68 \pm 0,10	0,10
Volume (mL)	0,94 \pm 0,16	1,76 \pm 0,28	0,03

($P < 0,05$) representa diferença estatística ao nível de 5% de significância

Na avaliação das características morfológicas do ejaculado, não houve diferença significativa no total de defeitos tanto maiores quanto menores entre as duas categorias de idade ($P > 0,05$; Figura 5). De maneira geral, os valores obtidos na avaliação morfológica manifestaram uma baixa porcentagem de patologias, o que é considerado satisfatório, segundo Vale (1997).

Características Morfológicas



Legenda: TDMA: total de defeitos maiores; TDME: total de defeitos menores

Figura 5. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) das características morfológicas de bovinos Nelore em diferentes faixas etárias

Torres-Júnior e Henry (2005), estudando machos da raça Guzará, observaram que o percentual de anormalidades espermáticas decresceu exponencialmente entre a puberdade (>80% de espermatozoides anormais) e as faixas etárias acima dos 24 meses (<30%). Dias et al. (2007) comparando animais da raça Nelore de 2 e 3 anos de idade não encontraram diferença nas características morfológicas do ejaculado. Com isso, a idade pode ser utilizada para estimar a qualidade espermática, porém para entendimento das possíveis alterações morfológicas dos espermatozoides é necessário um domínio nos conhecimentos relacionados a espermatogênese e maturação espermática (JOHNSON et al., 2000).

Na avaliação subjetiva e objetiva da vascularização testicular, observou-se que a área de vascularização e o número de pixels do parênquima testicular e do plexo pampiniforme não foram influenciados pela idade dos animais, demonstrando que, estas duas variáveis apresentam resposta semelhante dentro dos parâmetros Doppler avaliado ($P > 0,005$; tabela 4). Estes dados estão de acordo com os apresentados por Ribeiro (2015), que correlacionou o número de pixels com o escore de vascularização em machos caprinos, mostrando que dos dois métodos podem ser utilizados na avaliação da área de vascularização tanto do plexo pampiniforme como do parênquima testicular, tendo alta

correlação entre os valores absolutos do número de pixels e porcentagem de área colorida como também já foi descrito na avaliação de ovários de éguas e novilhas (SILVA et al., 2005; GINTHER, 2007).

O plexo pampiniforme nas duas categorias de idade mostrou-se moderadamente vascularizado (40 a 60% de vascularização), ficando entre os escores 2 e 3. No parênquima, a área de vascularização encontrada foi aparentemente nula (0 a 20% de vascularização), que esta baixa vascularização é considerada normal, pois as artérias que irrigam esse compartimento fornecem aporte capilar sanguíneo estável para os processos metabólicos (BERGH E DAMBER, 1993), apresentando vascularização significativamente menor em comparação ao plexo pampiniforme que é composto basicamente por vasos sanguíneos por ser situado dentro do plexo venoso atuando direto no sistema de termorregulação (BRITO et al., 2004).

Tabela 4. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) Características hemodinâmicas do plexo pampiniforme e parênquima testicular de bovinos Nelore (*Bos indicus*) em diferentes faixas etárias

Variável resposta	Categoria (idade/meses)		Valor de P
	<18	>24	
N	15	15	
Pixels total plexo pampiniforme	5667,43 \pm 675,75	7066,33 \pm 558,1	0,12
Escore do plexo pampiniforme	2,95 \pm 0,21	3,16 \pm 0,20	0,74
Pixels total parênquima	215,97 \pm 31,32	242,40 \pm 33,69	0,57
Escore do parênquima	0,15 \pm 0,06	0,18 \pm 0,07	0,82

(P<0,05) representa diferença estatística ao nível de 5% de significância

Os parâmetros dopplervelocimétricos de pulso sistólico e velocidade diastólica também não foram influenciados pelas diferentes faixas etárias, assim como os índices Doppler de pulsatilidade e resistência (P>0,005; figura 6).

Em ambas as categorias de foram encontrados picos sistólicos amplos e contínuos e baixos valores de IP e IR, que são fisiologicamente esperados com a observação de todo o ciclo cardíaco durante o exame testicular. Animais jovens por sua vez, tendem a possuir

apenas a fase sistólica e inibir a diástole no Doppler espectral, refletindo uma fase não funcional dos testículos, devido à imaturidade da gônada no período pré-puberal. Por outro lado, após a puberdade, nota-se o fluxo englobando todo o ciclo cardíaco (WOOD et al., 2010; GÜNZEL-APEL et al., 2001).

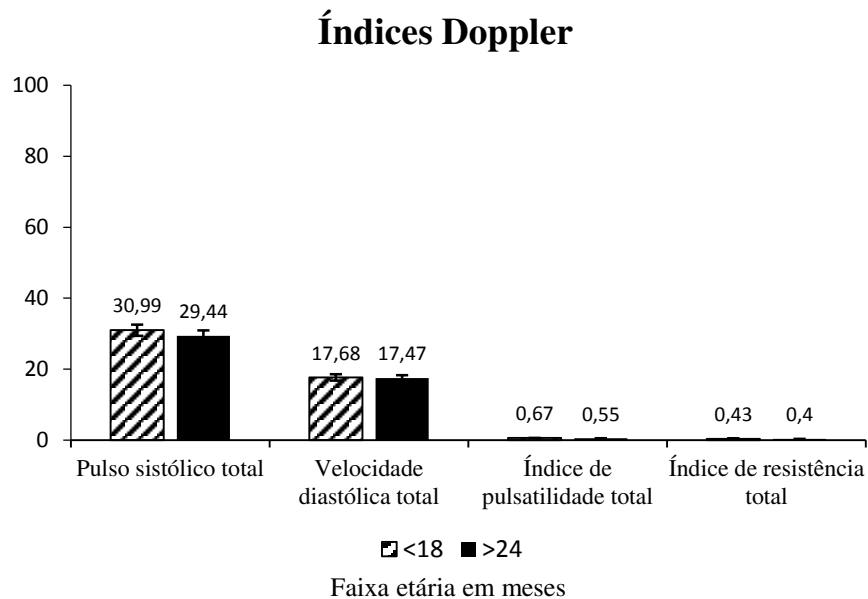


Figura 6. Médias e erros-padrão das médias (média \pm EPM) dos índices Dopplervelocimétricos do plexo pampiniforme de bovinos Nelore (*Bos indicus*) em diferentes faixas etárias

A inexistência de padrões hemodinâmicos estabelecidos para bovinos com testículos saudáveis dificultam comparações com outros estudos, todavia o fluxo sanguíneo testicular normalmente apresenta característica de baixa resistência, o que é típico de artérias de órgãos parenquimatosos que possuem demanda contínua de sangue, com um fluxo diastólico alto (GÜNZEL-APEL et al., 2001; CARVALHO et al., 2008; FREITAS et al., 2013), tal qual encontrado em nosso estudo.

6 CONCLUSÃO

A faixa etária determina evolução nos parâmetros biométricos testiculares e no alcance da puberdade, as características dopplerfluxométricas testiculares não houve influência das faixas etárias avaliadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAOUF, M. The post natal development of reproductive organs in bulls with special reference to puberty (including growth of the hypophysis and adrenals). **Acta Endocrinol.** v. 49 p.11-109, 1960.
- AMANN, R. P. Endocrine changes associated with onset of spermatogenesis in Holstein bulls. **Journal Dairy Science.** v. 66, n. 12, p. 2606-2622, 1983.
- AMANN, R. P.; WALKER, O. A. Changes in the pituitary-gonadal axis associated with puberty in Holstein bulls. **Journal Animal Science.** v. 57, n. 2, p. 433- 442, 1983.
- ARIAS, A.A.; MANUNTA, O.; SLOBODZIAN, A. El mejoramiento genético del ganado bovino de carne en Corrientes. **Produccion Animal.** 81 p. (Serie técnica n° 5), 1991.
- ASSUMPTIÇÃO, T. I.; DE ALMEIDA SOUZA, M.; ALBERTON, C.; PALLAORO, R.; KITAGAWA, C.; SILVA, N. A. M. Características reprodutivas de machos bovinos da raça Nelore da fase pré-púbere à maturidade sexual. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária,** 2013.
- BARBOSA, R.T. Biometria testicular e aspectos do sêmen de touros das raças Canchim e Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** Belo Horizonte, MG. 1982.
- BARTH, A. D.; OKO, R. J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa.** 1989.
- BATISSACO, L.; CELEGHINI, E. C. C.; PINAFFI, F. L. V.; OLIVEIRA, B. M. M. D.; ANDRADE, A. F. C. D.; RECALDE, E. C. S.; FERNANDES, C. B. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science,** 50(5), 384-395. 2013
- BELLENDÁ, O. Ultrasonido en la reproducción porcina. 2006. Disponível em: 2006. Acessado em: 10 out. 2017.
- BERGH, A.; DAMBER, J. E. Vascular controls in testicular physiology. **In: KRETSER, D. de (Ed). Molecular biology of the male reproductive system.** San Diego: Academic Press, 1993. p. 439–468.
- BERGH, A.; DAMBER, J. E. Vascular controls in testicular physiology. **In: de Kretser, D.M. (Ed.), Molecular Biology of the Male Reproductive System.** Academic Press, New York, pp. 439–468. 1993.
- BERGMANN, J. A.; ZAMBORLINI, L. C.; PROCÓPIO, C. S.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R. Estimativas de parâmetros genéticos do perímetro escrotal e do peso corporal

em animais da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, 48(1), 69-78. 1996.

BIAGIOTTI G, CAVALLINI G, MODENINI F, VITALI G, GIANAROLI L.
Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery. **BJU Internacional**; v. 90, p. 903–908, 2002.

BLOM, E. The ultra structure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram (author's transl). **Nordisk Veterinaer Medicin Journal**, v. 25(7), p. 383-391, 1972.

BRITO L.F.C, SILVA A.E.D.F, UNANIAN M.M, DODE M.A.N, BARBOSA R.T, KASTELIC J.P. Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus x Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology**, v. 62, p.1198-1217, 2004.

BRITO, L. F. C.; SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M. Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus x Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology**, v. 62, n. 7, p. 1198-1217, 2004.

BUMIN, A. K. M.; KAYA, Ü. KIBAR, M.; ALKAN, Z. Gray-scale, colour and power Doppler sonography of scrotal disorders in dogs. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.158, p.128-133, 2007.

CARDILLI, D. J. Padrão ultrassonográfico do parênquima, mediastino e túnicas testiculares em bovinos jovens da raça Nelore. **Ciência Animal Brasileira**. v. 11, n. 4, p. 899-905. 2010.

CARDILLI, D. J.; TONIOLLO, G. H.; PASTORE, A. A.; CANOLA, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; MERCADANTE, M. E. Z. Ultrassonografia testicular em bovinos jovens da raça Nelore criados em sistema extensivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 75-82. 2012.

CARDOSO, F. F.; CARDELLINO, R. A.; CAMPOS, L. T. Componentes de (co)variância e parâmetros genéticos de caracteres pós-desmama em bovinos da raça Angus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 313-319, 2004.

CARDOSO, F. F.; CARDELLINO, R. A.; CAMPOS, L. T. Componentes de (co)variância e parâmetros genéticos para caracteres produtivos à desmama de bezerros Angus criados no estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.1, p.41-48, 2001.

CARVALHO, C. F. ABDUCH, M. C. D. Ecocardiografia. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 287-345, 2004.

CARVALHO, C. F. **Ultrassonografia Doppler em pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 87-97, 2009.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, v. 38(3), p. 872-879, 2008.

CASTELLÓ, C. M.; BRAGATO, N.; MARTINS, I.; SANTOS, T.V.; BORGES, N. C.; Ultrassonografia Doppler Colorido e Doppler Espectral para estudo de pequenos fluxos. **Enciclopédia Biosfera**, 2015.

CASTRO, V. M.; VALE FILHO, V. R.; REIS, S. R.; OLIVEIRA, H. N. Puberdade e início de maturação sexual em touros Nelore, de 10-14 meses de idade. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 1. 1989.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte, 1998.

CERRI, G.G. et al. **Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais**. In: Doppler. São Paulo: Sarvier, cap.6, p.120-121, 1998.

CHACUR, M. G. M.; NETO, N. B. M. Influência da estação do ano sobre as proteínas do plasma seminal de touros Limousin. **Veterinária Notícias**, v. 13(1), p. 47-53. 2007.

CHACUR, M.G. M. **Estresse térmico em touros bufalinos *Bubalus bubalis* avaliações das características fisiológicas da reprodução**. 1999. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Botucatu, 85p., 1999.

CHASE, C. C.; CHENOWETH, P. J.; LARSEN, R. E.; HAMMOND, A. C.; OLSON, T. A.; WEST, R. L.; JOHNSON, D. D. Growth, puberty, and carcass characteristics of Brahman-, Senepol-, and Tuli-sired F1 Angus bulls. **Journal of animal science**, v. 79(8), 2001.

COELHO, M. F.; CARDOSO, A. J. P.; SANTOS, P. B. **Ultrassonografia Doppler em andrologia**. 1. ed. Cadernos de urologia do Hospital Fernando Fonseca. Amadora: Saúde, Sá – artes gráficas, 2008.

COULTER, G. H. Puberty and postpuberal development of beef bulls. **Morrow, da Current Therapy of Theriogenology**, v. 2, p. 142-148, 1986.

DAVIDSON, A. P.; BAKER, T. W. Reproductive ultrasound of the dog and tom. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 24, n. 2, p. 64-70, 2009.

DE ASSUMPÇÃO, T. I.; DE ALMEIDA SOUZA, M.; ALBERTON, C.; PALLAORO, R.; KITAGAWA, C.; SILVA, N. A. M. Características reprodutivas de machos bovinos da raça Nelore da fase pré-púbere à maturidade sexual. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20(3). 2013

DE KRETZER, D. M.; LOVELAND, K. L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D.; WREFORD, N. Spermatogenesis. **Human reproduction**, v. 13, p. 1-8, 1998.

DI SALVO, P.; BOCCI, F.; ZELLI, R.; POLISCA, A. Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch. **Research in veterinary science**, v. 81(3), p. 382-388, 2006.

DIAS, J. C.; ANDRADE, V. J de.; VALE FILHO, V. R de.; ALMEIDA, M de. Biometria testicular e aspectos andrológicos de touros Nelore (*Bos taurus indicus*), de dois e três anos de idade, criados extensivamente. **Veterinária Notícias**, v. 13(2), p. 31-37. 2007.

DIEHL, N. F. **Ultrasonografia Doppler na reprodução de pequenos animais**. 2009.

DOGRA, V.S.; BHATT, S.; RUBENS, D.J.: Sonographic evaluation of testicular torsion. **Ultrasound Clinics**. v. 1, p. 55 – 66, 2006.

DUBINSKY, J. M.; LEVI, Y. Calcium-induced activation of the mitochondrial permeability transition in hippocampal neurons. **Journal of neuroscience research**, v. 53, n. 6, p. 728-741, 1998.

DUNN, T. G.; MOSS, G. E. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1580-1593, 1992.

EVANS, A. C. O.; DAVIES, F. J.; NASSER, L. F.; BOWMAN, P.; RAWLINGS, N. C. Differences in early patterns of gonadotrophin secretion between early and late maturing bulls, and changes in semen characteristics at puberty. **Theriogenology**, v. 43(3), p. 569-578. 1995.

EVANS, A. C. O.; DAVIES, F. J.; NASSER, L. F.; BOWMAN, P.; RAWLINGS, N. C. Differences in early patterns of gonadotrophin secretion between early and late maturing bulls, and changes in semen characteristics at puberty. **Theriogenology**, v. 43(3), p. 569-578. 1995.

FEIGENBAUM, H. **Instrumentation**. In: Echocardiography. 4.ed. Philadelphia. Lea and Febiger, cap.1, p.1-49. 1986.

FIELD, J. G. ; CLARKE, K. R.; WARWICK, R. M. A practical strategy for analysing multispecies distribution patterns. **Marine ecology progress series**, p. 37-52, 1982.

FIELDS, M. J.; BURNS, W. C.; WARNICK, A. C. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. **Journal of Animal Science**, v. 48(6), p. 1299-1304. 1979.

FONSECA, J. F.; SOUZA J. M. G.; BRUSCHI J. H. Considerações sobre eficiência reprodutiva no sistema de produção. In: V Simpósio Mineiro de Ovinocultura. **Anais...**, V Simpósio Mineiro de Ovinocultura. Lavras: UFLA, 152-180, 2009.

FONSECA, V. O. avaliação reprodutiva de touros para a monta a campo: análise crítica. **Revista brasileira de reprodução animal**, v. 6, p. 36-41, 2009.

FONSECA, V. O. Puberdade, adolescência e maturidade sexual: Aspectos histopatológicos e comportamentais. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Belo Horizonte, 1989. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, p. 77-93. 1989.

FONSECA, V. O.; ANDRADE, V. J.; CHOW, L. A.; NORTE, A. D.; AZEVEDO, N. D. Efeito de diferentes métodos de amamentação sobre as eficiências produtiva e reprodutiva de um rebanho bovino de corte. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39 p. 233-239. 1987.

FONSECA, V. O.; CHOW, L. A.; ABREU, J. J.; LIMA, O. P de. Alguns aspectos físicos e morfológicos do sêmen de touros púberes da raça Nelore. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**. 1975.

FONSECA, V. O.; CRUDELI, G. A.; COSTA E SILVA, E. V. et al. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) em monta natural. Proporção touro:vaca 1:40 e fertilidade. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.15, p.103-108, 1991.

FONSECA, V. O.; FRANCO, C. S.; BERGMANN, J. A. G. Potencial reprodutivo de touros Nelore em monta natural. Proporção touro:vaca 1:80 em acasalamentos coletivos. Taxa de fertilidade e aspectos econômicos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 52, p. 77-82, 2000.

FORESTA, C.; FERLIN, A.; GAROLLA, A.; MORO, E.; PISTORELLO, M.; BARBAUX, S.; ROSSATO, M. High frequency of well-defined Y-chromosome deletions in idiopathic Sertoli cell-only syndrome. **Human Reproduction**, v. 13(2), p. 302-307. 1998.

FORESTA, C.; GAROLLA, A.; BERTELLA, A.; FERLIN, A.; ROSSATO, M.; CANDIANI, F. Doppler ultrasound of the testis in azoospermic subjects as a parameter of testicular function. **Human Reproduction**, v. 13, p. 3090-3093, 1998.

FRANÇA, L. R.; RUSSEL, L. D. **The testis of domestic mammals**. In: MARTÍNEZ GARCÍA, F.; REGADERA, J. Male reproduction: a multidisciplinary overview. Churchill Comm. Europe, 1998.

FRANCO, J. G.; BARUFFI, R. L. R.; MAURI, A. L.; PETERSEN, C. G.; OLIVEIRA, J. B. A.; VAGNINI, L. Significance of large nuclear vacuoles in human spermatozoa: implications for ICSI. **Reproductive biomedicine online**, v. 17(1), p. 42-45. 2008.

FRENEAU, G. E. **Desenvolvimento reprodutivo em tourinhos holandeses e mestiços holandês-gir, desde os seis até os 21 meses de idade (Puberdade e pós-puberdade)**. 254p. Tese de Doutorado. Tese de Mestrado em reprodução animal. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 1991

FREITAS L.S.; PINTO J.N.; SILVA H.V.R.; UCHOA D.C.; MOTA FILHO A.C; SILVA L.D.M. Doppler e ecobiometria prostática e testicular em cães da raça Boxer. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, n.1121, p.1-8, 2013.

FRENEAU, G.E.; VALE FILHO, V.R.; MARQUES JR, A.P.; MARIA, W. S. Puberdade em touros Nelore criados em pasto no Brasil: características corporais, testiculares e seminais e de índice de capacidade andrológica por pontos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 58, p. 1107-1115, 2006.

FUERST-WALTL, B.; SCHWARZENBACHER, H., PERNER, C.; SÖLKNER, J. Effects of age and enviromental factors on semen production and semen quality of Austrian Simental bulls. **Animal Reproduction Science**, v. 95, p. 27-37, 2006.

GABALDI, S. H.; WOLF, A. A importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. **Ciências Agrárias. FEA, adrenalina**, v. 2, n. 2, p. 66-70, 2002.

GALVANI, F. COSTA, E. P.; TORRES, C. A. A.; BRUSCHI, J. H.; SANTOS, M. D.; PINHEIRO, R. W. Perímetro escrotal, características físicas do sêmen e morfológicas do espermatozoides de touros Nelore de alta libido comparados com animais de libido inferior. **Arquivos Veterinária**, v. 16, p. 97-103, 2000.

GARCIA, J.M.; PINHEIRO, L.E.L.; OKUDA, H.T. Body development and semen physical characteristic of young Guzará bulls. **Arquivo de Veterinária**, v. 3, n.1, p.47-53, 1987.

GARCIA-MOLINA, Hector; SALEM, Kenneth. **Sagas**. ACM, 1987.

GINTHER O. J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography**, Ginther O.J. (ed). Cross Plains: Equiservices Publishing, 258p. 2007.

GONÇALVES, PBD; FIGUEIREDO, JR; FREITAS, VJF **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**, v. 2, p. 57-82. 2008.

GRADIL, C. M.; YEARGER, A.; CONCANNON, P. W.; ENGLAND, G.; VERSTEGEN, J. In: **Recent Advances in Small Animal Reproduction, and Linde-Forsberg**. (Eds.) Internacional Veterinary Information Service, Ithaca NY, 2006.

GUIMARÃES, J. D. **Avaliação andrológica e estudos quantitativos e qualitativos da espermatogênese de touros mestiços F1 Holandês x Zebu e Red Angus x Zebu**. 1997.

GUIMARÃES, J. D. **Puberdade e maturidade sexual em touros da raça Gir, criados em condições semiextensivas**. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária - UFMG, Belo Horizonte. 1993.

GÜNZEL-APEL, A-R.; MÖHRKE, C.; NAUTRUP, C. P. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: Physiological and pathological findings. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 36, p. 236-240, 2001.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**, 7ª ed. São Paulo: Manole, 513p. 2004.

HERWIG, R.; TOSUN, K.; PINGGERA, G. M.; SOELDER, E.; MOELLER, K.T.; PALLWEIN, L.; FRAUSCHER, E.; BARTSCH, G.; WILDT, L.; ILLMENSEE, K. Tissue

perfusion essential for spermatogenesis and out come of testicular sperm extraction (TESE) for assisted reproduction. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics** v. 21, p. 175–180. 2004.

JOHNSON L.; VARNER D.D.; ROBERTS M.E.; SMITH T.L.; KEILLOR G.E.; SCRUTCHFIELD W.L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animale Reproduction Science**, v. 60/61, p.471-480, 2000.

JUCÁ F. A.; MOURA, J A. C.; GUSMÃO, A. L.; BITTENCOURT, T. C.; NASCIMENTO, M. C.; BARBOSA, C. M. P. Avaliação ultrassonográfica dos testículos e das glândulas sexuais anexas de carneiros Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, 10(2), 650-659, 2009.

KARMAZYN, B. **Imaging approach to acute hematogenous osteomyelitis in children: an update.** In Seminars in Ultrasound, CT and MRI v. 31, No. 2, p. 100-106. WB Saunders. 2010

KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; COULTER, G. H. Scrotal testicular thermoregulation in bulls. In: TOPICS IN BULL FERTILITY, Ithaca, 2000. International Veterinary Information Service, 2000. Disponível em: <http://www.ivis.org/advances/Repro_Chenoweth/kastelic/chapter.asp?LA=1>. Acesso em: 21 setembro. 2011, 10:16

KASTELIC, J. P.; THUNDATHIL, J. C. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. s2, p. 368-373, 2008.

KAWAKAMA, J. et al. Física. In: CERRI, G.G.; ROCHA, D.C. **Ultra-sonografia abdominal.** São Paulo: Sarvier, cap.1, p.1-14. 1993.

KAY, G.W.; GROBBELAAR, J. A.; HATTINGH, J. Effect of surgical restriction of growth of the testicular artery on testis size and histology in bulls. **Journal of Reproduction and Fertility** 96, 549–553. 1992.

KING, A. M. Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals. **The Veterinary Journal**, v. 171, p. 408-420, 2006.

KNIGHTS, S. A.; BAKER, R. L.; GIANOLA, D.; GIBB, J. B. Estimates of heritabilities and of genetic and phenotypic correlations among growth and reproductive traits in yearling Angus bulls. **Journal Animal Science**, 58(4):887-93. 1984.

KOURY FILHO, W. **Análise genética de escores de avaliações visuais e suas respectivas relações com desempenho ponderal na raça Nelore.** 82f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2001.

KRETZER, D. M.; LOVELAND, K. L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D.; WREFORD, N. Spermatogenesis. **Human reproduction update**, v. 9, n. 1, p. 9-23, 2003.

KUTZLER, M.; TYSON, R.; GRIMES, M.; TIMM, K. Determination of testicular blood flow in camelids using vascular casting and color pulsed-wave doppler ultrasonography. **Veterinary Medicine International**, New York, v. 2011, p. 1-7, 2011.

LAM, W. W.; YAP, T.; JACOBSEN, A. S.; TEO, H. J. E. Colour Doppler ultrasonography replacing surgical exploration for acute scrotum: myth or reality. **Pediatric Radiology**, v. 35, n. 6, p. 597-600, 2005.

LARREAL, H., TROCONIZ, J., BELTRAN, J.; BASTIDAS, P. Scrotal circumference, testicular consistency, body weight changes and semen traits in Nelore bulls. **Journal Animal Science**, v. 73, suppl. 1, p. 446, 1988.

LINDAHL, I. L. Detection of pregnancy in sheep by means of ultrasound. **Nature**, v. 212, n. 5062, p. 642-643, 1966.

LLAURADO, J. G.; DOMINGUEZ, O. V. Effect of cryptorchidism on testicular enzymes involved in androgen biosynthesis. **Endocrinology**, v. 72(2), p. 292-295, 1963.

LOWMAN, B. G. N.; SCOTT, N. A.; SOMERVILLE, S. H. Condition scoring of cattle. Edinburgh: The Edinburgh School of Agriculture, (East of Scotland College of Agriculture. Bulletin, 6). p 5-6, 1976.

LUNSTRA, D. D.; FORD, J. J.; ECHTERNKAMP, S. E. Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. **Journal Animal Science**, v. 46, n. 4, p. 1054-1062, 1978.

LUNSTRA, D. D.; ECHTERNKAMP, S. A. Puberty in beef bulls: acrosome morphology and semen quality in bulls of different breeds. **Journal of Animal Science**, v. 55, p. 638-648, 1982.

M.B. SOUZA¹, L.D.M. SILVA. Ultrassonografia bidimensional, Doppler e contrastada para avaliação testicular: do homem ao animal Two-dimensional, Doppler and contrast enhanced ultrasonography on testicular evaluation: from man to animal. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v.38, n.2, p.86-91, 2015.

MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. Embrapa Pecuária Sudeste-Circular Técnica (INFOTECA-E). 2008.

MACIEL, Luiz Carlos. **Anos 60**. L&PM Editores, 1987.

MACKAY, J. **The Penguin atlas of human sexual behavior**. Penguin Group USA, 2000.

- MARTIN-DU PAN, R. C.; CAMPANA, A. Physiopathology of spermatogenic arrest. **Fertility and sterility**, v. 60(6), p. 937-946. 1993.
- McARTHUR, M. S.; HAFS, H. D.; CONVEY, E. M. Serum hormone patterns associated with growth and sexual development in bulls. **Journal Animal Science**, v. 49, n. 4, p. 1012-1020, 1979.
- MCDICKEN W. N.; HOSKINS P. R.; Physics: Principles, Practise and Artefacts. In: MCDICKEN, W. N.; FLEMING, A. D.; SUTHERLAND, G. R.; HOSKINS, P. R. Assessment of colour Doppler tissue imaging using test-phantoms. **Ultrasound in medicine & biology**, v. 20(9), p. 937-951. 1994.
- MERRITT, C. R. B. Física do Ultra-som. In: RUMACK, C. M.; WILSON, S. R.;
- CHARBONEAU, J. W. **Tratado de ultra-sonografia diagnóstica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2 ed., p. 3-29. 1998.
- MIDDLETON, W. D.; THORNE, D. A.; MELSON, G. L. Color Doppler ultrasound of the normal testis. **American Journal of Roentgenology**, v. 152, n. 2, p. 293-297, 1989.
- MIES FILHO, A.; MIES FILHO, A. Fisiologia do aparelho genital masculino: função espermatogênica e função endócrina do testículo. MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**, v. 3, p. 99-133, 1975.
- MIES FILHO, A.; PUGA, J. M. P.; JOBIM, M. I. M.; WALD, V.; MATOS, S. Biometria testicular em bovino. I – Relação entre idade e medidas testiculares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.4, p. 56-65, 1980.
- MOELLER SJ. Evolution and use of ultrasonic technology in the swine industry. **Journal Animal Science**, v. 80, p. 19-27, 2002.
- NETO, T. M.; CASTILHO, E. F.; PINHO, R. O.; GUIMARAES, S. E. F.; COSTA, E. P.; GUIMARAES, J. D. Pubertade e maturidade sexual em touros jovens da raça Simmetal, criados sob regime extensivo em clima tropical. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 40, n. 9, p. 1917-24, 2011.
- NOVELLAS, R.; ESPADA, Y.; GOPEGUI, R. R. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsability indices in normal dogs and cats. **Veterinary, Radiology & Ultrasound**, v. 48, n. 1, p. 69-73, 2007.
- NYLAND, T. G.; MATTON, J. S. **Small Animal Diagnostic Ultrasound**. W. B. Saunders, 461p. 2002.
- O'DONNELL, L.; ROBERTSON, K. M.; JONES, M. E.; SIMPSON, E.R.; Estrogen and spermatogenesis. **Endocr Ver**, v.22, n. 3, p. 289-308, 2001.

- OLIVEIRA, M. T., CAMPOS, F. S., DIAS, M. M., VELHO, F. A., FRENEAU, G. E., BRITO, W. M. E. D., ... & ROEHE, P. M. Detection of bovine herpesvirus 1 and 5 in semen from Brazilian bulls. **Theriogenology**, v. 75(6), p. 1139-1145. 2011.
- OSORIO, J. P.; HENRY, M.; BERGMANN, J. A. G.; CARMO, A. S.; SOUZA, F. A. Desenvolvimento testicular e puberdade em machos da raça guzerá da desmama aos 36 meses de idade criados no cerrado mineiro. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 24, p. 9-24. 2012
- OSTERMEIER, G. C.; SARGEANT G. A.; YANDELL B. S.; EVENSON, D. P.; PARRISH, J. J. Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape. **Journal Andrologico**, v. 22, p. 595-603, 2001.
- PASTORE A.A. Contribuição da ultrassonografia na avaliação andrológica de bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução animal**. Belo Horizonte. Vol. 39, n.1 p. 32-40, 2015.
- PASTORE, A. A.; TONIOLLO, G. H.; CARDILLI, D. J.; CANOLA, J.C. MERCADANTE, E. Z. Parâmetros andrológicos de touros pertencentes ao programa de melhoramento genético da raça Nelore. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16. 2005, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005.
- PECHMAN, R. D.; EILTS, B. E. B-mode ultrasonography of the bull testicle. **Theriogenology**, v. 27, n. 2, p. 431-441, 1987.
- PEIXOTO, G. C. X.; LIRA, R. A.; ALVES, N. D.; SILVA, A. R. Bases físicas da formação da imagem ultrassonográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, 4(1), 15-24, 2010.
- PEREIRA, E., ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Correlação genética entre perímetro escrotal e algumas características reprodutivas na raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29(6), p. 1676-1683. 2000.
- PERRY, V. E. A.; CHENOWETH, P. J.; POST, T. B.; MUNRO, R. K. Patterns of development of gonads, sex-drive and hormonal responses in tropical beef bulls. **Theriogenology**, v. 35(2), p. 473-486. 1991.
- PIAGET, J.; GARCIA, R.; JESUÍNO, M. F. **Psicogênese e história das ciências**. 1987.
- PIMENTEL, C. A.; FERREIRA, J. M. M.; MORAES, J. C. F.; CHAGAS, P. R.; AMARAL, C. O.; MEDEIROS, E. L. Desenvolvimento testicular e corporal em touros de corte. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 8, n.1, p.27-33, 1984.
- PINGGERA, G. M, MITTERBERGER, M.; BARTSCH, G.; STRASSER, H.; GRADL, J.; AIGNER, F.; PALLWEIN, L.; FRAUSCHER, F. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. **BJU Internacional**, v.101, p.722-726, 2008.

PINHO, R. O. **Ultrassonografia testicular na avaliação andrológica de touros da raça nelore e composto montana tropical**. 2010.

PINTO, P. A. **Análise da morfologia testicular e da produção e características do sêmen de reprodutores Zebu da raça Nelore**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, FMRP, USP. 1987. 87p. (Dissertação Mestrado). 1987.

POZNIAK M. A.; ALLAN P. L. **Clinical Doppler Ultrasound**. 3rd ed. China: Elsevier; p. 1-24. ISBN: 9780702050152. 2014.

POZOR, M. A.; MCDONNELL, S. M. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, v. 61, n. 5, p. 799-810, 2004.

POZOR, M. A. How to evaluate a Stallion's Scrotum Using Ultrasound. **Proceeding of the Annual Convention of the AAEP** – Seattle, Washington, USA, 2005.

QUIRINO, C.; BERGMANN, J.; BERGMANN, J.A.G. Heritability of scrotal circumference adjusted and unadjusted for body weight in nellore bulls, using univariate and bivariate animal models. **Theriogenology**, v. 49, n. 7, p. 1389-1396, 1998.

REICHENBACH, H.; MORAES, J.; NEVES, J. P.; GONÇALVES, P.; FIGUEIREDO, J.; FREITAS, V. **Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em bovinos**. 2008.

RIBADU, A. Y.; NAKAO, T. Bovine reproductive ultrasonography: a review. **Journal of Reproduction and Development**, 45(1), 13-28. 1999.

RIBEIRO, D. L. S. **Dopplerfluxometria na avaliação andrológica de reprodutores caprinos**. Dissertação. 27p. UEMA- Universidade estadual do Maranhão. 2015.

RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Methods for semen evaluation and their relationship to fertility. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, GO. **Anais...** Belo Horizonte, MG: CBRA, 2005. 8p. 2005.

RUCKEBUSH, Y; PHANEUF, L. P.; DUNLOP, R. **Physiology of small and large animals**. B. C. Decker, Inc. Philadelphia, p. 672, 1991.

SÁNCHEZ, R.; ALFONSO, E. Ultra-sonografia na reprodução animal. **Tecnologia Veterinária**, v.1, p.6, 2000.

SANTOS, M. D.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; MACHADO, G. V.; COSTA, D. S.; ANGULO, L. M. **Concentração sérica de testosterona em touros Zebu**. 2000

SCHURICH M, AIGNER F, FRAUSCHER F, PALLWEIN L. The role of ultrasound in assessment of male fertility. **Eur J Obstet Gynecol**, v.144, suppl.1, p.192-198, 2009.

- SCHURICH, M., AIGNER, F., FRAUSCHER, F., & PALLWEIN, L. The role of ultrasound in assessment of male fertility. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 144, p. 192-S198. 2009
- SCHURICH, M.; AIGNER, F.; FRAUSCHER, F.; PALLWEIN, L.: The role of ultrasound in assessment of male fertility. **European Journal of Obstetrics; Gynecology and Reproductive Biology**. v. 144, p 192-198, 2009.
- SETCHELL, B. P. **The scrotum and thermoregulation**. In: SETCHELL, B. P. The mammalian testis. New York: Cornell University Press, p. 90-104. 1978.
- SETCHELL, Brian Peter et al. **The mammalian testis**. Paul Elek., 1978.
- SHARPE, R. M. Paracrine control of the testis. **Clin Endocrinol Metabolica**, v. 15, p. 1, p. 185-207, 1986.
- SHARPE, R. M.; MCKINNELL, C.; KIVLIN, C.; FISHER, J. S. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. **Reproduction**, v. 125(6), p. 769-784. 2003.
- SIGEL B. A. brief history of doppler ultrasound in the diagnosis of peripheral vascular disease. **Ultrasound in Medicine & Biology**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 169-176, 1998.
- SILVA, A. E. D. F.; DIAS, A. L.; UNANIAN, M. M.; FREITAS, A. R. D.; BLOCH JUNIOR, C. Conteúdo de peptídeos e avaliação morfofisiológica dos espermatozoides do epidídimo e ejaculado de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1890-1900. 2003.
- SILVA, A. E. D. F., DIAS, A. L., UNANIAN, M. M., FREITAS, A. R. D., & BLOCH, C. J. Conteúdo de peptídeos e avaliação morfofisiológica dos espermatozoides do epidídimo e ejaculado de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32(6), p. 1890-1900. 2003.
- SILVA, A. E. D. F., UNANIAN, M. M., CORDEIRO, C. M. T., & FREITAS, A. R. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31(3), p. 1157-1165. 2002.
- SILVA, A. E. D. F.; DODE, M. A. N.; UNANIAN, M. M. **Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e outros fatores que a influenciam**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 128p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 51). 1993.
- SILVA, L. A.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 3, p. 755-761, 2005.
- SIQUEIRA, J. B. **Maturidade sexual de touros da raça nelore, filhos de vacas super precoces, precoces e normais, criados em condições extensivas**. 2009.

SIQUEIRA, J. B.; GUIMARÃES, J. D.; PINHO, R. O. Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 1, p. 3-13, 2013.

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos do macho. In: SWENSON M.J.; REECE, W. O. **Dukes – fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: editora Guanabara Koogan S.A., Cap. 35, p. 603-614. 1996.

SZATMÁRI, V.; SÓTONYI, P.; VÖRÖS, K.; Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v.42, n.2, p.93-107, 2001.

TAYLOR K. J.; HOLLAND S. Doppler US. Part I. Basic Principles, Instrumentation and Pitfalls. **Radiology**, v. 174, p. 297-307, 1990.

TEMPLE, R.S.; STONAKER, H.H.; HOWRY, D. et al. Ultrasonic and conductive methods for estimating fat thickness in live cattle. **Proceedings of the American Society of Animal Production**, n.7, p.477, 1956.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; HENRY, M. Sexual development of Guzerat (*Bos taurus indicus*) bulls raised in a tropical region. **Animal Reproduce**. v.2, n.2, p.114-121, 2005.

UNANIAN, M.M.; SILVA, A.E.D.F.; McMANUS, C.; CARDOSO, E.P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.1, p.136-144, 2000.

VALE FILHO, V. R.; FONSECA, V. O.; FRENEAU, G. E.; GUIMARÃES, J. D.; CASTRO, V. M.; MELO, M. I. V. Desenvolvimento testicular e maturidade sexual em bovinos. **Cadernos Técnicos de Escola Veterinária**, v. 8, p. 63-75, 1993.

VALE FILHO, V. R. Padrões de sêmen bovino para o Brasil. Análise e sugestões. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**. Belo Horizonte: CBRA., p. 94-118. 1989

VALE FILHO, V. R. Padrões de sêmen bovino para o Brasil. Análise e sugestões. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**. Belo Horizonte: CBRA, p. 94-118. 1989.

VALE FILHO, V. R.; FONSECA, V. O.; FRENEAU, G. E.; GUIMARÃES, J. D.; CASTRO, V. M.; MELO, M. I. V. Desenvolvimento testicular e maturidade sexual em bovinos. **Caderno Técnicos Escola Veterinária**. v. 8, p. 63-75. 1993

VAN MELIS, M.H.; ELER, J.P.; SILVA, J.A.V. Estimação de parâmetros genéticos em bovinos de corte utilizando os métodos de máxima verossimilhança restrita. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1624-1632, 2003.

VASCONCELOS, C. O. de P. Estádio de maturidade sexual em touros da raça Nelore dos 20 aos 22 meses de idade. 2001. 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

VERMILLON, R.P. Basic physical principles. In: SNIDER, A.R. et al. **Echocardiography in pediatric heart disease**. 2.ed. Missouri: Mosby, cap.1, p.1-10. 1997.

VIU, M. A. O.; MAGNABOSCO, C.U.; FERRAZ, H.T.; GAMBARINI, M.L.; OLIVEIRA FILHO, B.D.; LOPES, D.T; VIU, A.M.F. Desenvolvimento ponderal, biometria testicular e qualidade seminal de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) criados extensivamente na região centro oeste do Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, 2006.

WILDEUS, S.; HOLROYD, R. G.; ENTWISTLE, K. W. Patterns of puberal development in Sahiwal and Brahman cross bulls in tropical Australia. I. Growth and semen characteristics. **Theriogenology**, 22(4), 361-373. 1984.

WILLIAMS, S. I.; PIÑEYRO PIÑEIRO, P. E.; SOTA, R. L. D. L. Ultrasonografía reproductiva en producción porcina. **Analecta Veterinaria**, v.21. 2001.

WILLIAMS, S. I.; PIÑEYRO PIÑEIRO, P. E.; SOTA, R. L. Ultrasonografía reproductiva en producción porcina. **Analecta Veterinaria**, v. 21, 2001.

WOOD, C. R.; LACSER, A.; BARLOW, J. F.; PADHRA, A.; BELCHER, S. E.; NEMITZ, EROISI, A.; ELAD NGONPUT, A.; CARDINALI, L.; POLISCA, A. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n., p. 632–637, 2010.

WROBEL, K. H.; BICKEL, D.; KUJAT, R., SCHIMMEL, M. Evolution and ultrastructure of the bovine spermatogonia precursor cell line. **Cell and tissue research**, v. 281(2), p. 249-259. 1995

ZELLI, R.; TROISI, A.; NGONPUT, A. E.; CARDINALI, L.; POLISCA, A. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. **Research in veterinary science**, v. 95(2), p. 632-637. 2013.