



CORRELAÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL, CITOLOGIA TESTICULAR E PARÂMETROS DO SÊMEN DO EPIDÍDIMO DE TOUROS

Mábilis Yumi Kanazawa¹; Caroline Scott²; Carlos Henrique de Mello Wilges³; Luis Gustavo Gosuen Gonçalves Dias⁴; Fabiana Ferreira de Souza^{4*}

1Discente do curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca, SP

2Mestranda do curso de Pós-graduação em Reprodução Animal da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Botucatu, Botucatu, SP

3Mestrando do curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Animais da Universidade de Franca – UNIFRAN, Franca, SP

4Docente do Programa de Mestrado em Medicina Veterinária de Pequenos Animais, Universidade de Franca – UNIFRAN, Hospital Veterinário, Av. Dr. Armando Salles Oliveira, 201, Parque Universitário, Franca – SP CEP 14.404-600, Fone (16) 3711-8713, *E-mail: (fafesouza@hotmail.com)

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar a circunferência testicular com a qualidade espermática, do sêmen obtido do epidídimo de touros *post-mortem*. Foram avaliados 20 pares de testículos, obtidos em um abatedouro local. No laboratório, a circunferência escrotal foi aferida e, posteriormente, foram medidos os testículos individualmente. A seguir, foi realizado um corte no comprimento maior do testículo, expondo o tecido testicular, do qual se obteve um *imprint* com uma lâmina de vidro. A lâmina foi corada, fixada com lamínula e analisada em microscópio óptico. A cauda do epidídimo foi separada dos testículos e do tecido adjacente e o sêmen foi colhido para avaliação dos parâmetros espermáticos. Após análise dos dados observou-se diferença significativa entre as amostras dos testículos/epidídimos do mesmo touro quanto à porcentagem de espermatogônias, espermatide final, espermatozoides, células de Sertoli e motilidade espermática. A circunferência escrotal não foi correlacionada a nenhuma variável. A principal correlação observada foi entre a média da porcentagem de espermatozoides observada na citologia dos dois testículos do mesmo animal e a somatória da concentração espermática do sêmen colhido do epidídimo ($r = 0,45$; $p = 0,045$). Conclui-se que a porcentagem dos diferentes tipos de células colhidas do testículo ou epidídimo não está relacionada à circunferência escrotal nos bovinos.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, célula-germinativa-testicular, espermatozoide, perímetro-escrotal

CORRELATION OF SCROTAL CIRCUMFERENCE, TESTICULAR CITOLOGY AND PARAMETERS FROM EPIDIDYMAL SEMEN OF BULLS

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the testicular circumference and sperm quality from semen obtained from the epididymis of bull *post-mortem*. We evaluated 20 pairs of testes, obtained from a local slaughterhouse. In the laboratory, scrotal circumference was measured and the testes were measured individually. Thus, testicle was a cut in the longitudinal length, exposing the testicular tissue, which was made an imprint on a glass slide. The slide was stained with the imprint, fixed coverslip and observed under a light microscope. The tail of the epididymis was separated from the testicles and surrounding tissue and semen was collected to evaluate the sperm parameters. The percentage of spermatogonia, late spermatid, spermatozoa, Sertoli cells and sperm motility were statistically different between samples from testes/epididymides of the same bull. There is no correlation between the scrotal circumference and other variables. The main correlation was observed between the mean percentage of spermatozoa from cytology of two testes in same male and the sum of sperm concentration of semen collected from the epididymis ($r = 0.45$, $p = 0.045$). We conclude that the percentage of different types of cells collected from testis or epididymis is not correlated to scrotal circumference in bull.

KEYWORDS: Bovine, scrotal perimeter, sperm, testicular-germinative-cell

INTRODUÇÃO

A reprodução é uma característica importante nos sistemas de produção de bovinos, e pode contribuir para resultados positivos na bovinocultura do país. Em vista disso, o valor reprodutivo é mais importante que a qualidade do produto e o desempenho do crescimento de um bezerro (BARBOSA et al., 2005).

Dentro dos sistemas produtivos, uma das ferramentas para avaliação reprodutiva de machos reprodutores é a biometria testicular, a qual tem a função de avaliar a produção e qualidade espermática. A motilidade, vigor e concentração espermática são parâmetros diretamente relacionados ao tamanho dos testículos. Testículos com tamanho e localização adequada, livres de anormalidades, certamente terão concentração e padrão espermático superior (SILVA et al., 2002).

A circunferência escrotal é precisa e altamente repetitiva quando obtida pelo uso de uma fita flexível (KROKER, 1995; MENEGASSI et al., 2011). O perímetro escrotal apresenta uma herdabilidade entre 0,41 e 0,57 (CYRILLO et al., 2001; ORTIZ et al., 2001). Esta medida está relacionada à quantidade em volume da área ocupada pelo tecido testicular, responsável pela produção de espermatozoides (AMAN, 1962) e hormônios androgênicos (LUNSTRA et al., 1978).

A circunferência escrotal aumenta rapidamente em touros jovens (6 a 16 meses de idade), gradualmente em touros adultos e declina em touros idosos, devido à atrofia senil (ELMORE et al., 1976; COULTER, 1991), sendo 30 cm (< 15 meses), 31 cm (> 15 a 18 meses), 32 cm (>18 a 21 meses), 33 cm (>21 a 24 meses) e 34 cm (>24 meses) (CHENOWETH et al., 1992).

Pode haver certa influência da estação do ano nas medidas da circunferência escrotal, embora AHMAD et al. (2005) não encontraram correlação significativa entre estes parâmetros, apenas menores valores durante o verão, o que foram atribuídos

a uma degeneração térmica dos testículos, descrita por COULTER et al. (1988).

Tal mensuração é correlacionada à idade e raça, podendo ser utilizada como um padrão de seleção de touros (ELER et al., 1996; QUIRINO; BERGMANN, 1997; CYRILLO et al., 2001). Existe grande variação do tamanho dos testículos de touros da mesma idade, dentro de uma raça. Assim, o crescimento escrotal é curvilíneo (sobe rapidamente e depois se mantém estável) e não linear, tendo alta relação com a morfologia espermática ($p < 0,001$), sendo que testículos com circunferências com mais de 32 cm produzem altos índices de células normais (ELMORE et al., 1976). A circunferência escrotal aumenta entre um a dois centímetros, entre dois e três anos de idade para a maioria das raças (MENEGASSI et al., 2011).

Existe uma alta correlação (0,90) entre a circunferência escrotal e o peso testicular (MENEGASSI et al., 2011). Contudo, SILVA et al. (2002) demonstraram que testículos com tamanhos iguais podem produzir sêmen de baixa ou alta motilidade, mas há uma correlação ($r = 0,60$; $p < 0,0001$) entre a circunferência escrotal e a motilidade espermática, por faixa etária, sendo que touros da raça Nelore, até 18 meses de idade, com circunferência escrotal acima de 26 cm apresentaram sêmen de alta motilidade (60 a 80%).

Os mesmos achados são descritos pela *Society for Theriogenology*, que afirma existir uma correlação positiva entre a circunferência escrotal e a produção de sêmen, e uma correlação negativa entre a circunferência escrotal e a idade quando ocorre a puberdade. Uma correlação média tem sido reportada entre a circunferência escrotal e a porcentagem de células morfológicas normais (GUIDELINES, 1993; CHENOWETH et al., 2010).

Além da aferição das medidas testiculares, a avaliação da fertilidade de um macho pode incluir o exame citológico do testículo, o qual avalia a atividade espermatogênica (FORESTA et al., 1992). A citologia testicular é altamente correlacionada (acima de 90%) à histologia dos testículos (ARIDOGAN et al., 2003; HAN et al., 2006).

Em vista correlação entre a circunferência escrotal e a produção espermática, objetivou-se investigar a correlação entre a biometria testicular, a qualidade espermática do sêmen do epidídimo e a frequência das células germinativas testiculares.

MATERIAL E MÉTODOS

Colheita do material

Foram utilizados 20 pares de testículos/epidídimos de touros, colhidos em um abatedouro. Logo após o abate, os testículos/epidídimos foram colocados em sacos plásticos e transportados imediatamente até o Laboratório de Reprodução Animal. Todos os testículos/epidídimos que apresentaram qualquer tipo de alteração (flacidez acentuada, secreção purulenta, assimetria acentuada entre os testículos) foram descartados.

No laboratório, o testículo/epidídimo foi retirado do saco plástico, a circunferência escrotal foi aferida e a bolsa testicular foi separada. As peças foram lavadas com solução fisiológica e a cauda do epidídimo foi isolada do testículo e do tecido conectivo adjacente. O sêmen foi extraído após vários cortes transversais e longitudinais sobre a cauda do epidídimo, com uma lâmina de bisturi. Evitou-se cortar sobre os vasos sanguíneos, para minimizar a contaminação da amostra de sêmen com sangue, segundo recomendado por SOLER et al. (2003) e SANTIAGO-MORENO et al. (2006). O sêmen foi extraído sobre uma placa de Petri, contendo 5,0 mL de solução fisiológica aquecida. Todo procedimento foi realizado sobre uma

placa aquecedora (38°C). Após os cortes sobre o epidídimo, o tecido foi lavado com solução fisiológica (5,0 mL) e a placa de Petri foi vertida num funil contendo um filtro de náilon, específico para sêmen, acoplado a um tubo plástico de 15 mL. O volume total de solução fisiológica, contendo os espermatozoides, foi de 10 mL.

Circunferência Escrotal

A circunferência escrotal foi aferida utilizando uma fita métrica adequada na região média do testículo. Primeiro o par de testículos/epidídeos com a bolsa, e depois o testículo/epidídimo individualmente fora da bolsa (Figura 1).

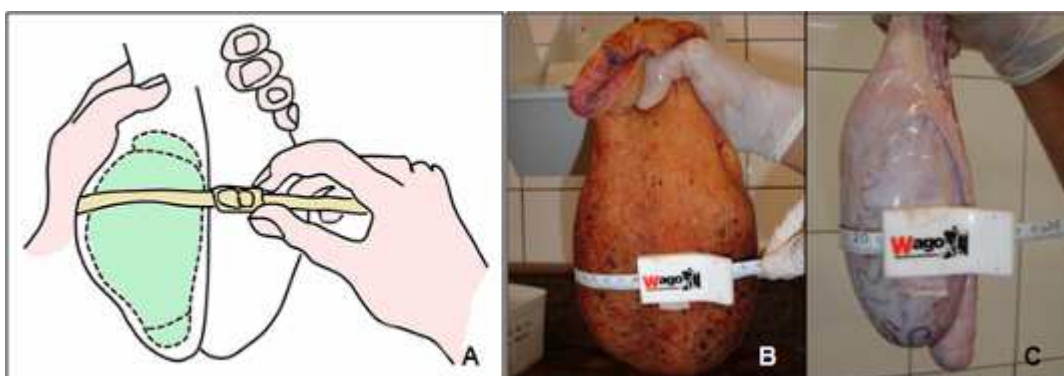


FIGURA 1. Aferição da circunferência escrotal. **A.** Método para aferir a circunferência escrotal em bovinos. **B.** Aferição da circunferência escrotal em peça de bovino *post-mortem*. **C.** Aferição da circunferência do testículo, individualmente, obtida de touro *post-mortem*.

Análise do Sêmen

Imediatamente após a colheita, os parâmetros seminais foram avaliados, de acordo com as características macro e microscópicas.

Cor: observada no tubo após a filtragem do sêmen.

Motilidade e vigor: determinados com uma gota de sêmen colocada sobre uma lâmina aquecida (38–40°C) recoberta por lamínula, com auxílio de microscópio óptico, em um aumento de 100X.

Concentração espermática: foi realizada na câmara de Neubauer espelhada, após a diluição do sêmen na proporção de 1: 100 em formol salina. Os espermatozoides foram contados no microscópio óptico, em um aumento de 400X. O resultado foi expresso em milhões de espermatozoides.

Morfologia espermática: para a avaliação da morfologia espermática foi utilizado o método Karras modificado (PAPA et al., 1986). Uma alíquota de sêmen foi depositada na extremidade de uma lâmina fosca e um esfregaço foi confeccionado. A lâmina foi fixada em metanol (1 passagem) e corada pelo método citado. Foram contadas 200 células, classificadas de acordo com os tipos de defeitos (maiores, menores ou normais), num aumento de 1000X em microscópio óptico. Os valores foram dados em porcentagem de defeitos e células normais.

Integridade de membrana espermática: (coloração supra-vital): uma gota de eosina (eosina amarela 3% em solução fisiológica, HAFEZ, 1995) foi depositada

numa lâmina ao lado de uma gota de sêmen. As gotas foram homogeneizadas e um esfregaço foi confeccionado. A leitura foi realizada em microscópio óptico, num aumento de 400X. As células coradas em vermelho foram consideradas com a membrana lesada (mortas) e as que não se coraram foram consideradas íntegras. O resultado foi dado em porcentagem.

Citologia testicular

Os testículos foram seccionados no sentido longitudinal utilizando uma lâmina de bisturi. A seguir, uma lâmina de vidro foi pressionada sobre o parênquima testicular (*imprint*). As lâminas foram secas ao ar e coradas pelo método Panótico rápido (Laborclin, Pinhais, PR). Então foram mantidas em xilol, por 10 minutos, para evitar a formação de bolhas após a montagem, e então, fixadas com lamínula utilizando Entellan® (Merck do Brasil, São Paulo, SP).

As lâminas foram avaliadas ao microscópio, num aumento de 1000X (imersão) e contados os tipos celulares (espermatogônias, espermatócitos, espermátides, espermatozoides e células de Sertoli). Foram realizadas as leituras de 10 campos/lâmina em sentido de *zig zag*. Os resultados foram expressos em porcentagem, com exceção das células de Sertoli foram contadas separadamente.

Análise estatística

Os dados foram comparados dois a dois pelo teste Mann-Whitney. Os valores foram também submetidos a teste de correlação de Pearson. A análise foi considerada significativa, quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

A leitura das lâminas de citologia testicular foi realizada em todas as peças, tendo sido contadas em média 262,2 células em 10 campos, sendo no mínimo 126 e no máximo 427 células. Foram identificadas todas as gerações de células germinativas, as quais estão representados na Figura 2. As células de Sertoli e células germinativas foram identificadas e contadas, indicando que os touros apresentavam espermatogênese normal. As espermatogônias e espermátides finais foram as células encontradas em maior número.

A Tabela 1 representa a média \pm desvio padrão, valores máximos e mínimos de todas as variáveis estudadas. Foram encontradas diferenças estatísticas entre vários parâmetros avaliados nos dois testículos do mesmo animal.

A análise estatística testou também a correlação entre as variáveis estudadas em cada testículo de um mesmo animal. No testículo 1, a concentração espermática foi correlacionada ao número de espermatozoides encontrados na citologia testicular ($r = 0,45$; $p = 0,048$). No testículo 2, duas correlações foram identificadas, entre a circunferência testicular e a porcentagem de espermatozoides determinada pela citologia ($r = -0,45$; $p = 0,044$) e ao número de células de Sertoli ($r = 0,52$; $p = 0,019$). Quando o teste foi aplicado à média dos dois testículos, verificou-se uma correlação positiva entre a média do número de espermatozoides contados na citologia dos dois testículos e a somatória da concentração espermática ($r = 0,45$; $p = 0,045$).

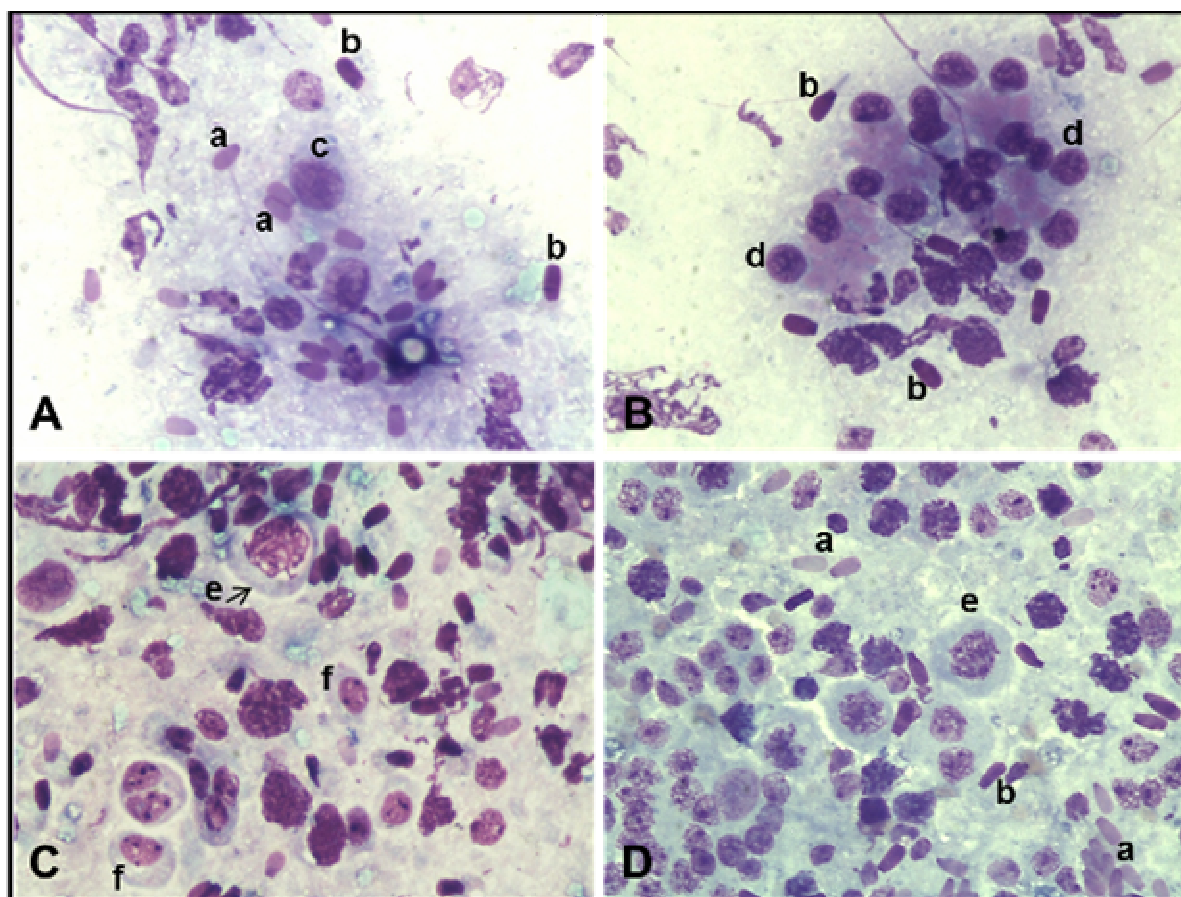


FIGURA 2. Células dos túbulos seminíferos do testículo de touros. **a.** Espermatozoide. **b.** Espermátide final. **c.** Célula de Sertoli. **d.** Espermatogônia. **e.** Espermatócito primário. **f.** Espermátide inicial.

TABELA 1 – Média \pm desvio padrão, valores máximos e mínimos das variáveis estudadas em 20 peças (testículo/epidídimo) de touros.

| Parâmetro | Testículo 1 Média \pm DP | Testículo 1 Máximo - mínimo | Testículo 2 Média \pm DP | Testículo 2 Máximo - mínimo |
|--|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Espermatogônia (%) | 41,9 \pm 8,4 ^a | 59,4 – 23,5 | 35,6 \pm 8,8 ^b | 51,0 – 19,4 |
| Espermatócito primário (%) | 14,3 \pm 6,9 ^a | 30,2 -2,6 | 13,0 \pm 5,7 ^a | 24,5 – 1,5 |
| Espermatócito secundário (%) | 3,0 \pm 3,9 ^a | 14,8 – 0,0 | 1,6 \pm 1,0 ^a | 4,4 – 0,4 |
| Espermátide inicial (%) | 4,0 \pm 3,1 ^a | 12,2 - 0 | 4,4 \pm 3,7 ^a | 13,5 – 0,4 |
| Espermátide final (%) | 30,0 \pm 11,1 ^a | 62,0 – 13,9 | 37,0 \pm 9,7 ^b | 52,7 – 14,2 |
| Espermatozoide (%) | 5,0 \pm 3,3 ^a | 12,7 – 0,6 | 7,2 \pm 4,2 ^b | 19,7 – 1,7 |
| Células em divisão (%) | 1,8 \pm 2,3 ^a | 9,6 -0,0 | 1,1 \pm 1,3 ^a | 3,8 – 0,0 |
| Nº células de Sertoli/100 células germinativas | 19,0 \pm 12,1 ^a | 47,0 – 2,0 | 29,5 \pm 17,1 ^b | 91,0 - 11,0 |
| Circunferência escrotal (cm) | 36,1 \pm 5,1 | 47,0 – 30,0 | 36,1 \pm 5,1 | 47,0 – 30,0 |
| Circunferência testicular (cm) | 20,2 \pm 1,7 ^a | 23,0 – 17,0 | 19,7 \pm 1,4 ^a | 22,0 – 17,0 |
| Concentração espermática (x10 ⁶) | 445,1 \pm 313,6 ^a | 1250,0 – 77,5 | 387,1 \pm 478,7 ^a | 2070,0 – 19,0 |
| Vigor (escore 0 a 5) | 3,8 \pm 0,4 ^{a*} | 4,0 -3,0 | 2,2 \pm 0,9 ^{b*} | 3,0 – 1,0 |
| Motilidade (%) | 76,0 \pm 11,4 ^a | 90,0 – 50,0 | 69,8 \pm 16,8 ^b | 80,0 – 50,0 |
| Integridade da membrana (%) | 83,2 \pm 13,9 ^a | 96,0 – 47,0 | 79,9 \pm 9,4 ^a | 91,0 – 54,0 |

Diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente ($p < 0,05$). * $p < 0,01$

DISCUSSÃO

Disparidade entre os testículos do mesmo macho foi encontrada quanto ao número de alguns tipos celulares, sendo o mesmo observado para motilidade espermática. Admitindo-se que foi utilizada a mesma técnica de extração do sêmen para os dois testículos, supõe ser uma variação verdadeira e não um artefato da técnica. Estes resultados foram diferentes do estudo de SANTOS et al. (2010), que encontraram o mesmo número e tipos celulares na citologia dos testículos de um mesmo cão. Esta diferença pode estar relacionada à espécie, já que GOOVAERTS et al. (2006) mencionam diferenças nos parâmetros espermáticos do sêmen colhido dos epidídimos de um mesmo touro, incluindo a motilidade espermática. Ainda, estes autores não verificaram diferenças entre a integridade da membrana entre os epidídimos do mesmo animal, achado este também encontrado no presente estudo.

Diferente dos achados de SANTOS et al. (2010), as espermatogônias foram as células mais frequentes. Contudo, também se encontrou dificuldade em identificar este tipo celular, não sendo possível a diferenciação dos subtipos. As espermatogônias foram classificadas segundo LEME (2004) como uma célula de citoplasma escasso e basofílico, nucléolo pouco evidente, mas podendo conter mais de um, cromatina com variação de fina a homogênea a densa e filamentosa. As espermátides finais e espermatozoides foram células mais facilmente identificadas, por se tratar de estruturas diferenciadas e alongadas. Os espermatócitos

secundários foram as células encontradas em menor porcentagem no presente trabalho, por se tratar de células com curto período desta fase da divisão meiótica (LEME, 2004; AHAMAD et al., 2010).

A correlação entre o número de espermatozoides contados na citologia testicular e a concentração espermática revelou uma interação temporal entre as células produzidas pelos testículos e aquelas armazenadas no epidídimo, podendo a citologia identificar e definir a aptidão reprodutiva do touro, incluindo o reservatório epididimário. Tal achado tem sido também comprovado por CHAPWANYA et al. (2008), que compararam a avaliação do sêmen, a citologia do epitélio germinativo e a ultrassonografia para definir a aptidão reprodutiva de touros, sendo que a união entre citologia e avaliação do sêmen foram capazes de classificar a fertilidade dos machos.

Não foi determinada correlação entre a circunferência escrotal e a concentração de espermatozoides contidos nos epidídimos, sendo diferente dos resultados descritos pela literatura que afirmam existir correlação entre a circunferência escrotal e a produção espermática (ELER et al., 1996; QUIRINO; BERGMANN, 1997; CYRILLO et al., 2001), a qual poderia ser refletida pelo número de espermatozoides epididimários, já que este é um local de armazenamento das células antes da ejaculação (SETCHELL, 1977). Apesar disto, MORAES et al. (1998) afirmam que o perímetro escrotal não é uma variável importante para classificar touros, de 4 raças diferentes, em aptos e inaptos para reprodução. Apesar disto, uma correlação negativa foi verificada entre a circunferência do testículo e a porcentagem de espermatozoides na citologia testicular e uma correlação positiva com o número de células de Sertoli, achado este que comprova a ausência de valor da circunferência escrotal para indicar a espermatogênese.

A circunferência escrotal variou de 30 a 47 cm, estando de acordo com os valores descritos na literatura (CHENOWETH et al., 1992). A ausência de dados referentes à raça, idade e *status* reprodutivo podem ter interferido na análise estatística, pois a variação da circunferência escrotal já foi correlacionada a estes parâmetros (COULTER et al., 1988; CHENOWETH et al., 1992; ELER et al., 1996; QUIRINO; BERGMANN, 1997; CYRILLO et al., 2001).

De acordo com GOOVAERTS et al. (2006), a maioria das características entre os pares de epidídimo, apresenta um desvio maior de 20% para os valores médios dos parâmetros espermáticos, exceção do peso e volume dos testículos e epidídimos e peso da cauda do epidídimo. Tais parâmetros não foram mensurados no presente estudo, porém a circunferência escrotal e circunferência testicular, parâmetros que avaliam indiretamente o volume e/ou peso, também não foram diferentes entre os testículos do mesmo touro.

Se a capacidade de armazenamento da cauda do epidídimo é de 45 a 70% da produção diária, a qual está entre 12 a 14 bilhões em um touro adulto (SETCHELL, 1977), é possível afirmar, baseado na concentração máxima colhida nos dois epidídimos (aproximadamente $3,4 \times 10^9$ espermatozoides), que foram colhidos aproximadamente 2/3 da concentração mínima descrita por SETCHELL (1977). Sendo assim, estes achados evidenciam que a técnica empregada foi eficiente para a colheita do sêmen podendo ser utilizada em programas de reprodução assistida, incluindo a inseminação artificial

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, concluiu-se o número de espermatozoides avaliados pela citologia testicular pode refletir a concentração espermática da cauda

do epidídimo. Contudo, a correlação entre a biometria testicular e as células encontradas na citologia testicular foi verificada apenas em um dos testículos e não se relacionou ao número de espermatozoides encontrados na cauda do epidídimo, apenas àqueles contidos nos túbulos seminíferos.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio concedido (2009/02025-5).

REFERÊNCIAS

AHAMAD, M. S. U.; CHOWDHURY, B. O.; ZOB AIR, M. Testicular fine needle aspiration male infertility: a review. **Journal of Chittagong Medical College Teachers' Association**, v. 21, n. 1, p. 62-65, 2010.

AHMAD, M.; ASMAT, M. T.; REHMAN, N. Relationship of testicular size and libido to age and season in sahiwal bulls. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 25, n. 2, p. 67-70, 2005.

AMAN, R. P. Reproductive capacity of dairy bulls. IV. Spermatogenesis and testicular germ cell degeneration. **American Journal of Anatomy**, v. 110, n. 1, p. 69-78, 1962.

ARIDOGAN, I. A.; BAYAZIT, Y.; YAMAN, M.; ERSOZ, C.; DORAN, S. Comparison of fine-needle aspiration and open biopsy of testis in sperm retrieval and histopathology diagnosis. **Andrologia**, v. 35, n. 2, p. 121-125, 2003.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. **Circular Técnica da Embrapa Pecuária Sudeste**, v. 41, p. 1-13, 2005.

CHAPWANYA, A.; CALLANAN, J.; LARKIN, H.; KEENAN, L.; VAUGHAN, L. Breeding soundness evaluation of bulls by semen analysis, testicular fine needle aspiration cytology and trans-scrotal ultrasonography. **Irish Veterinary Journal**, v. 61, n. 5, p. 315-318, 2008.

CHENOWETH, P. J.; HOPKINS, F. M.; SPITZER, J. C.; LARSON, R. E. Guidelines for using the bull breeding soundness evaluation form. **Clinical Theriogenology**, v. 2, n. 1, p. 43-50, 2010.

CHENOWETH, P. J.; SPITZER, J. C.; HOPKINS, F. M. A new bull breeding soundness evaluation form. In: ANNUAL MEETING OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, 1992, San Antonio. **Proceedings...** San Antonio: The American College of Theriogenologists, 1992. p. 63-71.

COULTER, G. H. Scrotal circumference – a review. In: ANNUAL MEETING OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, 1991, San Diego. **Proceedings...** San Diego: The American College of Theriogenologists, 1991. p. 113-116.

COULTER, G. H.; SENGER, P. L.; BAILEY, D. R. C. Relationship of scrotal surface temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep

testicular temperature in the ram. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 84, n. 2, p. 417-423, 1988.

CYRILLO, J. N. S. G.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A.; NETO, L. M. B.; MERCADANTE, M. E. Z.; TONHATI, H. Estimativas de tendências e parâmetros genéticos do peso padronizado aos 378 dias de idade, medidas corporais e perímetro escrotal de machos nelore de Sertãozinho, SP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 56-65, 2001.

ELER, J. P.; FERRAZ J. B.; SILVA P. R. Estimação simultânea de parâmetros genéticos para características de importância econômica na raça Nelore, com a utilização de modelos animais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p. 99-101.

ELMORE, R. G.; BIRSCHWAL, C. J.; YOUNGQUIST, R. S. Scrotal circumference measurements in 764 beef bulls. **Theriogenology**, v. 6, n. 5, p. 485-494, 1976.

FORESTA, C.; VAROTTO, A.; SCANDELLARI, C. Assessment of testicular cytology by fine needle aspiration as a diagnostic parameter in the evaluation of the azoospermic subject. **Fertility and Sterility**, v. 57, n. 4, p. 858-865, 1992.

GOOVAERTS, I. G. F.; HOFACK, G. G.; VAN, S. A.; DEWULF, J.; NICHI, M.; KRUIF, A.; BOLS, P. E. J. Evaluation of epididymal semen quality using the Hamilton-Thorne analyser indicates variation between the two caudae epididymides of the same bull. **Theriogenology**, v. 66, n. 2, p. 323-330, 2006.

GUIDELINES for the bull breeding soundness evaluation. Society for Theriogenology, American College of Theriogenologists. Revised 1993.

HAFEZ, E. S. E. Avaliação do sêmen. In: _____. **Reprodução Animal**. 6ª ed. São Paulo: Manole; 1995. p. 411-430.

HAN, U.; ADABAG, A.; KOYBASIOGLU, F.; ONAL, BU. Clinical value of cell count and indices in Testicular Fine needle aspiration cytology in Primary Infertility – Diagnostic Performances compared with histology. **Analytical & Quantitative Cytology & Histology**, v. 28, n. 6, p. 331-336, 2006.

KROKER, G. Soundness of testicles in beef bulls. **Agriculture Notes**, v. 14, p. 1-3, 1995

LEME, D. P. Citologia do epitélio seminífero de carneiros. **Revista Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 2, p. 1-4, 2004.

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 of Animal Science**, v. 46, n. 4, p. 1054-1062, 1978.

MENEGASSI, S. R. O.; BARCELLOS, J. O. J.; PERIPOLLI, V.; PEREIRA, P. R. R.

X.; BORGES, J. B. S.; LAMPERT, V. N. Measurement of scrotal circumference in beef bulls in Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 1, p. 87-93, 2011.

MORAES, J. C. F.; HORN, M. M.; ROSADO JR, A. G. Exame andrológico em touros: qualidade dos indicadores da aptidão reprodutiva em distintos grupos raciais. **Ciência Rural**, v. 28, p. 647-652, 1998.

ORTIZ, P. C. D.; QUEIROZ, S. A.; FRIES, L. A. Estimação de fatores de correção do perímetro escrotal para idade e peso corporal em touros jovens da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 93-100, 2001.

PAPA, F. O.; ALVARENGA, M. A.; BICUDO, S. D.; LOPES, M. D.; RAMIRES, P. R. N. Coloração espermática segundo Karras modificado pelo emprego do Barbatimão (*Sthypnodendrum barbatiman*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOLOGIA CELULAR, 5, 1986, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBBC/SIABC, 1986. p. 86.

QUIRINO, C. R.; BERGMANN, J. A. Herdabilidade do perímetro escrotal ajustado e não ajustado para peso corporal usando modelo animal uni e bivariado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora: **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p. 127-129.

SANTIAGO-MORENO, J.; TOLEDANO, D. A.; PULIDO, P. A.; GÓMEZ-BRUNET, A.; LÓPEZ-SEBASTIÁN, A. Birth of live Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) derived from artificial insemination with epididymal spermatozoa retrieved after death. **Theriogenology**, v. 66, p. 283-291, 2006.

SANTOS, M.; MARCOS, R.; CANIATTI, M. Cytologic study of normal canine testis. **Theriogenology**, v. 73, p. 208-214, 2010.

SETCHELL, B. P. Male reproductive organs and semen. In: COLE, H. H.; CUPPS, P. T. (eds). **Reproduction in Domestic Animals**. New York: Academic Press, 1977. p. 221-249.

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, n. 3, p. 1157-1165, 2002.

SOLER, A. J.; PEREZ-GUZMAN, M. D.; GARDE, J. J. Storage of red deer epididymes for four days at 5°C: effects on sperm motility, viability, and morphological integrity. **Journal of Experimental Zoology**, v. 295, p. 188-199, 2003.