



Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema?

Testicular degeneration: is this a solved problem or a recurring dilemma?

Alexandre Rossetto Garcia

Laboratório de Reprodução Animal, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, Brasil.
Correspondência: alexandre.garcia@embrapa.br

Resumo

O conhecimento do processo de degeneração testicular em touros bovinos é fundamental para a seleção de animais de maior potencial fertilidade. As causas da degeneração testicular nos bovinos são múltiplas, mas em geral a degeneração testicular é observada como uma condição adquirida. Visto que no Brasil a maior parte dos animais de produção é criada em regiões de clima tropical, é quase certo que o estresse calórico seja a principal causa de degeneração testicular nesses animais no país. Por isso, no presente trabalho é descrita a formação normal dos espermatozoides e os eventos que ocorrem em caso de degeneração testicular. Apresenta-se um breve panorama sobre a incidência da degeneração testicular em touros no Brasil. Por fim, é descrito o uso atual da degeneração testicular induzida como elemento chave para se controlar farmacologicamente a contracepção de touros bovinos.

Palavras-chave: Andrologia, touros, desempenho reprodutivo, qualidade seminal.

Abstract

Knowledge of testicular degeneration in bulls is important to identify the more fertile males. Multiple factors are described as causes of testicular degeneration, but generally it is considered as an acquired characteristic. Since the Brazilian herds are raised in tropical climate regions, probably the heat stress is the most relevant cause of testicular degeneration in bovine breeders. Thus, in the present paper the normal spermatogenesis is described, as well the modifications induced during the testicular degeneration. A brief overview of the incidence of testicular degeneration in bulls is also presented. At last, it is briefly described the controlled use of testicular degeneration as keypoint to induce the pharmacological contraception in bovine bulls.

Keywords: Andrology, bulls, reproductive performance, semen quality.

Introdução

Conceitualmente, a degeneração testicular é o conjunto de alterações do parênquima testicular que causam disfunções bioquímicas e variações estruturais nas células da linhagem germinativa, levando o tecido normal a um estado funcional menos ativo. Constitui a principal causa de redução da fertilidade nos machos e acomete touros bovinos, bem como animais de demais espécies.

As causas da degeneração testicular nos bovinos são múltiplas e podem estar relacionadas à ação de agentes infecciosos específicos do sistema reprodutor (Kumi-Diaka, 1980) ou de agentes inespecíficos (Adamu et al., 2007; Kumi-Diaka; Njoku, 1980), fatores nutricionais (Chenoweth et al., 2000), acúmulo excessivo de gordura escrotal (Adeel et al., 2009), lesões vasculares, varicocele (Koivisto et al., 2002), causas medicamentosas (Horn et al., 1999), estresse térmico (Garcia, 2004) e irradiação (Herrid et al., 2013), dentre outras.

Por isso, a degeneração testicular é geralmente observada como condição adquirida, reservados os casos consequentes de base genética, como no(s) testículo(s) retido(s) no criptorquidismo (Marcus et al., 1997), nas alterações gonadais associadas à hipoplasia testicular (Settergren; McEntee, 1992) e a certas síndromes, como, por exemplo, na síndrome do cariótipo 61, XXY (Dunn et al., 1980). A degeneração testicular pode ser manifestar uni ou bilateralmente, sendo temporária ou permanente. A gravidade de sua manifestação depende do tipo, severidade e duração do insulto (Setchell, 1998).

Não existe na literatura científica nacional um levantamento unificado que faça distinção entre as diferentes causas da degeneração testicular em animais mantidos a campo. Porém, uma vez que a maior parte dos animais de produção é criada em regiões onde prevalece o clima tropical, é quase certo que no Brasil as condições de estresse pelo calor assumam posição de principal causa de degeneração testicular nesses animais (Garcia, 2007; Barros et al., 2015).

Histologicamente, a degeneração testicular se manifesta inicialmente por perda e vacuolização das células



germinativas. Conforme o processo avança, a perda de células germinativa se intensifica, com possível acúmulo destas na luz dos túbulos e conseqüente redução na espessura do epitélio seminífero. Em casos mais graves, há perda de todas as células do epitélio germinativo. Ao exame clínico, as alterações de parênquima podem ser notadas por redução do volume testicular e maior flacidez gonadal. Esses achados são acompanhados por alterações no espermograma, que denotam evidente redução na qualidade seminal.

Dentre as características mais afetadas pela degeneração testicular, uma das que mais sofre impacto é a morfologia espermática. Uma vez que a morfologia normal dos espermatozoides é um dos componentes mais importantes para a fertilidade dos touros (Arruda et al., 2015), pode-se inferir que a degeneração testicular é um dos fatores que mais impacta a eficiência reprodutiva de machos bovinos.

Por isso, o objetivo desse trabalho é descrever a formação dos espermatozoides sob condição normal e em caso de degeneração testicular, além de descrever um panorama sobre a incidência desta patologia no Brasil e oferecer uma reflexão sobre o uso da degeneração testicular como elemento chave para contracepção farmacológica de touros bovinos.

Formação dos espermatozoides

A formação dos espermatozoides se dá nos túbulos seminíferos e é chamada de espermatogênese. A espermatogênese é um complexo processo de formação dos espermatozoides a partir de células germinativas pouco diferenciadas, as espermatogônias. Por isso, as células menos diferenciadas estão localizadas na periferia dos túbulos seminíferos, enquanto as células mais maduras posicionam-se próximas à luz (Kudryavtsev et al., 2003). A espermatogênese compreende duas fases distintas: a espermatocitogênese e a espermiogênese. A espermatocitogênese é a fase de formação das espermátides a partir de espermatogônias, enquanto a espermiogênese é fase de diferenciação de espermátides em espermatozóides. A formação dos espermatozoides se inicia com a entrada do macho em puberdade e continua constantemente, independente da frequência de ejaculações, findando com a chegada da senescência reprodutiva.

No epitélio germinativo dos túbulos seminíferos existem duas populações de espermatogônias: as espermatogônias Tipo A e as espermatogônias Tipo B. A população de espermatogônias Tipo A constitui uma população de reserva, cujas células são extremamente resistentes à radiação e injúrias tóxicas. Por sua vez, a população de espermatogônias Tipo B é uma população proliferativa, cujas células são capazes de se dividir para formar os espermátocitos primários.

A espermatocitogênese envolve a divisão mitótica de espermatogônias A1 em células mais diferenciadas, denominadas espermatogônias A2, A3, Intermediárias, B1 e B2. Estas últimas se dividem para originar dois espermátocitos primários, que entram em meiose para formar os espermátocitos secundários e eventualmente espermátides (Aman; Schanbacher, 1983). No touro, o processo de espermatocitogênese divisional, desde espermatogônia até espermátide, leva aproximadamente 45 dias (Garner; Hafez, 2004).

Durante a espermiogênese, as espermátides se diferenciam para originar os espermatozoides (Aman; Schanbacher, 1983). As espermátides são células haploides e, portanto, neste estágio de desenvolvimento não ocorre mais divisão celular, sendo que cada espermátide inicia sua transformação para um espermatozoide. Durante esta transformação, o núcleo das espermátides passa por uma condensação gradual da cromatina (Johansson et al., 2000), o que confere forma alongada ao seu citoplasma e núcleo. As espermátides adquirem um acrossomo sobreposto à cabeça, um flagelo bem desenvolvido, uma peça intermediária ricamente circundada por mitocôndrias e eliminam fragmentos de citoplasma excedente (Garcia, 2004).

Os espermatozóides formados são liberados gradativamente dos túbulos seminíferos para túbulos estreitos, alcançam a *rete testis* e chegam ao epidídimo, onde adquirem motilidade própria e capacidade fecundante como parte de seu processo de maturação. Durante a espermatogênese, a degeneração aleatória de uma célula em particular pode acontecer a qualquer momento, sem comprometer as outras células que permanecem em divisão ou em transformação. Estudos mostram que cerca de 25% das células germinativas normalmente se degeneram durante o transcurso da espermatogênese (Greep, 1976). Os espermatozoides são, então, transportados e armazenados na cauda do epidídimo. Embora o ambiente epididimário seja favorável a sua sobrevivência, estes não são preservados indefinidamente. Os espermatozoides são ejaculados ao final da cópula e aqueles não liberados neste ato são gradualmente eliminados por excreção na urina ou sofrem progressiva senescência e se desintegram (Garner; Hafez, 2004).

Características do sêmen bovino

Denominamos “sêmen” à suspensão celular líquida contendo os espermatozoides e as secreções dos órgãos acessórios do trato genital masculino. A porção fluida dessa suspensão é conhecida como plasma seminal. Os espermatozoides são células flageladas que têm como seus principais componentes químicos os ácidos nucleicos, as proteínas e os lipídeos, além de serem ricos em fósforo, nitrogênio e enxofre. Já a porção fluida seminal apresenta quantidades apreciáveis de ácido ascórbico, aminoácidos, peptídeos, proteínas, lipídeos, ácidos graxos e numerosas enzimas, além de imunoglobulinas da classe A e uma variedade de substâncias



hormonais, como andrógenos, estrógenos, prostaglandinas, hormônio folículo estimulante, hormônio luteinizante, hormônio do crescimento, insulina, glucagon, prolactina, relaxina e encefalinas (Garner; Hafez, 2004).

Em média, o ejaculado de um touro adulto normal apresenta de 5 a 8 mL, com concentração espermática que varia entre 800 milhões a 2 bilhões de células por mL. Estão presentes em um ejaculado de 5 a 15 bilhões de espermatozoides e, desejavelmente, 65 a 95% deles são morfológicamente normais. Para bovinos, o pH seminal normal é de 6,4 a 7,8 e os componentes químicos seminais usuais são: proteínas (6,8g/100mL), frutose (460 a 600mg/100mL), sorbitol (10 a 140mg/100mL), ácido cítrico (620 a 806mg/100mL), inositol (25 a 46mg/100mL), glicerilfosforilcolina (100 a 500mg/100mL), sódio (225 ± 13 mg/100mL), potássio (155 ± 6 mg/100mL), cálcio (40 ± 2 mg/100mL), magnésio ($8 \pm 0,3$ mg/100mL) e cloreto (174 a 320mg/100mL) (Garner; Hafez, 2004).

Durante as análises de sêmen, podem ser encontradas ainda no ejaculado células que não possuem características típicas de espermatozoides. Podem ser células inflamatórias, espermátides degeneradas, células originadas do epitélio prostático, das vesículas seminais ou células de descamação (Johanisson et al., 2000). A presença de células inflamatórias no sêmen interfere com a capacidade fecundante dos espermatozoides (Aitken; Baker, 1995; Wolff, 1995), principalmente devido ao estresse oxidativo.

A complexa migração que envolve as células germinativas da camada basal para a luz do epitélio seminífero frequentemente ocasiona a liberação de algumas células imaturas no ejaculado. Entretanto, em casos de danos aos túbulos seminíferos, as conexões que estruturam ordenadamente o epitélio são desfeitas, resultando na liberação prematura de um número excessivo de células germinativas imaturas (Johanisson et al., 2000), principalmente espermátocitos e espermátides (Gabaldi, 1999). Como a espermatogênese é um evento extremamente delicado, qualquer fator capaz de alterar esse processo resulta na produção de espermatozoides anormais.

Degeneração testicular em bovinos

Nos bovinos, a temperatura interna corporal pode variar normalmente entre 36,7 e 39,1°C, com média de 38,3°C (Anderson, 1988). Para os animais que possuem testículos alojados em escrotos pendulares, dentre eles os touros bovinos, a espermatogênese normal é dependente da manutenção da temperatura testicular até 6 °C mais baixa que a temperatura corpórea. Sabe-se que existe um gradiente de temperatura no escroto e nos testículos, que aumenta quanto mais distante estiver a estrutura relativamente à cavidade abdominal. A temperatura média da superfície escrotal de touros taurinos e compostos é de 30,4 °C no polo dorsal e de 28,8 °C no polo ventral (Kastelic et al., 1995). Essas informações são corroboradas por trabalhos de pesquisa nacionais que apontam 30,5 °C no polo dorsal e de 26,6 °C no polo ventral para touros compostos durante a estação da primavera (Menegassi et al., 2015).

É bem conhecido que o aumento da temperatura testicular diminui a qualidade do sêmen produzido (Waites, 1970). Esse efeito negativo é resultante da degeneração testicular, uma patologia ocasionada, entre muitos fatores, por qualquer processo que determine a elevação da temperatura testicular, como, por exemplo, a dermatite escrotal, o excesso de gordura escrotal, edema, periorquite e elevação da temperatura ambiente com consequente estresse térmico (Nascimento; Santos, 2003). Segundo Skinner e Louw (1966), a temperatura ambiente crítica para prejuízo da espermatogênese está entre 27 e 32 °C, e exposições contínuas a temperaturas excedendo 30 °C podem determinar marcante efeito negativo sobre a produção espermática.

A regulação do desenvolvimento de células germinativas é dada em parte pelo processo de apoptose celular, ou morte celular programada. A apoptose funciona como um mecanismo de remoção de células germinativas danificadas nos túbulos, de modo que estas não avancem no processo de diferenciação até espermatozoides. Esta eliminação seletiva de células germinativas danificadas é usada para salvaguardar o genoma da espécie (Aitken; Baker, 2013).

Clinicamente, a degeneração testicular leva inicialmente à flacidez e discreta diminuição do tamanho dos testículos, sendo que em etapas mais avançadas estes podem tornar-se atrofiados, com tamanho reduzido, fibróticos e com consistência firme à palpação. Histologicamente, nota-se no túbulo seminífero diminuição da espermatogênese devido à morte das células da linhagem germinativa. As espermatogônias apresentam citoplasma vacuolizado e núcleo picnótico, as espermátides se degeneram e há o aparecimento de células gigantes multinucleadas resultantes da fusão de várias espermátides. Alguns túbulos podem mostrar ausência total do epitélio seminífero, membrana basal espessa e hialinizada e proliferação de tecido conjuntivo fibroso, que invade os túbulos em casos mais avançados (Nascimento; Santos, 2003; Van Camp, 1997).

O ejaculado de touros com degeneração testicular mediana apresenta baixa concentração espermática, baixa motilidade e número moderado de células com defeitos morfológicos, como gotas protoplasmáticas proximais, diadema, vacúolos e outros defeitos nucleares (Wenkoff, 1988). Em casos mais severos, além da oligozoospermia e da astenozoospermia, pode ser detectado também aumento no número de espermatozoides com anomalias morfológicas, especialmente com defeitos de peça intermediária e cabeça (Garcia, 2004). A presença de células primordiais da linhagem espermatogênica, células gigantes, medusas ou células germinativas



multinucleadas no ejaculado indica danos severos ao epitélio seminífero (Nascimento; Santos, 2003; Van Camp, 1997). A presença de espermatozoides com formas teratológicas em grande quantidade no ejaculado é um indicativo de espermatogênese severamente prejudicada (Johnson, 1997).

Indicativos de degeneração testicular em touros bovinos no Brasil

Ao exame clínico andrológico, a avaliação da consistência testicular pode ser um dos indicativos da condição do parênquima testicular. Em uma escala de pontos que varia de 1 a 5 (CBRA, 2013), a detecção de tensão superficial e elasticidade nos testículos sugere a possibilidade de gametogênese normal (Vale Filho, 1997). Analogamente, se a consistência for considerada flácida e a causa não for removida, a degeneração se cronifica e há redução do espaço ocupado pelo epitélio tubular e conseqüentemente do tamanho testicular, podendo progredir para quadro de fibrose e atrofia. Nestes casos, distúrbio total na espermatogênese pode ser observado (Van Camp, 1997). Obviamente, o diagnóstico clínico de degeneração testicular não se limita à determinação da tonometria testicular, e depende de avaliação andrológica completa, incluindo o espermiograma.

Quando criados a campo, touros ainda jovens podem exibir redução da consistência do parênquima testicular, sendo esta redução influenciada pelo genótipo. Em avaliação que considerou 640 animais aos 20 e 24 meses, touros Nelore (*Bos indicus*) apresentaram menor circunferência escrotal, porém maior consistência testicular quando comparados com touros cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*), sem, contudo, haver grande diferenças em relação à qualidade seminal (Valentim et al., 2002). Para touros Nelore criados extensivamente, a consistência testicular tende a ser maior nos animais de testículos mais ovalados. Mas esta diferença também não se mostrou importante na predição da qualidade seminal (Dias et al., 2007). Trabalho realizado com avaliação de 1058 touros Nelore, com idade entre 22 e 24 meses, participantes de programa de melhoramento genético da raça, demonstrou que pequena quantidade de touros apresentou problemas na morfologia espermática, sugerindo que a pré-seleção rigorosa dos animais é de grande valia e auxilia no descarte precoce de touros com características biométricas inferiores (Pastore et al., 2008).

Contudo, apesar de touros zebuínos serem mais resistentes que machos de origem europeia quanto à degeneração testicular ocasionada por fatores ambientais, os animais zebuínos não são isentos de apresentarem tal condição. Trabalho realizado no Mato Grosso do Sul com touros Nelore puros de origem, com idade de 30 a 45 meses e criados a pasto, demonstrou que 17,8% dos animais apresentavam quadro de degeneração testicular ao exame andrológico, confirmados por análise histopatológica dos testículos. Os animais com degeneração testicular apresentaram motilidade espermática entre $32,0 \pm 9,1$ e $50,0 \pm 7,6\%$, com frequência de anomalias morfológicas espermáticas superior a 40%, sendo principalmente observados defeitos de cabeça e altos níveis de fragmentação nuclear (Goiozo, 2008). Em animais zebuínos criados a campo, os túbulos seminíferos apresentam maior espessura na porção mais distal dos testículos, evidenciando menor agressão ao tecido espermático e maior atividade espermatogênica nesta região (Ferraz, 2011), o que ressalta a importância do mecanismo de perda de calor por contracorrente para manutenção da temperatura intratesticular em níveis abaixo da temperatura interna corpórea.

A elevação da temperatura e da umidade relativa do ar podem ser fatores sazonais que induzem a redução da qualidade seminal, tanto em touros taurinos como em zebuínos, com aumento na incidência de anomalias na morfologia espermática (Chacur et al., 2014). Em estudo realizado em região de tipo climático tropical de altitude e que considerou como variáveis de resposta apenas os parâmetros espermáticos, touros Nelore apresentaram reduzidas porcentagens de defeitos espermáticos maiores quando comparados a touros Holandês e Gir durante a estação chuvosa (Oliveira et al., 2006).

O lado útil da degeneração testicular

Mas será que a degeneração testicular é sempre negativa? Do ponto de vista da prolificidade animal sim. Contudo, seus efeitos na redução e eventual supressão da capacidade multiplicadora dos animais têm sido perseguidos pela indústria farmacêutica.

Décadas atrás, o ácido láctico em concentração de 88% foi utilizado para promover a castração química de machos leiteiros jovens por meio de inoculação intratesticular, com taxas de inativação testicular bilateral que alcançaram 75% (Hill et al., 1985). Bezerros de corte que receberam aplicação de ácido láctico demonstraram regressão testicular, após quadro instalado de degeneração, necrose tecidual e fibrose, com 82% de eficiência. Os indivíduos foram acompanhados até a idade adulta, sendo que a capacidade esteroidogênica foi suprimida, mas os animais mantiveram a libido. Contudo, seu uso se mostrou doloroso no momento da aplicação, havia considerável formação de edemas e o tempo de recuperação era maior que o requerido para castrações cirúrgicas (Fordyce et al., 1999), o que pode ter inibido a difusão da tecnologia.

Modernamente, outros compostos químicos têm sido usados para induzir a degeneração testicular crônica e provocar esterilização de bovinos. O acetato de zinco tem sido empregado em duas doses (57,75 ou 71,75 mg) em animais de 5 e 6 meses de idade. Ambas doses reduzem significativamente o diâmetro dos



testículos ao longo do tempo, em função da degeneração testicular induzida após o tratamento, mas com esterilização efetiva de 57,9% dos animais tratados (Cavaliere et al., 2015).

O cloreto de sódio na concentração de 20% tem sido usado em injeções intratesticulares em bezerros de até 20 dias de idade, sem manifestação dolorosa significativa. Como resposta, ocorre fibrose testicular, substituição do parênquima por tecido conectivo denso e necrose dos túbulos seminíferos. Seu uso ocasiona apenas uma leve reação no momento da inserção da agulha na pele escrotal, com restabelecimento do cortisol sérico a níveis fisiológicos anteriormente a bezerros castrados cirurgicamente (Oliveira et al., 2017). Por isso, métodos químicos que sejam capazes de induzir degeneração testicular permanente e esterilidade de modo indolor poderão, em breve, constituir uma alternativa à castração cirúrgica, reduzir o desconforto animal e ser aceitos pelos consumidores modernos, os quais exigem o bem-estar animal como premissa para consumo.

Considerações Finais

Os primeiros trabalhos com degeneração testicular em animais datam do Século XX (Fukui, 1923) e, por isso, nota-se que este não é um tema novo na Andrologia Animal. Apesar de ser estudado nos animais há quase cem anos, é um assunto que está longe de estar esgotado.

Dia após dia, surgem novas formas de explorar a fisiopatologia da degeneração testicular. Moderníssimas técnicas analíticas, não abordadas neste texto, permitem a criação de estratégias para diagnósticos gradualmente mais acurados. O desenvolvimento de novos fármacos e a manipulação nanotecnológica nos permitem arquitetar possibilidades terapêuticas há pouco inimagináveis. Por sua vez, o desenvolvimento da pecuária de precisão amplia nossa capacidade de monitoramento animal em tempo real e tem se tornado grande aliado nas práticas que visam à manutenção da saúde dos reprodutores bovinos.

Sem perder de vista esta dinâmica futurista já em curso, cabe-nos debruçar no desenvolvimento dessas novas tecnologias, que em muito ampliarão os horizontes. Contudo, devemos também dominar a fundo o conhecimento já desenvolvido na Andrologia Animal e perceber que a degeneração testicular, ainda hoje, é um problema que assola grande parte das propriedades de criação de bovinos no Brasil.

Referências

- Adamu S, Fatihu MY, Useh NM, Mamman M, Sekoni VO, Esievo KA.** Sequential testicular and epididymal damage in Zebu bulls experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Vet Parasitol.*, v.143(1), p.29-34, 2007.
- Adeel M, Ijaz A, Aleem M, Rehman H, Yousaf MS, Jabbar MA.** Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) through supplementation of fat. *Theriogenology* v.71, p.1220-1225, 2009.
- Aitken RJ, Baker HWG.** Seminal leukocytes: passengers terrorists or good samaritans? *Human Reproduction*, v.10, p.1736-739, 1995.
- Aitken RJ, Baker MA.** Causes and consequences of apoptosis in spermatozoa; contributions to infertility and impacts on development. *Int. J. Dev. Biol.*, v.57, p.265-272, 2013.
- Amann RP, Schanbacher BD.** Physiology of male reproduction. *Journal of Animal Science*, v.57, S2, p.380-403, 1983.
- Anderson BE.** Regulação da temperatura e fisiologia ambiental. In: Swenson MJ (Ed.). *Dukes: fisiologia dos animais domésticos*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. cap. 45. p. 623-629.
- Arruda RP, Celeghini ECC, Garcia AR, Santos GDC, Leite TG, Oliveira LZ, Lançoni R, Rodrigues MP.** Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade [Bull sperm morphology: interpretation and impact on fertility. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.39, n.1, p.47-60, 2015
- Barros DV, Silva LKX, Lourenço Junior JB, Silva AOA, Silva AGM, Franco IM, Oliveira CMC, Tholon P, Martorano LG, Garcia AR.** Evaluation of thermal comfort, physiological, hematological, and seminal features of buffalo bulls in an artificial insemination station in a tropical environment. *Tropical Animal Health and Production*, v.47, p.805-813, 2015.
- Blanchard TL, Varner DD, Bretzlaff KN, Elmore RG.** The causes and pathologic changes of testicular degeneration in large animals. *Vet Med*, v.86, p.531-536, 1991.
- Cavaliere J, Wang M, Johnson L.** Chemical sterilisation of *Bos indicus* bull calves following intratesticular injection of zinc acetate: effects on semen quality and testicular changes. *Anim Reprod Sci.*, v.156, p.23-33, 2015.
- CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal.**, 2013. Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal, 3 ed, Belo Horizonte, 104p.
- Chacur MGM, Reis JDA, Tavares LS, Sanches K, Guaberto L, Alves VC, Oba E, Ramos AA.** Influência das épocas do ano na morfometria testicular e epididimária, características do sêmen e proteínas do sêmen em SDS-PAGE em zebus e taurinos. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.42, p:1174, 2014.
- Chenoweth PJ, Chase CC Jr, Risco CA, Larsen RE.** Characterization of gossypol-induced sperm abnormalities in bulls. *Theriogenology*, v.53(5), p.1193-1203, 2000.



- Dias JC, Andrade VJ, Vale Filho VR, Silva MA.** Biometria testicular e aspectos andrológicos de touros Nelore (*Bos taurus indicus*), de dois e três anos de idade, criados extensivamente. *Veterinária Notícias*, v.13, p.31-37, 2007.
- Ferraz HT.** Histomorfometria testicular e sua associação com a qualidade seminal em machos Nelore. 2011. 80f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2011.
- Dunn HO, Lein DH, McEntee K.** Testicular hypoplasia in a Hereford bull with 61,XXY karyotype: the bovine counterpart of human Klinefelter's syndrome. *Cornell Vet.*, v.70(2), p.137-146, 1980.
- Fordyce G, Hodge PB, Beaman NJ, Laing AR, Campero C, Shepherd RK.** An evaluation of calf castration by intra-testicular injection of a lactic acid solution. *Aust Vet J.*, v.66(9), p.272-276, 1989.
- Fukui N.** Action of body temperature on the testicle. *Jap Med World.* v.3, p.160-163, 1923.
- Gabaldi SH.** Alterações espermáticas e dos níveis plasmáticos de testosterona e cortisol em touros da raça Nelore submetidos à insulação escrotal. 1999, 85 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 1999.
- Garcia AR.** Efeitos do estresse térmico testicular e do uso da somatotropina recombinante bovina nas características seminais, integridade de membranas, função mitocondrial e estrutura da cromatina de espermatozoides de touros Simental (*Bos taurus taurus*). 2004. 258f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2004
- Garcia AR.** Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). *Revista de Ciências Agrárias*, v.45, p.1-13. 2007.
- Garner DL, Hafez ESE.** Espermatozoides e plasma seminal. In: Hafez ESSE, Hafez B. (Eds.). *Reprodução animal*. Barueri: Manole, 2004. p.97-110.
- Goiozo PFI.** Influência das alterações testiculares diagnosticadas pela histopatologia sobre as características biométricas, morfométricas e seminais em touros da raça Nelore. 2008. 57p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2008.
- Greep PO.** The male reproductive system. In: Greep RO; Koblinksky MA; Jaffe FS (Ed.). *Reproduction and human welfare*. Cambridge: MIT Press, 1976. p.165-277.
- Herrid M, Davey R, Stockwell S, Schmoelzl S, Uphill G, Poirier V, Hope M, Hill JR, Holland MK, Lehnert SA.** Depletion of testis cell populations in pre-pubertal *Bos indicus* cattle by irradiation. *Anim Reprod Sci.*, v.141(3-4), p.124-130, 2013.
- Hill GM, Neville WE Jr, Richardson KL, Utley PR, Stewart RL.** Castration method and progesterone-estradiol implant effects on growth rate of suckling calves. *J Dairy Sci.*, v.68(11), p.3059-3061, 1985.
- Horn MM, Moraes JCF, Galina CS.** Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por dexametasona. *Ciência Rural*, v.29, n.3, p.523-526, 1999.
- Johanissov E, Campana A, Luthi R, Agostini A.** Evaluation of "round cells" in semen analysis: a comparative study. *Human Reproduction Update*, v.6, n.4, p.404-412, 2000.
- Johnson WH.** The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.13, n.2, p.255-270, 1997.
- Kastelic JP, Coulter GH, Cook RB.** Scrotal surface, scutaneous, intratesticular, and intraepididymal temperatures in bulls. *Theriogenology*, v.44, p.147-152, 1995.
- Koivisto MB, Luvizotto MCR, Nogueira GP, Vicente WRR, Costa, MTA.** Testosterone concentration in a bovine *Bos indicus* with bilateral varicocele: case report. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.39(1), p.27-31, 2002.
- Kudryavtsev, IV, Safronova LD, Kudryavtsev PI.** Genetic control of spermatogenesis and sex determination in mammals. *Russian Journal of Developmental Biology*, v.34, n.6, p.337-346, 2003.
- Kumi-Diaka J, Njoku CO.** Effect of scrotal streptothricosis on spermatogenesis in the bull. *Vet Rec.*, v.107(23), p.525-527, 1980.
- Marcus S, Shore LS, Perl S, Bar-el M, Shemesh M.** Infertility in a cryptorchid bull: A case report. *Theriogenology*, v.48(3), p.341-352, 1997.
- Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA., Koetz Jr C, Pereira GR, Peripolli V, McManus C, Canozzi MEA, Lopes FG.** Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *Int. J. Biometeorol.*, v.59, p.357-364, 2015.
- Nascimento EF, Santos RL.** Patologia da reprodução dos animais domésticos. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 93-104.
- Oliveira FC, Ferreira CER, Haas CS, Oliveira LG, Mondadori RG, Schneider A, Rovani MT, Gonçalves PBD, Vieira AD, Gasperin BG, Lucia Jr. T.** Chemical castration in cattle with intratesticular injection of sodium chloride: Effects on stress and inflammatory markers, *Theriogenology*, v.90, p.114-119, 2017.
- Oliveira KM, Duarte AM, Nascimento MRBM, Diniz EG, Tavares M, Vieira RC.** Influência das estações seca e chuvosa sobre as características seminais de touros das raças Nelore, Gir e Holandês criados a pasto. *Veterinária Notícias*, v.12, n.2, p.145-151, 2006.
- Pastore AA, Toniollo GH, Lôbo RB, Fernandes MB, Vozzi PA, Vila RA, Galerani MAV, Elias FP, Cardilli**



- DJ.** Características biométricas, testiculares, seminais e parâmetros genéticos de touros pertencentes ao programa de melhoramento genético da raça Nelore. *ARS Veterinaria*, v.24, n.2, p.134-141, 2008.
- Setchell BP.** The Parkes Lecture. Heat and the testis. *J Reprod Fertil*, v.114(2), p.179-194, 1998.
- Settergren I, McEntee K.** Germ cell weakness as a cause of testicular hypoplasia in bulls. *Acta Vet Scand.*, v.33(4), p.273-282, 1992.
- Skinner JD, Louw GN.** Heat stress and spermatogenesis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Journal of Applied Physiology*, v.21, n.2, p.1784-1790, 1966.
- Vale Filho VR.** Andrologia no touro: avaliação genital, exame do sêmen e classificação por pontos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, n.3, p.7-13, 1997.
- Valentim R, Arruda RP, Barnabe RC, Alencar MM.** Biometria testicular de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) e touros cruzados Nelore-europeu (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) aos 20 e 24 meses de idade. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.39, n.3, p.113-120, 2002.
- Van Camp SD.** Common causes of infertility in the bull. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.13, n.2, p.203-231, 1997.
- Waites GMH.** Temperature regulation and the testis. In: Johnson AD, Gomes WR, Vandermark NL. (Eds.). *The testis*. Nova Iorque: Academic Press, 1970. p.241-279.
- Wenkoff MS.** The evaluation of bulls for breeding soundness. Ontário: Canadian Veterinarian Medical Association, 1988. 48 p.
- Wolff H.** The biological significance of white blood cells in semen. *Fertility and Sterility*, v.63, p.1143-1154, 1995.
-