

INFLUÊNCIA DA BIPARTIÇÃO ESCROTAL SOBRE A CAPACIDADE DE TERMORREGULAÇÃO E HEMODINÂMICA TESTICULAR EM CAPRINOS

Karoline Maria Gil Braz¹
Carolina de Oliveira Ghirelli²
Karine Ávila Bosco²
Carlos Ramires Neto³
Nicole Flavio²
Daniele Campos do Nascimento²
Cristiano Silva Ferreira¹
Kleber da Cunha Peixoto Jr.⁴
André Maciel Crespilho⁴

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a influência da bipartição escrotal sobre a capacidade de termorregulação do testículo caprino, testando-se a hipótese de que animais com bipartição possuem menor temperatura testicular, maior capacidade hemodinâmica local, maior número de células germinativas e maior produção espermática. Foram selecionados 8 bodes, divididos de acordo com a conformação escrotal: G1 (n=4) animais com até 50% de bipartição; GC (n=4) grupo controle, sem bipartição. Todos foram submetidos à mensuração da temperatura retal, termografia corporal e escrotal. Exames ultrassonográficos Doppler foram conduzidos no plexo pampiniforme. Adicionalmente os animais foram submetidos à punção biópsia aspirativa testicular (PBA) e 2 ejaculados de cada reprodutor foram colhidos para avaliação espermática. Não foram observadas diferenças para os resultados da PBA, da termografia escrotal e do espermograma comparando-se os dois grupos. Na avaliação hemodinâmica apenas o IR ($0,53^a \pm 0,11$ e $0,46^b \pm 0,06$; $p=0,0108$) foi superior para os animais bipartidos. Conclui-se que caprinos que possuem até 50% de bipartição escrotal possuem qualidade espermática semelhante a animais não bipartidos, não possuem menor temperatura testicular e maior número de células germinativas primordiais como se supunha na hipótese inicial da pesquisa.

Palavras-chave: bipartição, caprinos, termografia, termorregulação, ultrassonografia.

INFLUENCE OF BIPARTITE SCROTUM ON THE THERMOREGULATORY AND HEMODYNAMIC TESTICULAR CAPACITY IN MALE GOATS

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of the bipartition of the scrotum on the thermoregulatory capacity of the goat testicle, testing the hypothesis that bucks with bipartition of the scrotum have minor testicular temperature, greater local hemodynamic capacity, more germ cells and higher sperm production capacity. Eight male goats were used and divided according to the conformation of the scrotum: G1 (n=4) animals with scrotal bipartition below 50%; CG (n=4) control group without scrotal bipartition. All the animals were submitted to the evaluation of rectal temperature and scrotal and body surface thermography. Doppler

¹ Discente do Programa de Mestrado em Medicina e Bem-Estar Animal, Universidade Santo Amaro – UNISA, São Paulo, SP.

² Curso de Medicina Veterinária, Universidade Santo Amaro – UNISA, São Paulo, SP.

³ Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu, SP.

⁴ Docente Permanente do Programa de Mestrado em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal, Universidade Santo Amaro – UNISA, São Paulo, SP.

ultrasonography held at the spermatic cord region was performed. In addition, the animals underwent fine needle aspiration testicular cytology (FNAC) and two ejaculates from each buck were collected. There were no significant differences between G1 and GC for FNAC and for testicular thermography. On the hemodynamics evaluation the IR was higher for the animals with scrotal bipartition than to control group ($0.53^a \pm 0.11$ and $0.46^b \pm 0.06$; $P=0.0108$). In conclusion, goats up to 50% of the scrotum bipartition have the same sperm quality than the control group, and the bipartition was not related to more efficiency on the thermoregulation process or number of testicular primordial cells in this study.

Keywords: bipartition, bucks, thermography, thermoregulation, ultrasonography.

INFLUENCIA DE LA BIPARTICIÓN ESCROTAL SOBRE LA CAPACIDAD DE TERMORREGULACIÓN Y HEMODINÁMICA TESTICULAR EN CAPRINOS

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la influencia de la bipartición escrotal sobre la capacidad de termorregulación del testículo caprino, probándose la hipótesis de que animales con bipartición tienen menor temperatura testicular, mayor capacidad hemodinámica local, mayor número de células germinativas y mayor producción espermática. Se seleccionaron 8 machos, divididos de acuerdo con la conformación escrotal: G1 (n=4) animales con hasta 50% de bipartición; GC (n=4) grupo de control, sin bipartición. Todos ellos fueron sometidos a la medición de la temperatura rectal, termografía corporal y escrotal. Los exámenes ultrasonográficos Doppler se realizaron en el plexo pampiniforme. Adicionalmente los animales fueron sometidos a la punción biopsia aspirativa testicular (PBA) y 2 eyaculaciones de cada reproductor fueron cosechados para evaluación espermática. No se observaron diferencias para los resultados de la PBA, de la termografía escrotal y del espermograma comparando los dos grupos. En la evaluación hemodinámica sólo el IR ($0,53a \pm 0,11$ y $0,46b \pm 0,06$, $p = 0,0108$) fue superior para los animales bipartidos. Se concluye que los caprinos que tienen hasta 50% de bipartición escrotal tienen calidad espermática similares a animales no bipartidos, no tienen menor temperatura testicular y mayor número de células germinativas primordiales como se suponía en la hipótesis inicial de la investigación.

Palabras clave: bipartición, caprinos, termografía, termorregulación, ultrasonografía.

INTRODUÇÃO

Diferente dos demais compartimentos orgânicos, os testículos possuem mecanismos próprios de adaptação que são imprescindíveis para garantir menores temperaturas intratesticulares em relação à temperatura corpórea (1). A temperatura intratesticular é cerca de 2°C a 6°C inferior à corpórea, garantindo um ambiente ideal para a ocorrência da espermatogênese (2).

Diversos fatores contribuem para a termorregulação testicular, como a espessura da pele do escroto (naturalmente fina e com pouca cobertura pilosa), a presença do músculo cremaster e da túnica dartos que afastam ou aproximam os testículos do corpo para adequação da temperatura local, além do mecanismo de troca de calor passiva por contracorrente (3).

Além disso, características morfológicas como pendulosidade e bipartição escrotal, condições que respectivamente afetam a distância dos testículos em relação ao abdome e o grau de exposição testicular ao ambiente, podem exercer influência sobre a qualidade espermática (4). Nunes et al. (5) relataram a ocorrência de escroto bipartido em caprinos no Nordeste do

Brasil e, segundo os autores, essa característica pode garantir maior dissipação de calor local, representando uma importante adaptação para promoção de termorregulação testicular na espécie.

Uma das maneiras de se estudar o impacto da temperatura sobre a espermatogênese representa a análise citológica testicular a partir de punção biópsia aspirativa (PBA), recurso que permite a obtenção de material celular diretamente do testículo, sem a necessidade de coleta do sêmen (6). Outra ferramenta mais recentemente proposta para avaliação andrológica é a ultrassonografia Doppler, técnica que gera informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e aspectos hemodinâmicos relacionados à velocidade do sangue que passa pelas artérias e veias testiculares (7).

Além disso, outra técnica importante e que tem contribuído para o melhor entendimento do processo de termorregulação testicular representa o exame termográfico. De acordo com Gabor et al. (8) a termografia infravermelha representa uma técnica útil para prever o percentual de espermatozoides viáveis em uma amostra de sêmen, representando, portanto, uma valiosa ferramenta para avaliação andrológica de ruminantes.

Essa pesquisa teve por objetivo avaliar diferentes aspectos relacionados à temperatura, hemodinâmica e qualidade seminal de caprinos portadores de escroto bipartido, testando-se a hipótese de que animais com bipartição possuem menor temperatura e maior capacidade hemodinâmica local, maior número de células germinativas primordiais e, portanto, maior capacidade de produção espermática.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (CEUA-UNISA, São Paulo, Brasil; parecer n. 12/2014). Para o estudo foram selecionados 8 bodes adultos da raça Anglo Nubiana com idade entre 1,5 e 3 anos. Todos os reprodutores foram submetidos à exame clínico geral e reprodutivo atestando plenas condições de saúde. Os animais foram divididos em 2 grupos, de acordo com a conformação dos testículos: G1 (n=4) animais com até 50% de bipartição escrotal; GC (n=4) grupo controle, sem bipartição escrotal (Figura 1).



Figura 1. A) Reprodutor com bipartição escrotal perfazendo menos de 50% do comprimento efetivo do testículo. B) Reprodutor com bolsa escrotal ovalada, sem a presença de bipartição.

Todos os reprodutores foram submetidos à mensuração da temperatura retal (TR) utilizando-se termômetro digital. A temperatura testicular (TT) e de superfície corporal (TSC) foram realizadas com termógrafo infravermelho (InfraCam[®], Flir Systems Inc., Boston, MA, USA), de acordo com Ramires Neto et al. (3). As avaliações térmicas foram conduzidas em

triplicata em dias consecutivos, sempre no período da manhã em virtude de condições climáticas mais amenas. Para realizar as mensurações, a câmera de infravermelho foi posicionada cerca 1,0 metro de cada testículo, mantendo-se os animais em estação. Cada imagem foi armazenada para análise pelo software Therma CAM QuickReport® (Boston, MA, USA). Para avaliação da capacidade de termorregulação foi considerada a média da temperatura mensurada no polo caudal, no ápice e no centro de cada testículo avaliado individualmente (Figura 2).

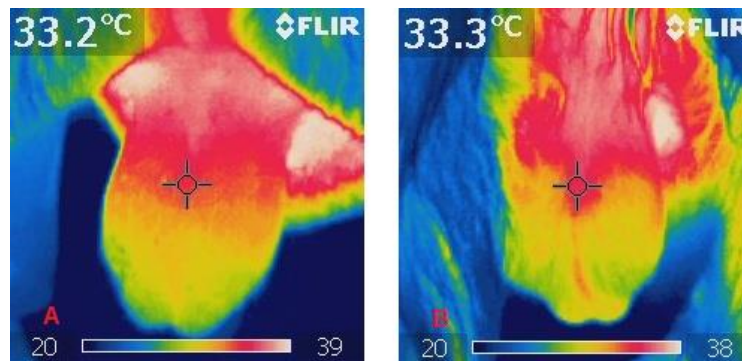


Figura 2. Exame termográfico do testículo caprino. A: TT da região central da gônada de um animal portador de bipartição testicular (G1); B: exame termográfico de caprino pertencente ao grupo controle (GC), com avaliação da temperatura na região centro-testicular.

Avaliações ultrassonográficas foram conduzidas em triplicata na região do cordão espermático de cada testículo utilizando-se equipamento Aloka® color Doppler SSD 2200 (Nagoya, Japão). Cada bode foi contido em estação e após a aplicação de gel acústico, um transdutor convexo de 5,0 MHz foi posicionado caudalmente na região central do plexo pampiniforme de cada testículo. O modo Doppler colorido pulsado foi utilizado para determinação da velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF), velocidade média (VM), índice de resistência (IR; $IR = VPS - VDF / VPS$) e índice de pulsatilidade (IP; $IP = VPS - VDF / VM$), de acordo com Schurich et al. (9).

Punções biópsias aspirativas (PBAs) testiculares foram conduzidas de acordo com Leme e Papa (10). Após antissepsia do escroto com iodo povidine (Riodeíne®, São José do Rio Preto, SP, Brasil) foram conduzidas as PBAs sempre no testículo direito de cada reprodutor, pela introdução de agulhas 25x7 acopladas a seringas descartáveis de 10 mL, perpendicularmente ao parênquima testicular de cada animal. O conteúdo de cada aspirado testicular foi utilizado para a confecção de no mínimo 2 esfregaços em lâminas foscas de vidro, posteriormente coradas com Giemsa de acordo com Bastos et al. (11). Para avaliação dos esfregaços, as células da linhagem espermatogênica foram classificadas em espermatogônias, espermátocitos primários, secundários, espermátides iniciais, espermátides finais (células na fase de alongamento durante a espermiogênese), espermatozoides e células de Sertoli, de acordo com Leme e Papa(10). Para cada esfregaço foram contabilizadas 200 células (Figura 3).

Adicionalmente foram coletados com intervalo de 3 dias consecutivos 2 ejaculados de cada reprodutor (n=16 amostras) utilizando-se de vagina artificial própria para a espécie, que foram submetidos à avaliação subjetiva de motilidade total, concentração e vigor espermático no ato da colheita.

Os resultados obtidos foram analisados por programa computacional SAS (SAS Institute Inc., Cary, USA), sendo primeiramente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (Proc-Univariate) e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo Teste Qui-Quadrado (Comando SPEC do Proc GLM). Os resultados da temperatura testicular média,

perfil hemodinâmico local, percentual de células espermatozoides e qualidade do sêmen fresco foram comparados entre os dois grupos experimentais por meio de modelo linear geral de análise de variância (Proc GLM). Diferenças foram consideradas quando $p < 0,05$.

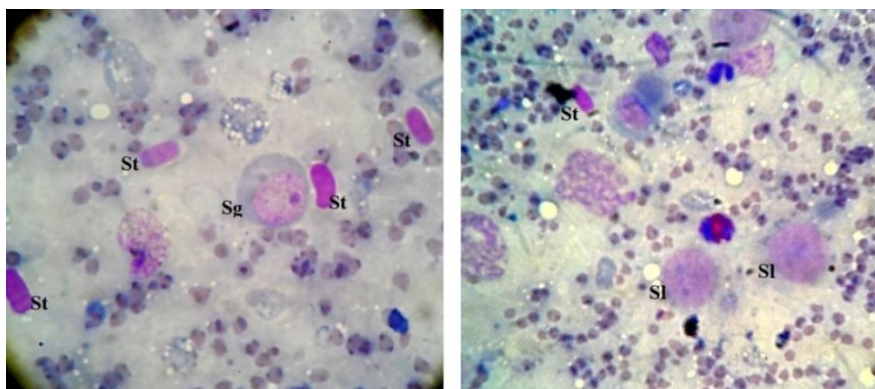


Figura 3. Exemplo de esfregaços obtidos a partir da PBA testicular de caprinos, onde St: espermátides finais; Sg: Espermatozônias; e Sl: Células de Sertoli.

RESULTADOS

Não foram observadas diferenças para nenhum dos parâmetros do espermograma quando comparados os animais do G1 em relação ao GC (Tabela 1).

Tabela 1. Média (\pm SD) para os diferentes parâmetros avaliados no espermograma de animais do G1 (caprinos com bipartição do escroto) ou GC (grupo controle sem bipartição).

Parâmetros	G1	GC
Volume (ml)	1,0 \pm 0,33	1,0 \pm 0,26
Motilidade (0 a 100%)	75,0 \pm 1,0	75,0 \pm 1,0
Vigor (0 a 5)	3,75 \pm 1,0	4,0 \pm 0,75
Concentração total ejaculado ($\times 10^9$)	4,60 \pm 1,16	4,75 \pm 0,77

^{a,b}Letras diferentes na mesma linha indicam as diferenças estatísticas encontradas ($p < 0,05$).

Na avaliação termográfica não foram observadas diferenças na temperatura testicular dos animais do G1 em relação ao GC (32,61 \pm 0,59^a e 32,19 \pm 0,65^a, respectivamente; $p = 0,7679$).

Tabela 2. Resultados médios (\pm SD) da TT (temperatura testicular) e da TSC (temperatura de superfície corporal) avaliados por exame termográfico, e da TR (temperatura retal) aferida com auxílio de termômetro digital, de acordo com cada grupo experimental.

Parâmetros	G1	GC
TT (°C)	32,61 \pm 0,59	32,19 \pm 0,65
TSC (°C)	35,40 \pm 1,02	35,17 \pm 1,29
TR (°C)	39,55 \pm 0,44	39,27 \pm 0,22

^{a,b}Letras diferentes na mesma linha indicam as diferenças estatísticas encontradas ($p < 0,05$). Onde, G1: animais com bipartição escrotal; GC: grupo controle sem bipartição.

Nas PBAs foram identificadas todas as linhagens de células germinativas. No entanto, não foram observadas diferenças para o percentual médio de nenhuma das células de linhagem espermatogênica quando comparados o G1 em relação ao GC (Tabela 3). As espermátides finais representaram o tipo celular mais prevalente, independente do grupo experimental.

Na avaliação hemodinâmica, a VDF foi semelhante entre G1 e GC ($p=0,1315$), tal como o IP ($p=0,6287$) e a VPS ($p=0,6335$). No entanto, o IR foi superior para os animais bipartidos em relação ao GC ($0,53\pm 0,11^a$ e $0,46\pm 0,06^b$ respectivamente; $p=0,0108$), de acordo com a Tabela 4.

Tabela 3. Percentual médio (\pm SD) de células germinativas testiculares e células de Sertoli obtidas por PBAs testiculares de animais do G1e do GC.

Classificação celular	G1	GC
Espermatogônias (%)	9,56 \pm 2,44	9,69 \pm 2,15
Espermatócitos I (%)	24,60 \pm 4,95	19,88 \pm 5,00
Espermatócitos II (%)	1,13 \pm 1,15	0,31 \pm 0,59
Espermátides Iniciais (%)	2,88 \pm 0,44	2,56 \pm 0,77
Espermátides Finais (%)	48,81 \pm 8,51	54,38 \pm 4,62
Espermatozoides (%)	0,31 \pm 0,59	0 \pm 0
Células de Sertoli (%)	13,35 \pm 3,26	14,50 \pm 2,59

^{a,b}Letras diferentes na mesma linha indicam as diferenças estatísticas encontradas ($p<0,05$). Onde, G1: animais com bipartição escrotal; GC: grupo controle sem bipartição.

Tabela 4. Resultados médios (\pm SD) da VDF (velocidade diastólica final), VPS (velocidade de pico sistólico), IR (índice de resistência) e IP (índice de pulsatilidade) encontrados na avaliação Doppler do funículo espermático de bodes apresentando (G1) ou não (GC) bipartição de bolsa escrotal.

Parâmetros	G1	GC
VDF (cm/s)	7,26 \pm 1,29	8,24 \pm 1,75
VPS (cm/s)	15,80 \pm 2,60	15,20 \pm 1,88
IR	0,53 ^a \pm 0,11	0,46 ^b \pm 0,06
IP	0,89 \pm 0,24	0,80 \pm 0,32

^{a,b}Letras diferentes na mesma linha indicam as diferenças estatísticas encontradas ($p<0,05$). Onde, G1: animais com bipartição do escroto; GC: grupo controle sem bipartição.

DISCUSSÃO

Os reprodutores de ambos os grupos estudados apresentaram normalidade para todos os parâmetros analisados no espermograma, de acordo com os valores de referência preconizados pelo Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do CBRA (12). Por essa razão, Todos os animais foram considerados aprovados no exame andrológico e com qualidade espermática equivalente, independente do grupo experimental. Tais resultados divergem do estudo de Machado Junior et al. (4), que observaram que bodes entre 1 a 1,5 anos e com bipartição escrotal possuem maior capacidade de produção espermática diária em relação a animais sem bipartição na mesma faixa etária. No entanto, como em nosso estudo foram utilizados animais mais velhos, com idade superior ao período de maturidade e plenitude sexual, pode-se inferir que as possíveis diferenças na produção espermática relacionadas à bipartição escrotal podem ser mais acentuadas no início da atividade sexual de caprinos, condição observada nos estudos anteriormente publicados.

No exame termográfico foi verificado que a TT foi de pelo menos de 2,5 graus abaixo da TSC e pelo menos 6 graus abaixo da TR, resultados semelhantes aos reportados por Ramires Neto et al. (3), que estudaram termorregulação testicular em equinos. A explicação para a menor TT se deve aos mecanismos locais de termorregulação, como é o caso do eficiente sistema de troca de calor passiva por contracorrente, onde o sangue arterial proveniente da aorta abdominal que chega aos testículos sofre resfriamento pelo contato das paredes vasculares arteriais com os ramos venosos que compõe o plexo pampiniforme (13).

Apesar de estudos anteriores indicarem uma possível relação entre a bipartição escrotal e eficiência no processo de termorregulação, foi verificado que animais do G1 não apresentaram TT inferior ao GC. Trabalhando com avaliação de reprodutores ovinos Mikael et al. (14), também não encontraram correlação entre a bipartição testicular e maior capacidade de termorregulação; de acordo com os mesmos autores, reprodutores que apresentam baixo grau de bipartição escrotal (não ultrapassando 50%) não possuem benefícios adicionais à capacidade de termorregulação dos testículos. As mesmas conclusões podem ser atribuídas aos nossos resultados, já que nenhum animal do G1 apresentou grau de bipartição escrotal superior a 50%. Por sua vez, avaliando caprinos com grau de bipartição da bolsa escrotal superior a 50% Machado Junior et al. (15) observaram diferenças significativas na capacidade de termorregulação do testículo, permitindo concluir que apenas em animais com maior grau de divisão do escroto é possível observar benefícios relacionados a maior capacidade de refrigeração testicular.

Nas PBAs foram identificadas todas as linhagens de células germinativas. No entanto, não foram observadas diferenças para o percentual médio de nenhuma das células espermatogênicas quando comparados o G1 em relação ao GC. De acordo com Machado Junior et al. (4), maior quantidade de túbulos seminíferos pode ser observada no testículo de animais com mais de 50% de bipartição escrotal em relação a animais sem bipartição ou com baixo grau de divisão escrotal. Dessa forma, é possível sugerir que a quantidade de células germinativas testiculares e a eficiência da espermatogênese podem sofrer influencia do grau de divisão escrotal; porém apenas animais com grau de bipartição acima de 50% parecem apresentar benefícios relacionados ao aumento da capacidade de produção espermática.

As espermátides finais representaram o tipo celular mais prevalente, independente do grupo experimental. Resultados semelhantes foram reportados por Leme e Papa (16), que também observaram maior proporção de espermátides em PBAs testiculares de equinos normospérmicos. De acordo com Garolla et al. (17) o número de espermátides representa um marcador de normalidade para a espermatogênese. Dessa forma, pode-se concluir que os animais utilizados nesse estudo se apresentavam em plenas condições reprodutivas, possuindo padrão normal de produção espermática, independente do grupo experimental.

As células de Sertoli garantem o suporte estrutural dos túbulos seminíferos provendo nutrientes, hormônios e oxigênio para as células de linhagem espermatogênica (18). Em virtude de sua importância, o número de células de Sertoli possui alta correlação com a eficiência do processo de espermatogênese (19). Dessa forma, como não foram observadas diferenças para os animais do G1 em relação ao GC, pode-se concluir que a bipartição escrotal inferior a 50% do comprimento efetivo do testículo não proporciona maior eficiência na produção de espermatozoides na espécie caprina. Tais achados divergem dos apresentados por Machado Junior et al. (20), que observaram maior número de células de Sertoli no testículo de animais bipartidos em relação ao grupo controle sem bipartição, sendo que tais diferenças foram mais expressivas em animais que apresentaram grau de bipartição acima de 50%.

De acordo com Setchell (21), em carneiros não ocorrem alterações hemodinâmicas nos testículos quando a temperatura local é inferior à temperatura de superfície corporal. Como no presente estudo todas as avaliações ultrassonográficas foram conduzidas no período matutino (temperatura ambiental mais amena, abaixo de 25°C) e todos os caprinos apresentaram

temperatura testicular abaixo da temperatura de superfície corporal, não ocorreram alterações de fluxo sanguíneo testicular, justificando os valores semelhantes de VDS, VPS e IP.

A ultrassonografia Doppler gera informações objetivas a respeito da velocidade do sangue no interior das artérias e veias testiculares (22), e tem sido utilizada para avaliação andrológica e ginecológica de diversas espécies. Trabalhando com Doppler testicular para avaliação andrológica de cães, Barbosa et al. (23) encontraram valores semelhantes de IR e IP na avaliação do plexo pampiniforme de cães férteis e inférteis. No entanto, constataram que cães inférteis apresentaram ramos vasculares do plexo pampiniforme mais tortuosos e com menor diâmetro, o que poderia determinar menor fluxo sanguíneo testicular sem provocar alterações de IR e IP.

De acordo com Ginther (24), aumento nos índices de IR e IP avaliados por ultrassonografia Doppler refletem maior resistência à passagem sanguínea no interior dos vasos, determinando menor perfusão tecidual. No entanto, segundo Nunes (25) caprinos com bipartição escrotal apresentam maior diâmetro e comprimento do funículo espermático, além de maior extensão do segmento da artéria testicular. Essa particularidade anatômica pode justificar o aumento da resistência mecânica à chegada do sangue até o testículo, o que explica os valores mais elevados de IR encontrados no presente estudo. Cabe ressaltar que o maior comprimento do funículo espermático pode favorecer as trocas de temperatura entre o sangue arterial e venoso por proporcionar maior área de contato entre as áreas vasculares. Dessa forma, novos trabalhos se fazem necessários para avaliar se a maior resistência ao fluxo sanguíneo se deve exclusivamente às particularidades anatômicas do cordão espermático de animais bipartidos ou se podem ser utilizados como marcadores de fertilidade animal, a semelhança do que vem sendo proposto em estudos envolvendo as espécies equina (26) e canina (23).

CONCLUSÃO

Caprinos que possuem escroto com bipartição inferior a 50% possuem a mesma capacidade de termorregulação testicular, proporção de células de linhagem espermatogênica e qualidade de sêmen quando comparados a bodes sem bipartição. Animais com bipartição escrotal possuem maior resistência vascular ao fluxo sanguíneo na região do plexo pampiniforme, característica provavelmente relacionada a particularidades anatômicas presentes no cone vascular dos animais com divisão escrotal. Novos estudos se fazem necessários para determinar a possível influência das particularidades hemodinâmicas do plexo pampiniforme de caprinos bipartidos com a espermatogênese e saúde testicular dessa espécie.

REFERÊNCIAS

1. Rocha DR, Martins JAM, Tiburg MFV, Oliveira RV, Moreno FB, Monteiro-Moreira AC, et al. Effect of increased testicular temperature on seminal plasma proteome of the ram. *Theriogenology*. 2015;84:1291-306.
2. Gabald SH, Wolf AA. A importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. *Cienc Agrar Saude*. 2002;2:66-70.
3. Ramires Neto C, Monteiro GA, Delfiol DJZ, Farras MC, Dell`aqua Jr A, Papa FO, et al. The relationships between scrotal surface temperature, age and sperm quality in stallions. *Livest Sci*. 2013;35:358-63.

4. Machado Junior AAN, Assis Neto AC, Ambrosio CE, Leiser R, Lima GS, Oliveira LS, et al. Goat scrotal-biometry: influence of the season on scrotal bipartition. *Pesqui Vet Bras.* 2014;31:1116-9.
5. Nunes JF, Riera GS, Silva AEFD, Ponce de Leon FA, Lima FAM. Características espermáticas de caprinos Moxotó de acordo com a morfologia escrotal. *Circ Tec Embrapa Caprinos.* 1983;6:11.
6. Papa FO, Leme DP. Testicular fine needle aspiration cytology from a stallion with testicular degeneration after external genitalia trauma. *J Equine Vet Sci.* 2002;22:121-4.
7. Carvalho CF, Chammas MC, Cerri G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia: revisão bibliográfica. *Cienc Rural.* 2008;38:872-9.
8. Gabor G, Sasser RG, Kastelic JP, Coulter GH, Falkay G, Mézes M, et al. Morphologic, endocrine and thermographic measurements of testicles in comparison with semen characteristics in mature Holstein- Friesian breeding bulls. *Anim Reprod Sci.* 1998;51:215-24.
9. Schurich M, Aigner F, Frauscher F, Pallwein L. The role of ultrasound in assessment of male fertility. *Eur J Obstet Gynecol.* 2009;44:192-8.
10. Leme DP, Papa FO. Cytologic identification and quantification of testicular cell types using fine needle aspiration in horses. *Equine Vet J.* 2000;32:444-6.
11. Bastos YHGB, Ferreira CS, Gomes GM, Peixoto Júnior KC, Gomes LPM, Papa FO, et al. Evaluation of different coloration techniques for smears obtained by aspiration biopsy puncture of bull testis. *Rev Saude.* 2015;6:5-10.
12. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3a ed. Belo Horizonte: CBRA; 2013.
13. Brito LF, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP. Testicular vascular cone development and its association with scrotal temperature, semen quality, and sperm production in beff bulls. *Anim Reprod Sci.* 2012;134:135-40.
14. Mikael LDD, Oliveira LH, Sousa OB, Antonio AN, Machado Junior AAN, Assis Neto AC, et al. Parâmetros anátomo-estruturais de órgãos reprodutivos de ovinos sem raça definida (SRD) nativos do Estado da Paraíba, com e sem bipartição escrotal: estudo do escroto e funículo espermático. *Pesqui Vet Bras.* 2014;34:709-15.
15. Machado Junior AAN, Oliveira LS, Conde Junior AM, Menezes DJA, Assis Neto AC, Alves FR, et al. Morphometric and volumetric ration of testicular compartments in goats according to scrotal configuration. *J Morphol Sci.* 2008;108:25-35.
16. Leme DP, Papa FO. How to perform and interpret testicular fine needle aspiration in stallions. *J Equine Vet Sci.* 2010;30:590-6.
17. Garolla A, Selice R, Engl B, Bertolo A, Menegazzo M, Finos L, et al. Spermatid count as a predictor of response to FSH therapy. *Reprod Biomed Online.* 2014;29:102-12.

18. Xu B, Chen M, Ji X, Yao M, Mao Z, Zhou K, et al. Metabolomic profiles reveal key metabolic changes in heat stress-treated mouse Sertoli cells. *Toxicol In Vitro*. 2015;29:1746-52.
19. Johnson L. Efficiency of spermatogenesis. *Microsc Res Tech*. 1995;5:385-422.
20. Machado Junior AAN, Carvalho MAM, Assis Neto AC. Eficiência da espermatogênese e ultraestrutura das células de Sertoli em caprinos com escroto bipartido e não bipartido [dissertação]. Teresina: Universidade Federal do Piauí; 2009.
21. Setchell BP. The scrotum and thermoregulation. In: *The mammalian testis*. Ithaca: Cornell University Press; 1978. p.90-104.
22. Gracia-Calvo LA, Duque J, Balao C, Ezquerra J, Ortega-Ferrusola C. Perfusion after standing laparoscopic peritoneal flap hernioplasty in stallions. *Theriogenology*. 2015;84:797-804.
23. Barbosa MB, England GCW, Mota Filho AC, Ackermann CL, Sousa CV, de Carvalho GG, et al. Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. *Theriogenology*. 2015;84:805-10.
24. Ginther OJ. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology*. 2014;81:112-25.
26. Nunes AS. Morfologia do funículo espermático e dos escrotos em caprinos nativos do Estado do Piauí, com diferentes configurações escrotais [dissertação]. Teresina: Universidade Federal do Piauí; 2005.

Recebido em: 01/03/2018

Aceito em: 08/03/2019