

ULTRASSONOGRAFIA COMO DIAGNÓSTICO DA INTEGRIDADE TESTICULAR DE BOVINOS

Michele da Rosa Scholant Simões

Médica Veterinária, Marechal Deodoro, nº 242, Bagé, michelescholantsimões@gmail.com

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo verificar a importância da ultrassonografia como diagnóstico precoce da integridade testicular de bovinos. Para tal, foram submetidos ao exame ultrassonográfico 18 machos. Realizado o exame de ultrassom, salvando a imagem para posterior comparação com a respectiva lâmina histológica, efetuado a extirpação dos testículos e recolhido uma amostra para análise de suas estruturas. Com os resultados obtidos pela histopatologia pode-se analisar as alterações celulares que diminuem a fertilidade dos animais. Neste contexto de busca de alternativas, que tornam o exame andrológico atual mais amplo, e obter informações semelhantes a de uma biópsia, sem realizar tal procedimento tão invasivo, pode-se adotar a rotina do exame ultrassonográfico na estimativa da fertilidade dos animais.

Palavras-chaves: Exame andrológico, Ultrassom, Lâmina histológica.

ABSTRACT: This study aimed to verify the importance of ultrasound as early diagnosis of bovine testicular integrity. To this end, underwent ultrasound examination 18 males. Performed the ultrasound examination, saving the image to be compared with the corresponding histological slide, effected the removal of the testicles and collected a sample for analysis of their structures. With the results obtained by histopathology can analyze the cellular changes that decrease the fertility of animals. In this context the search for alternatives that make the current soundness examination wider and information similar to a biopsy without performing such a procedure so invasive, we can adopt a routine ultrasound examination to estimate the fertility of animals.

Key words: Soundness examination, Ultrasound, Histological slide.

INTRODUÇÃO

Sabendo-se que a bovinocultura é uma atividade constante e de rentabilidade no Brasil atual e em especial ao estado do Rio Grande do Sul, com os dados obtidos pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), em 2009 havia um pouco mais de 210 milhões de cabeças de bovinos no Brasil, sem contabilizar o rebanho leiteiro que se estima 23 milhões de cabeças. No estado do RS 14 milhões de cabeças. Na cidade de Bagé/RS, o IBGE divulgou em 2009 uma estimativa de 300 mil cabeças de bovinos.

Existe uma constante busca da tecnificação e manejo mais adequado para a realidade atual, considerando-se o fato que muitos produtores são na verdade empresários rurais. A reprodução é uma parte fundamental desta nova realidade, onde as técnicas para simplificar os meios de diagnóstico são uma alternativa bastante importante para a atividade pecuária.

As biotecnologias são necessárias para organizar o setor agropecuário, permitindo a utilização racional do rebanho e auxiliando o produtor a obter resultados melhores e mais rápidos, a um custo menor.

Este trabalho foi desenvolvido em bovinos jovens, a partir da ultrassonografia testicular e posterior castração dos animais para análise histopatológica das estruturas, visando uma análise comparativa entre os dois métodos.

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo verificar se o exame ultrassonográfico pode ser utilizado com método para diagnóstico da integridade testicular e se existe uma relação entre as imagens obtidas e as alterações celulares encontradas na histologia.

INTRODUÇÃO

ANATOMIA DO APARELHO GENITAL MASCULINO

TESTÍCULOS

É o principal órgão do aparelho genital do macho, apresenta-se em par e possui duas funções principais: produzir espermatozóides (função exócrina) e produção de hormônios esteroidais (função endócrina).

De acordo com Palhano (2008), os testículos estão localizados externamente ao abdômen (região sub-inguinal) dentro da bolsa escrotal. Possui forma ovóide e de posição vertical, limita-se nas laterais internas, com o corpo do epidídimo, na face superior, com a cabeça do epidídimo e inserção do cordão espermático, e na face inferior, com a cauda do epidídimo.

Ainda esse autor, relata que o parênquima testicular é dividido em lóbulos pelos septos fibrosos, contendo em seu interior túbulos seminíferos que adentram na rede testis por meio de túbulos retos, correspondendo a 80% na formação testicular.

Segundo Mies Filho (1987), as gônadas masculinas possuem como estrutura um tecido conjuntivo fibroso que compõe a túnica albugínea, septos interglobulares e o mediastino. Possui ainda túbulos seminíferos, onde se

encontram as células de Sertoli, com função espermatogênica; na região do tecido intersticial (o estroma), encontram-se as células de Leydig com função endócrina.

HISTOFISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

Realizar um estudo da fisiologia reprodutiva dos machos bovinos é importante para reconhecer as particularidades anatômicas e caracterizar os principais eventos fisiológicos para melhor entendimento e aplicação das técnicas da reprodução, como diagnóstico por ultrassonografia das gônadas.

Kolb (1980) relata que os órgãos reprodutores masculinos podem ser diferenciados em órgãos reprodutores internos e os de acasalamento (externos). Durante o ato de acasalamento ocorre a liberação das células germinativas masculinas no trato reprodutivo da fêmea.

HISTOLOGIA FUNCIONAL DOS TESTÍCULOS

Espermatogênese

González (2006) cita que este fenômeno é um conjunto de transformações e divisões citológicas que resulta na formação do espermatozóide. E que os mais importantes eventos na espermatogênese são as renovações de células germinativas por mitose, redução do número de cromossomos por meiose e a transformação de uma célula convencional em uma complexa estrutura móvel (espermatozóide).

Para Mies Filho (1987), o processo de espermatogênese é

constituído por um conjunto de transformações, onde as células iniciais são espermatogônias, seguidas de espermatócitos primários e secundários, espermatíde e espermatozóide.

Esse autor também cita que a fase de transformação de espermatogônias às espermatídes denomina-se espermatocitogênese e a fase de transformações de espermatídes até espermatozóides é denominada espermiogênese (Figura 1).

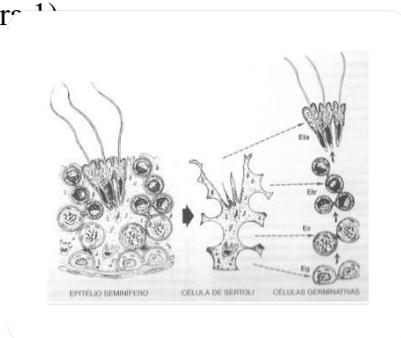


Figura 1: Desenho esquemático de um corte histológico mostrando as etapas da espermatogênese
Fonte: Hafez 2004

PATOLOGIAS TESTICULARES

Bicudo et al. (2007), sintetizam que as diversas patologias testiculares, que afetam a fertilidade no touro, podem ter causas de origem genética, congênita e adquirida. Tendo como exemplo, nas duas primeiras, monorquidismo, anorquidismo, criptorquidismo e hipoplasias testiculares, e nas alterações adquiridas destacam-se processos degenerativos testiculares seguidos das alterações inflamatórias e neoplasias.

Hipoplasia Testicular

Hafez (2004) descreve a hipoplasia testicular como sendo uma patologia decorrente da ausência do desenvolvimento e crescimento adequado dos testículos.

Moraes (2010) cita que a hipoplasia testicular é hereditária e que se caracteriza por apresentar testículos de tamanho simétricos ou não, porém de tamanho reduzido em relação a normal possuindo produção deficiente de espermatozoides, de modo que os animais acometidos podem ser sub-férteis e não apresentar alteração na libido.

Pimentel citado por Rietet al. (2001) relata que, histologicamente, na hipoplasia, observa-se ausência completa do epitélio germinativo, possuindo apenas células de Sertoli no interior dos túbulos seminíferos, diferenciando-se assim, da patologia degenerativa do testículo.

Degeneração Testicular

Pimentel (2010) relata que existem várias formas de ocorrer degeneração testicular. As mais comuns são a progressiva e a reversível.

Galloway (1974) relata que para o diagnóstico diferencial de hipoplasia, deve-se observar uma diminuição da circunferência escrotal gradativa, nos casos de degeneração testicular. O prognóstico depende do

grau da evolução da doença.

Segundo Palhano (2008), a degeneração testicular é a causa mais frequente de infertilidade ou baixa fertilidade em touros. Podendo ser de forma unilateral ou bilateral.

Moraes citado por Galina e Valencia (2006) revela que a degeneração testicular é diagnosticada através da histologia clínica e também pelo exame nos testículos por meio de ultrassonografia.

Fibrose Testicular

Segundo Palhano (2008), a fibrose testicular é uma patologia decorrente de traumatismos em áreas localizadas adjacente a reditesticque se dissemina no parênquima dos testículos.

Orquite

Palhano (2008) descreve que a orquite é uma patologia que causa inflamação nos testículos, e pode desenvolver-se por via descendente ou ascendente, por meio de migração retrógrada nas vias espermáticas ou diretamente por lesões na bolsa escrotal.

Pimentel (2010) cita que a origem da orquite pode ser infecciosa, traumática ou autoimune.

Conforme Palhano (2008), o diagnóstico para orquite se deve a presença do aumento de volume, sensibilidade e consistência dos testículos. E no espermiograma ocorre a presença de piócitos e aumento significativo de defeitos de cabeça do espermatozóide.

Moraes, citado por Galina e Valencia (2006), relata que alterações pós-traumáticas e agentes infecciosos específicos como *Brucella abortus* e *Actinomyces piogenes* são causadores de orquites. Em alguns processos esta patologia também está associada à epididimite.

Tumores Testiculares

Pimentel (2010) cita que tumores testiculares são patologias que ocorrem mais frequentemente em touros acima de sete anos. Dentre os tumores testiculares existem os encontrados nas células intersticiais, células de Sertoli, e do epitélio germinativo, células de Leydig, que são os denominados tumores primários.

Roberts (1986) citado por Pimentel (2010) comenta que os tumores começam a interferir na qualidade do sêmen quando o diâmetro destes é superior a 10mm (milímetros).

A ultrassonografia tem sido empregada com sucesso no diagnóstico nestes tipos de alterações (PIMENTEL, 2010).

ULTRASSONOGRAFIA REPRODUTIVA

Hafez (2004), relata que as ondas ultrassonográficas não são perceptíveis ao ouvido humano, trabalhando com uma frequência de 1 até 10 Mega Hertz (MHz). E são utilizados na medicina veterinária dois tipos de ultrassom: Doppler (ondas de som que atingem uma estrutura móvel, onde refletem a fonte transmissora numa frequência relativamente alterada) e o

princípio de pulsos eco (pulsos de ultrassom gerados por cristais piezoelétricos).

Conforme Hafez (2004), o princípio da ecografia é realizado por estimulação elétrica de cristais, formando ondas ultrassonográficas que são refletidas quando em contato com tecidos, retornando para o mesmo, que transforma o som em energia elétrica, fabricando assim uma imagem, podendo ser ela ecogênica, também denominada ecóica, ou não ecogênica (aneicoica).

Heuwieser e Müller (2010) citam que imagens ecogênicas são aquelas formadas a partir de tecidos, que quanto mais denso o tecido, maior será a reflexão e mais intensos serão os pontos luminosos que representam o tecido na tela do aparelho ultrassonográfico. Imagens hipocogênicas até anecoicas ocorrem quando menos denso for o meio, menos ondas são refletidas, portanto, menos ondas luminosas são geradas.

Ainda os autores Abdel-Razek e Ali (2005) descrevem que, durante o período de maturidade sexual, ocorrem mudanças nas imagens fabricadas pelas modificações celulares dentro dos testículos.

Conforme descreve Pastore (2011), existe uma terminologia simplificada para a interpretação das imagens ultrassonográficas. São elas:

Hiperecogênico: é determinado quando as ondas ultrassônicas são refletidas quase em sua totalidade, devido à densidade do órgão avaliado, obtendo-se imagem branca no monitor.

Hipocogênico: é determinado quando as ondas ultrassônicas incidem em um determinado órgão, que devido sua estrutura, refletem parcialmente, produzindo imagens variantes do cinza no monitor.

Anecogênicos: é determinado quando as ondas ultrassônicas não refletem sobre a estrutura analisada, portanto apresentando coloração escura no monitor.

Abdel-Razek e Ali citado por Pastore (2008), descrevem a imagem obtida no ultrassom, quando visualizado o mediastino, no plano transversal, como sendo um ponto central ao parênquima testicular hiperecótico, no plano longitudinal, como sendo uma linha central também hiperecótica.

Chandolia et al. (1997) citados por Pastore (2008), relatam a relação que existe entre a idade e o aumento da ecogenicidade visualizada no parênquima testicular, podendo ter relação com a produção de testosterona sérica. A diminuição da ecogenicidade em uma determinada idade ocorre por transformações dos túbulos seminíferos e ao final das formações das células de Sertoli.

Coulter e Kozub (1984) descritos por Pastore (2008) citam que a deficiência nutricional e a baixa ingestão de nutrientes têm relação direta com o desenvolvimento do sistema reprodutor. Em regiões e manejos inadequados o desenvolvimento testicular ficará aquém da expectativa.

Pastore (2008) encontrou em seu estudo, uma relação da ecogenicidade e da puberdade dos touros. Testículos de animais púberes apresentam-se com mais ecogenicidade que animais impúberes da mesma idade.

CONFECÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS

Michalany (1980) descreve que para obter um bom resultado com a

técnica de confecção das lâminas histológicas, deve-se começar com uma boa fixação do material coletado.

Ainda este autor, cita que o intervalo entre a colheita do material e a sua fixação, deve ser o mais breve possível, e que o tamanho do material coletado não deve ser superior a umcentímetro seguindo assim as normas gerais de fixação.

Behmeret al. (2003) citam que a relação do volume de fixador e do material deve obedecer a proporção de 1:30 entre a amostra e o fixador respectivamente, ocasionando assim uma boa fixação do material coletado.

Ainda esse autor descreveo formol como sendo o fixador de rotina a ser empregado, em solução aquosa a 10%, com tempo de fixação mínimode 24 horas. Apesar de relatar que não é o mais adequado para preservar a integridade da estrutura celular. Porém, tecidos imersos neste fixador, permanecem por mais de dez anos sem modificar sua estrutura.

Prophetet al. (1992) relatam que a formalina precipita todos os constituintes das células, menos as proteínas. Sendo um bom fixador para lipídios complexos, já que não destrói as gorduras.

Behmeret al. (2003) descrevem a técnica de inclusão da parafina, relatando a série crescente de alcoóis que o material passa para ocorrer a desidratação e posteriormente ser imergido em parafina. Para que a parafina penetre em todos os interstícios do tecido é necessário que anteriormente o xilol tenha ocupado o lugar que antes do início do processo era ocupado por água.

Michalany (1980) cita que o processo após a desidratação é denominado diafanização, consistindo na troca do álcool da peça, pelo xilol,

que é um dissolvente da parafina.

Ainda este autor comenta que após a impregnação da peça em parafina, a próxima etapa é o preparo do bloco para o corte em micrótomo. O molde utilizado é o modelo de Leuckhart ou suas variações (Figura 2).

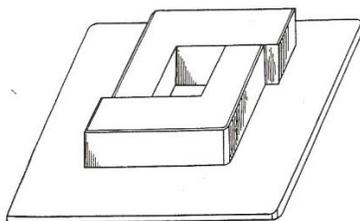


Figura 2: Modelo esquemático de Leuckhart

Fonte: Michalany(2003)

Na confecção dos cortes propriamente ditos, utiliza-se um micrótomo de parafina rotativo. E com as peças devidamente emblocadas realiza-se o corte habitualmente de cinco micrômetros (BEHMER et al., 2003).

Prophet et al.(1992) descreve que, após o corte dos blocos serem examinados, verifica-se toda a estrutura. Ao analisar, descartam-se os cortes que tiverem algum artefato, como arranhaduras ocorridas pela lâmina do micrótomo.

Behmer et al. (2003) descreve a técnica após o corte no micrótomo: o espécime é colocado em uma vasilha com água quente, com a finalidade de distender o corte, para posterior fixação em lâmina. Após, as lâminas já com o espécime escolhido, devem ser direcionar a estufa para

secar. Depois da secagem, estas lâminas passam por uma série de banhos de imersão, com hematoxilina e eosina (corantes de eleição) para obter a coloração da estrutura a ser analisada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Avaliação ultrassonográfica

Foram utilizados 18 novilhos, entre 22 e 26 meses de idade, sem predileção por nenhuma raça específica, criados em campo nativo na região da campanha do Rio Grande do Sul.

A avaliação ultrassonográfica foi realizada com auxílio de equipamento da marca Mindray DP- 2.200 VET, transdutor linear e frequência de 5MH. A primeira imagem foi realizada transversalmente com a presença do mediastino, e as demais imagens obtidas longitudinalmente, com e sem a presença do mediastino, respectivamente, em ambos os testículos.

Após a avaliação ultrassonográfica os animais foram castrados e fragmentos dos testículos foram fixados, para posterior confecção das lâminas histológicas, no laboratório de histopatologia da Universidade da Região da Campanha–Urcamp, Campus Rural, localizado na cidade de Bagé/RS.

Para fixação, os testículos foram devidamente identificados, realizados cortes de espessura de um centímetro, imersos em solução de formol a 10% e levados ao laboratório para confecção das lâminas histológicas, para posterior comparação das imagens ultrassonográficas com a imagem histológica.

Confecção das Lâminas Histológicas

A técnica utilizada na confecção das lâminas neste trabalho seguiu conforme descrito anteriormente na revisão de literatura.

Após a fixação das amostras, foram feitos cortes de um a dois milímetros de espessura, os quais passaram pelos procedimentos de desidratação, diafanização e após a imersão em parafina para a confecção dos blocos para corte histológico. Posteriormente foi realizado o emblocamento destas amostras e os devidos cortes histológicos no micrótomo. Conferindo se o corte estava bom, sem arranhaduras ou falhas, aderindo estes cortes em gelatina histológica que se encontrava em banho maria (aproximadamente 60°C), para distender bem o tecido.

As lâminas, com o espécime selecionado, eram mantidas em estufa, com temperatura aproximada de 55°C, para retirar o excesso de parafina. A seguir foi realizada a coloração das lâminas em HE (Hematoxilina e Eosina), para posterior leitura. As imagens foram obtidas com auxílio de microscopia óptica, com aumento de 10x.

RESULTADOS

A análise histológica das amostras de testículos apresentou como principais alterações: vacuolização de células germinativas e redução do número de células da linhagem espermática.

As imagens ultrassonográficas testiculares dos animais deste estudo apresentaram semelhança em grupos distintos. Dez animais apresentaram maior ecogenicidade, de forma homogênea, no parênquima testicular, conforme figura 3.

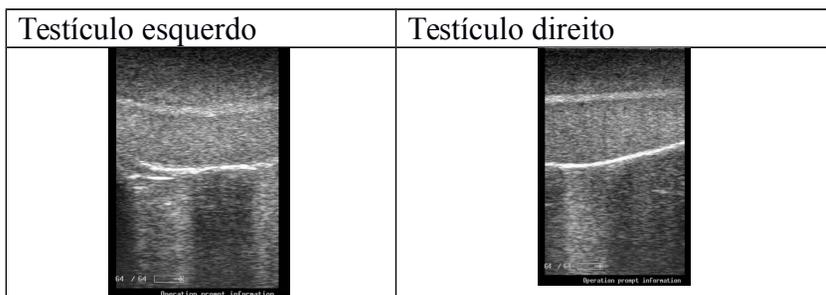


Figura 3: Imagem ultrassonográfica no qual observa-se uma ecogenicidade homogênea no parênquima testicular.

Os demais testículos apresentaram baixa ecogenicidade com pontos disformes na imagem, conforme Figura 4.

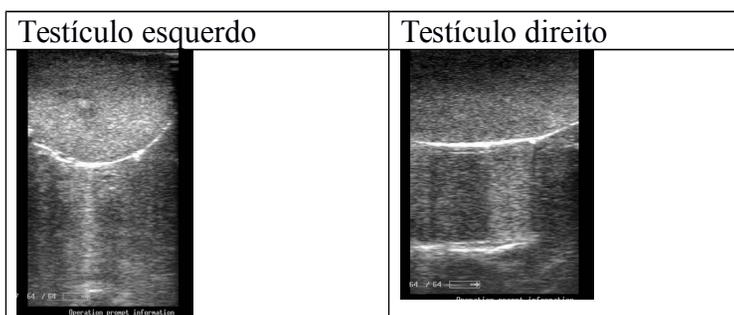


Figura 4: Imagem ultrassonográfica de testículos de bovino

Nas imagens obtidas no plano transversal, no centro do parênquima

testicular, apresentou-se o mediastino no formato de uma linha hiperecólica. E nas imagens obtidas no plano vertical, no centro da imagem, o mediastino é identificado como o ponto com maior ecogenicidade.

Os dezoito animais analisados foram classificados em dois grupos, conforme o grau de intensidade das alterações: cinco animais, apresentaram alterações graves, de acordo com a figura 5, e treze, apresentaram alterações moderadas a leves (Figura 6).

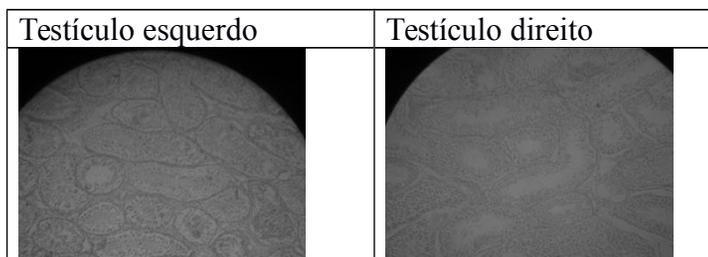


Figura 5: Coloração das lâminas em HE (Hematoxilina e Eosina). As imagens foram obtidas com auxílio de microscopia óptica, com aumento de 10 x.

Testículo esquerdo	Testículo direito
--------------------	-------------------

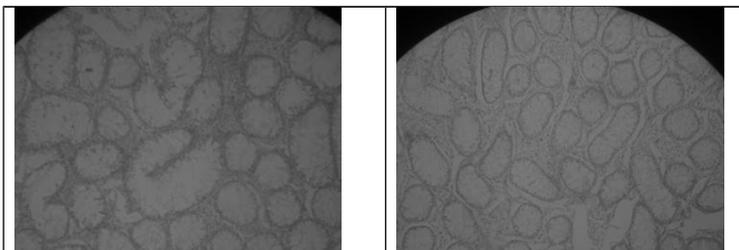


Figura 6: Ausência de células espermáticas

Com base nos resultados obtidos nas imagens por ultrassonografia e das alterações histológicas encontradas, sugere-se que exista uma relação entre estas análises, já que os animais que apresentaram alterações histológicas mais acentuadas foram os que na ultrassonografia apresentaram imagens com baixa ecogenicidade e com pontos disformes.

DISCUSSÃO

Abdel-Razek e Ali (2005) concordam com Jedraszcyk (2004) citado por Pastore (2008) quando este descreve o uso de aparelhos modernos com alta qualidade da imagem nos exames de ultrassonografia atual, conferindo maior exatidão ao exame clínico, e que existe um aumento significativo do uso como exame complementar na prática veterinária, por tratar-se de um método não invasivo permitindo obter informações instantâneas de diversas estruturas de interesse clínico dos animais.

Diferente do que retrata Palhano (2008) quando se refere ao uso da ultrassonografia sendo utilizada preferencialmente em pequenos rebanhos de elite e para sexagem fetal.

Cardilliet al. (2009) relata imagens hiperecogênica e com parênquima testicular heterogêneo em testículos de animais jovens sem sintomatologia clínica aparente concordando com Griffin e Ginther (1992) citado por Abdel-Razek e Ali (2005) quando estes descrevem que a imagem ultrassonográfica depende da relação da densidade dos tecidos a serem examinados.

Abdel-Razek e Ali (2005) encontraram a partir de imagens longitudinais uma linha ecogênica central identificada como mediastino e mudanças na ecogenicidade de acordo com alterações do parênquima testicular, concordando com os achados deste presente trabalho.

Jubbet al. (1985) descrevem que alterações como a perda de células germinativas e vacuolizações celulares podem ocorrer em casos de degeneração testicular, concordando com Pimentel (2010), quando este descreve que a degeneração testicular progressiva é uma patologia, onde fisiologicamente ocorrem processos degenerativos no epitélio seminífero, de forma gradual, fazendo com que a eficiência de multiplicação espermatogênica não seja completa.

Jubbet al. (1985) e Jones et al.(2000) concordam com achados histológicos, em casos de degeneração testicular, como espermatogênese reduzida, células gigantes espermatídicas multi-nucleadas, em diversos túbulos seminíferos.

McGavin e Zachary (2009) concordam com o Palhano (2008), quando descrevem que a degeneração testicular pode apresentar-se de forma sub-clínica, devido ao fato de causar espermatogênese reduzida, ocasionando baixa fertilidade em touros. Podendo ser de forma unilateral ou bilateral.

Pimentel, citado por Galina e Valencia (2006), descreve que nos processos degenerativos do epitélio seminífero, há uma deficiência na produção de espermatozóides, concordando com Palhano (2008) e Jubbet al. (1985).

Moraes, citado por Galina e Valencia (2006), revela que o diagnóstico de patologias testiculares através da histologia clínica, é determinante quando ocorre presença de alterações da histofisiologia dos órgãos reprodutores, concordando com Jubbet al. (1985), quando este descreve alterações específicas encontradas em determinadas patologias testiculares, como no caso da degeneração que é identificado nas lâminas histológicas túbulos seminíferos degenerados contendo grande número de vacúolos no epitélio germinativo. Discordando com Joneset al. (2000) que descreve como degeneração testicular a presença de células de sertoli, separados por grandes espaços intertubulares.

CONCLUSÃO

Considerando que a reprodução é um dos principais pilares para obter êxito dentro de uma fazenda de criação, deve-se constantemente buscar meios de diagnóstico precoce dos distúrbios e patologias que afetam a fertilidade dos animais.

Neste trabalho foi realizada a castração dos animais, para possibilitar a análise histológica das estruturas testiculares, determinando o grau de lesões celulares, já que os bovinos utilizados não eram candidatos a touro, por não apresentarem genética aprimorada.

A partir da comparação entre os dois métodos de diagnóstico,

busca-se avaliar o grau de eficiência do uso da ultrassonografia como único meio de diagnóstico de patologias testiculares que comprometem a fertilidade dos animais, dispensando o uso de técnicas invasivas como a biópsia testicular. Porém, sem relacionar com dados andrológicos de qualidade seminal, consistência e biometrias testiculares não é possível saber quanto as alterações encontradas interferem com a fertilidade dos touros.

REFERÊNCIAS

A KH ABDEL-RAZEK AND A ALI. **Developmental Changes of Bull (Bostaurus) Genitalia as Evaluated by Caliper and Ultrasonography** *Reprod Dom Anim* 40, 23–27 Blackwell Verlag, Berlin, 2005.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C. de; FREITAS NETO, A. G.; RODRIGUES, C. J. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. Ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2003. p. 19-57.

BICUDO, S.D; SIQUEIRA, J.B.; MEIRA, C. **Biologic**. São Paulo. v.69 número 2, p. 43-48, jul/dez, 2007.

CARDILLI, D. J.; TONIOLLO, G. H.; PASTORE, A. de A.; CANOLA, J. C.; MERCADANTE, M. E. Z. **Jovens da raça Nelore: Alterações do padrão ultrassonográfico do parênquima testicular em bovinos jovens da raça Nelore**. *Acta Scientiae Veterinariae*: IN PRESS, 2009.

EMBRAPA. **Documento 51: Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e outros fatores que a influenciam**. Publicado em Campo Grande – MS, 1993.

GALINA E VALENCIA, C. e VALENCIA, J. **Reproducción de los animales domésticos**. 2. Ed. México: Limusa, 2006. p. 38; 85-86; 101-102; 105-109; 121-123; 136-137. 209, 207

GONZÁLEZ, F.H.D. **Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária**. Porto Alegre: Gráfica UFRGS, 2006, p. 50-56 e 80-84.

GRIFFIN PG, GINTHER OJ, Research application of ultrasonic imaging in reproductive biology. **J Anim Sci**. 70, 953–972, 1992.

HAFEZ, E.S.E e HAFEZ B. **Reprodução animal**. 7º Ed. São Paulo: Manole, 2004. p. 5-9; 13-21; 57; 69-73; 97-98; 101; 103-104; 111-112; 370; 377-378; 390; 399-403; 401-402.

HEUWIESER W. E MÜLLER, K. **Exame de gestação em bovinos por meio da ultrassonografia – guia para diagnóstico preciso e conduta econômica na prática veterinária**. São Paulo: Medvet, 2010. p. 10-14

IBGE. **Dados sobre população bovina 2009**. Disponível na internet em: www.ibge.com.br. Acesso: 10 de janeiro de 2012.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. Ed. São Paulo: Manole, 2000. p. 1227-1239.

JUBB, K. U. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Patologia de losanimales domésticos**. Vol. 3. Montevideo, Uruguay: AgropecuriaHemisferioSur SRL, 1985. p 465-477

KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1980, p. 382-384; 385-386; 388-391.

MCGAVIN, M. O.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia veterinária**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 1330-1338.

MICHALANY, J. **Técnica Histológica em anatomia patológica, com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico**. São Paulo: EPU, 1980. p. 40-116

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. Vol. 1 e 2. 6º Ed. Porto Alegre: Sulina, 1987. p. 45; 52-53; 62-70; 98-104; 110-115; 368-380; 413; 418-419; 424-425; 439-440; 491; 513; 618.

MORAES, J. C. F. **Curso de andrologia**. Bagé – RS: Embrapa Pecuária Sul, 2010.

PALHANO, H. B. **Reprodução em bovinos: fisiologia, terapêutica, manejo e biotecnologia**. 2. Ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros, 2008. p. 149-164

PASTORE A. de A. **Contribuição da ultrassonografia na avaliação andrológica de bovinos Nelore**. Jaboticabal - São Paulo – Brasil - Junho – 2008.

PASTORE A. de A. Curso de produção e reprodução de bovinos de corte e leite – módulo de andrologia. **Avaliação ultrassonográfica andrológica de touros**. Santa Maria/RS: Instituto Qualittas de Pós Graduação em Medicina Veterinária, 2011.

PIMENTEL, C. A. **Curso de Andrologia**. Bagé RS: Embrapa Pecuária Sul, 2010.

PIMENTEL, C.A. Infertilidade no touro. In: **Doenças de Ruminantes e Equinos**. Editado por RIET CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, v. 2, 2001. p. 382-399.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN, L. H.; **Laboratory Methods in Histotechnology**. Washington DC: Published American Registry of Pathology, 1992. p. 25-58

SUÑE, A.I.C.P. **Comunicação pessoal**. Curso de Medicina Veterinária. URCAMP, 2º Sem. 2007.