

Avanços na Ultrassonografia Testicular de Touros: Aplicação dos Modos B, Color Doppler e Algoritmo de Análise Automatizada

(Advances in Testicular Ultrasound in Bulls: Application of B-Mode and Color Doppler Mode with Automated Analysis Algorithm)

**Alexandre Rossetto Garcia^{1*}, Joedson Dantas Gonçalves¹, Giovanna Galhardo Ramos²,
Rubens Paes de Arruda²**

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, Brasil

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil

Resumo

A ultrassonografia (US) tem se consolidado como uma ferramenta precisa, segura e não invasiva na avaliação reprodutiva de machos bovinos, especialmente no monitoramento do parênquima testicular e do plexo pampiniforme. Sua aplicação nos modos B e Doppler permite a detecção de alterações estruturais sutis, frequentemente imperceptíveis ao exame clínico convencional, contribuindo para o diagnóstico de distúrbios reprodutivos relacionados a fatores patológicos ou ambientais, ou de eventos fisiológicos relacionados ao desenvolvimento sexual. No entanto, a interpretação das imagens ultrassonográficas, especialmente aquelas geradas em vídeos, ainda depende de análises visuais subjetivas e demoradas. Diante disso, a integração de técnicas de *machine learning* no processamento dessas imagens surge como uma inovação promissora, com potencial para aumentar a eficiência, a acurácia e a reprodutibilidade dos diagnósticos andrológicos. Esta revisão, além de explorar as aplicações da US na avaliação reprodutiva de machos bovinos, propõe o uso de algoritmo de aprendizado de máquina para a análise de imagens em Doppler colorido, destacando seu potencial para caracterizar com maior precisão a arquitetura vascular dos testículos e do plexo pampiniforme.

Palavras-chave: Fluxo sanguíneo, plexo pampiniforme, hemodinâmica, aprendizado de máquina.

Abstract

Ultrasonography (US) has become a well-established, precise, safe, and non-invasive tool for the reproductive evaluation of bulls, particularly for monitoring the testicular parenchyma and pampiniform plexus. When applied in B-mode and Doppler mode, US enables the detection of subtle structural changes that often go unnoticed during conventional clinical examination, thus aiding in the diagnosis of reproductive disorders linked to pathological or environmental factors and physiological events associated with sexual development. However, the interpretation of ultrasonographic images - especially those captured in video format - still relies on time-consuming and subjective visual analysis. In this context, integrating machine learning techniques into image processing emerges as an innovation, with the potential to significantly enhance the efficiency, accuracy, and reproducibility of andrological diagnostics. This review not only discusses the applications of US in the reproductive assessment of bovine males but also introduces a machine learning algorithm for analyzing color Doppler images, highlighting their potential to more precisely characterize the vascular architecture of the testes and pampiniform plexus.

Keywords: Blood flow, pampiniform plexus, hemodynamics, machine learning.

Introdução

A ultrassonografia (US) é considerada uma técnica diagnóstica não invasiva e de relativo baixo custo, que pode ser utilizada como ferramenta auxiliar na avaliação clínica dos órgãos reprodutivos dos touros bovinos. A US possibilita a visualização de estruturas reprodutivas, como testículos, epidídimos, plexo pampiniforme, vesículas seminais e próstata. Permite, ainda, identificar alterações anômicas e a ocorrência de cistos, hematomas ou abscessos que podem impactar a fertilidade do touro, possibilitando o tratamento ou o descarte de touros com baixo potencial reprodutivo. Adicionalmente, estudos têm mostrado a perspectiva de utilização da US na avaliação de touros jovens (Pastore et al., 2015; Rodrigues et al., 2020),

bem como na identificação de possíveis alterações gonadais causadas pelo ambiente (Camela et al., 2017; Romanello et al., 2024).

Na avaliação clínico-reprodutiva dos touros, a US é indicada primariamente para a caracterização de alterações macroscópicas detectáveis nos testículos e escroto (Kastelic, 2014). Contudo, tanto os equipamentos quanto as técnicas de avaliação vêm rapidamente evoluindo, o que confere maior versatilidade e eficiência às análises ultrassonográficas. Esses avanços estão diretamente relacionados à atual ampliação da demanda por cuidados veterinários mais especializados, bem como à maior valorização econômica e afetiva dos reprodutores, a depender da espécie animal considerada. Adicionalmente, existe crescente interesse na detecção da entrada à puberdade em espécies de maior interesse zootécnico, comercial ou ecológico. Esse cenário cria oportunidades não apenas para o crescimento quantitativo no número de procedimentos, mas também qualitativo, impulsionando o desenvolvimento, o nível de inovação e a acurácia das técnicas diagnósticas.

No entanto, as avaliações ultrassonográficas disponíveis ainda são de interpretação subjetiva ou de pouca praticidade quando há necessidade de avaliação de uma grande quantidade de animais em tempo limitado. Nesse sentido, essa revisão traz uma perspectiva de análises ultrassonográficas do parênquima testicular e do plexo pampiniforme, cuja integridade e funcionamento são de fundamental importância para a fertilidade do reprodutor. Serão abordadas possíveis alterações causadas pelo ambiente, além da utilização da US na avaliação de machos bovinos. Em adição, o texto traz informações sobre ferramenta de *machine learning* para a análise de imagens em modo Doppler colorido, visando à aplicação prática e eficaz no estudo da vascularização de órgãos reprodutivos.

Alterações testiculares observadas por Ultrassonografia

Por meio da US, é possível observar uma gama de alterações testiculares, dentre estas as degenerações testiculares (Alves et al., 2016). As degenerações testiculares são caracterizadas pelos seus efeitos necróticos e degenerativos sobre as células presente nos testículos (Kahwage et al., 2017). Nas degenerações testiculares, o aumento da temperatura escrotal é considerado um dos maiores fatores agravantes (Kastelic et al., 2019; Rizzoto et al., 2020). No entanto, a degeneração testicular pode ser decorrente de outras causas, como variações hormonais, deficiências nutricionais, processos inflamatórios, lesões vasculares e condição de estresse (Hafez & Hafez, 2004; Garcia 2017).

Em testículos acometidos por processo degenerativo, é possível observar durante a avaliação por US uma heterogeneidade do parênquima, com pontos hiperecóticos difusos pelo órgão, indicando possível fibrose tecidual (Ahmadi et al., 2012). Com decorrer do tempo, os testículos reduzem de tamanho e tornam-se mais fibrosos, com consequente aumento da ecogenicidade testicular. Essas mudanças nos padrões ecogênicos ocorrem devido a alterações estruturais do órgão durante o processo de degeneração.

Com isso, a avaliação bilateral dos testicular por US é essencial nos exames andrológicos, principalmente quando se avaliam touros de idade mais avançada, ou touros mantidos em ambiente inadequado. Ainda, animais mantidos sob condições estressantes são mais suscetíveis a desenvolver alterações deletérias testiculares, principalmente quando submetidos a estresse térmico pelo calor (Garcia, 2017). A elevação da temperatura ambiente pode causar danos testiculares (Romanello et al., 2018), em função da alteração do aporte sanguíneo gonadal e consequente desequilíbrio da termorregulação testicular, comprometendo a função gonadal e danificando o tecido responsável pela espermatogênese.

Falhas no processo de termorregulação testicular

As altas temperaturas podem comprometer a função testicular devido à promoção de falhas no processo termoregulatório, o que consequentemente afeta a qualidade do ejaculado (Menegassi et al., 2015). Um dos mecanismos mais conhecidos de termorregulação testicular é a troca de calor por contracorrente, promovida pelo plexo pampiniforme. O plexo pampiniforme é uma estrutura anatômica composta por um emaranhado de plexo venoso e artéria testicular, que promove a transferência de calor entre as estruturas contíguas, além de nutrir os testículos (Byrne; Keogh; Kenny, 2023). Essa troca de calor por contracorrente resulta no resfriamento do sangue arterial antes deste chegar aos testículos e promove o aquecimento do sangue venoso antes de adentrar a cavidade abdominal (Garcia, 2017).

Falhas nesse mecanismo podem causar desequilíbrio na termorregulação, alterando o metabolismo, afetando o aporte sanguíneo testicular e promovendo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (Waites, 1970) e, posteriormente, causando um quadro de degeneração testicular por apoptose das células germinativas (Alves et al., 2016). Desta forma, a termorregulação inadequada pode comprometer as funções testiculares, impactando na eficiência reprodutiva do touro. Nesse sentido, a US

pode auxiliar na detecção de possíveis falhas no processo de termorregulação por meio da avaliação da arquitetura vascular com uso do Doppler colorido, fazendo acompanhamento dos padrões de sinais Doppler do plexo pampiniforme ou do parênquima testicular.

Avaliação da ecogenicidade do parênquima testicular

As análises ultrassonográficas em modo B podem caracterizar a intensidade de pixels de estruturas observadas na varredura ultrassonográfica, gerando variáveis ecogênicas que podem oferecer informações relevantes da condição testicular (Brito et al., 2012; Vikram et al., 2021). A avaliação da ecogenicidade permite um diagnóstico precoce de patologias ocultas ou que não foram observadas ao exame clínico (Pastore et al., 2015).

Em um testículo saudável, o padrão ultrassonográfico do parênquima apresenta-se moderadamente ecogênico e com distribuição homogênea (Kastelic; Brito, 2012), podendo haver alterações do padrão de acordo com a idade do animal avaliado. Com o decorrer do desenvolvimento sexual, há incremento da ecogenicidade e da heterogeneidade tecidual, devido ao aumento e diferenciação das células envolvidas na produção espermática (Brito et al., 2012). Essa diferença de valores ecogênicos entre animais de diferentes faixas etárias foi observada por Rodrigues et al. (2020), que, ao avaliar touros adultos, observaram diferenças na ecogenicidade do parênquima testicular de touros nas fases pré-púbere e pós-púbere. Além disso, Romanello et al. (2024) relataram diferenças na ecogenicidade testicular de touros quando estes foram mantidos em condições microclimáticas mais desafiadoras. Nesse sentido, o conhecimento do padrão ecogênico testicular se faz necessário para a caracterização ou monitoramento de animais em diferentes idades, ou quando mantidos em distintos ambientes de produção, em especial naqueles sujeitos a estresse pelo calor.

Para execução das análises ecogênicas do parênquima testicular, são selecionados *frames* em modo B da região a ser avaliada, a partir vídeos ultrassonográficos da varredura do órgão. Esses *frames* são convertidos em imagens com extensão TIFF ou JPEG e passam por pós-processamento manual em programas analíticos, como no software Image Pro Plus 7.0TM (Media Cybernetics Inc., EUA). Neste processo, são contabilizados os valores numéricos de pixels em escala de cinza de 0 (preto absoluto) a 255 (branco absoluto), sendo a ecogenicidade (valor médio do pixel) e a heterogeneidade do pixel (desvio padrão do valor médio do pixel) adquiridos normalmente a partir de seis elipses traçadas sem sobreposição na região do parênquima testicular (Rodrigues et al., 2020).

Morfometria do mediastino testicular e dos vasos do plexo pampiniforme

Ainda operando em Modo B, é possível realizar a mensuração de algumas variáveis morfométricas, como a largura do mediastino testicular e a avaliação de porções do plexo pampiniforme. O acompanhamento das dimensões testiculares se faz necessário para monitorar possíveis alterações que tenham como causa as degenerações ou outros tipos de afecções. Ainda, o monitoramento morfométrico possibilita avaliar e acompanhar o estágio de desenvolvimento ou maturidade sexual dos animais, visto que a largura do mediastino e dos vasos do plexo pampiniforme aumentam com o decorrer da idade, e podem ser observadas por US (Abdel-Razek; Ali, 2005). Esse aumento das dimensões do plexo pampiniforme pode estar relacionado à fase de crescimento e maturidade sexual do touro, ou à capacidade termorregulatória do animal que deve se adaptar, quando em diferentes condições de desafio térmico.

As avaliações biométricas dos vasos do plexo pampiniforme e da largura mediastinal podem ser analisadas por meio de *frames* selecionados em Modo B, com pós-processamento realizado com uso de programas analíticos, como o *software* ImageJ® (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA). A largura do mediastino pode ser obtida pelo traçado de uma linha perpendicular à estrutura, e pode ser aferida em mm ou cm. Os diâmetros dos vasos do plexo pampiniforme são mensurados nas maiores porções dos vasos, também em cm ou mm. Habitualmente, são realizadas mensurações de três regiões distintas, e, posteriormente, o resultado é apresentado em função da média obtida.

Avaliação modo Doppler colorido do parênquima testicular e plexo pampiniforme

A modalidade Doppler colorido permite o estudo da arquitetura vascular de diversos órgãos (Carvalho; Chammas; Cerri, 2008). Esse modo gera variáveis de forma quantitativa, que podem oferecer interessantes respostas sobre a saúde testicular e do plexo pampiniforme, ou sobre o estágio de desenvolvimento sexual do animal. Essas avaliações são importantes para o diagnóstico de condições normais e anormais de fluxo sanguíneo local (Wood et al., 2010). Considerando ao exame clínico-

andrológico dos touros, as avaliações em Doppler colorido são importantes principalmente em estruturas responsáveis pela termorregulação testicular, como é o caso do plexo pampiniforme. Com isso, por meio da US, há a possibilidade de se detectar de forma precisa e precoce alguns possíveis indicativos de falhas na termorregulação, melhorando a eficiência da seleção de touros.

Atualmente, a avaliação da vascularização do parênquima testicular e do plexo pampiniforme em modo Doppler colorido se dá pela técnica de pontuação (Batissaco et al., 2013) ou por análises mais objetivas utilizando softwares (Gonçalves et al., 2024). Para a avaliação subjetiva, há uma pontuação que varia de 0 a 4 para o parênquima testicular (0 - sem vascularização aparente: 0%; 1 - baixa vascularização: 1 a 25%; 2 - vascularização intermediária: 25 a 50%; 3 - alta vascularização: 50 a 75%; e 4 - muito alta vascularização: 75 a 100%) (Batissaco et al., 2013). Já para o plexo pampiniforme, a escala varia de 1 a 5 (1 - área colorida extremamente pequena: 0 a 20%; 2 - área colorida pequena: 20 a 40%; 3 - área colorida média: 40 a 60%; 4 - área colorida grande: 60 a 80%; e 5 - grande maioria da área colorida: 80 a 100%) (Batissaco et al., 2013). Essa é uma técnica que exige pessoal altamente treinado, e pode haver discrepâncias na detecção da escala entre avaliadores, além da limitação para segregação das porcentagens por cores a olho nu.

Por sua vez, a técnica mais objetiva utiliza *softwares* para a separação manual por cores, como o programa Adobe Fireworks® software (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA, USA), na qual há a separação manual de pixels coloridos. Posteriormente, há a contagem de pixels com a utilização do *software* ImageJ® (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA), para, somente então se obter a porcentagem de vascularização (Gonçalves et al., 2024). Apesar de sua objetividade, esta técnica apresenta também suas limitações, seja na separação manual de pixels coloridos, na morosidade de avaliação, na exigência de pessoal treinado, o que limita a quantidade de imagens a serem analisadas.

Doppler espectral da artéria supratesticular

A avaliação da hemodinâmica da artéria supratesticular em touros permite relacionar o aporte sanguíneo da região escrotal, sendo, portanto, considerada uma ferramenta de análise da função testicular (Gloria et al., 2018). Os índices hemodinâmicos mais utilizados são o índice de resistividade (IR) e o índice de pulsatilidade (IP). Estudos mostram sua correlação com o aporte sanguíneo, de modo que quanto menores forem os valores de IR e IP, maior o aporte sanguíneo no tecido (Fávaro et al., 2020). Ainda, outros estudos têm observado maiores taxas de IR ou IP em indivíduos com algum tipo de alteração testicular (Claus et al., 2019) ou espermática (Gloria et al., 2018).

Além disso, o Doppler espectral tem sido utilizado para avaliar o efeito do ambiente nas características hemodinâmicas testiculares. Luceño et al. (2020) avaliaram touros Angus e Hereford, e observaram maiores valores de IP nas colheitas sob menores índices de temperatura e umidade. Isso pode estar relacionado com a vasoconstrição sob menores temperaturas, o que interfere no fluxo sanguíneo ao órgão. Ainda, as diferenças hemodinâmicas da artéria supratesticular podem ser observadas em animais com diferentes faixas etárias e entre diferentes genótipos (Rodrigues et al., 2020).

Por sua vez, as diferenças na conformação anatômica entre animais *Bos indicus* e *Bos taurus* é bastante evidenciada na US, sendo que os *Bos indicus* possuem maior enovelamento da artéria testicular (Barca Junior et al., 2018; Rodrigues et al., 2020), assim interferindo nos padrões analisados. Nesse sentido, o Doppler espectral pode ser utilizado para selecionar touros com base na sua fase de maturidade sexual ou para descartar animais com baixo fluxo sanguíneo.

PerfUS: Algoritmo inovador na análise da arquitetura vascular do parênquima testicular e plexo pampiniforme

Devido às crescentes atualizações e implementação de novas tecnologias na Medicina e na Medicina Veterinária, a utilização de algoritmos de análises de imagens vem ganhando espaço devido à sua eficácia, rapidez e precisão (Zhuang et al., 2022). Sabe-se que, principalmente nas pesquisas de cunho científico, existe a necessidade de simplificação do processo de avaliação de imagens de ultrassonografia, além de geração de resultados mais precisos (Snider; Hernandez-Torres; Boice, 2022). Nesse sentido, novas ferramentas para avaliar o desempenho e o fluxo sanguíneo em diferentes órgãos, especialmente os órgãos reprodutivos, são essenciais para monitorar ou avaliar possíveis alterações gonadais.

Nesse contexto, pesquisadores da Embrapa Pecuária Sudeste em colaboração com a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo desenvolveram um algoritmo de *machine learning* (PerfUS) para avaliar a função vascular de um órgão. O algoritmo foi baseado em um conjunto finito de instruções passo a passo, não ambíguas, que um computador pode seguir para determinar a

vascularização do órgão avaliado, a partir de imagens adquiridas em US Doppler colorida. Para tal, foi desenvolvido um conjunto de regras e processos lógicos que permite um sistema de inteligência artificial "aprender" com dados e tomar decisões sobre o grau de vascularização dos testículos e do plexo pampiniforme de touros, sem programação explícita.

O algoritmo demonstra alta correlação de resultados com as técnicas convencionais utilizadas, principalmente com a avaliação subjetiva realizada por avaliadores previamente treinados e experientes. Os resultados do processo de validação sugerem ser possível fazer seguramente a substituição dos procedimentos convencionais de análise de imagens pelo uso do algoritmo desenvolvido. Além disso, o algoritmo demonstra impressionante capacidade na velocidade de processamento de imagens Doppler colorido, com a execução da análise de 270 imagens em 0,14 segundos. Ainda, o algoritmo pode gerar até 35 variáveis de interesse relacionados aos sinais de Doppler colorido, seja de contagem total de pixels, área perfundida, velocidade e direcionamento de fluxo sanguíneo. Dessa forma, o algoritmo fornece maior precisão e rapidez nos diagnósticos, podendo representar em futuro breve, a depender de sua escala de utilização, um grande avanço para o diagnóstico por imagem na Medicina Veterinária.

Considerações Finais

Devido às crescentes demandas para incremento da eficiência reprodutiva dos animais nos diferentes sistemas de produção, a ultrassonografia tem se tornado uma ferramenta auxiliar relevante para a seleção de reprodutores. Com seu uso, pode-se descartar animais com alterações morfológicas não observadas visualmente, bem como, caracterizar os animais de acordo com seu estágio de desenvolvimento sexual. No entanto, as ferramentas existentes de análises ultrassonográficas ainda são objetivas, morosas ou de difícil acesso. Nesse sentido, a utilização de *machine learning* se torna um aliado no incremento da eficiência, acurácia e reprodutibilidade dos mecanismos de diagnóstico que podem ser utilizados na seleção e manutenção de machos bovinos.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo 2021/04335-3, Processo 2019/04528-6), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 404513/2021-2, Processo 312295/2022-7, Processo 150335/2025-3) e do INCT Reprodução Animal (Processo 406866/2022-8).

Referências

- Abdel-Razek A, Ali A.** Development changes of bull (*Bos taurus*) genitalia as evaluated by caliper and ultrasonography. *Reprod Domest Anim*, v.40 p.23-27, 2005.
- Ahmadi B, Lau CP, Giffin J, Santos N, Hahnel A, Raeside J, Christie H, Bartlewski P.** Suitability of epididymal and testicular ultrasonography and computerized image analysis for assessment of current and future semen quality in the ram. *Exp Biol Med*, v.237, p.186-193, 2012.
- Alves MB, Arruda RP, Batissaco L, Florez-Rodriguez SA, Oliveira BM, Torres MA, Ravagnani GM, Lançoni R, Almeida TG, Storillo VM, Vellone VS, Franci CR, Thomé HE, Canella CL, Andrade AF, Celeghini EC.** Low-level laser therapy to recovery testicular degeneration in rams: effects on seminal characteristics, scrotal temperature, plasma testosterone concentration, and testes histopathology. *Lasers Med Sci*, v.31, p.695-704, 2016.
- Barca Júnior FA, Koetz Júnior C, Fávaro PC, Pereira GR, Morotti F, Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Seneda MM.** Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. *Theriogenology*, v.118, p.16-21, 2018.
- Batissaco L, Veleghini ECC, Pinaffi FLV, Oliveira BMM, Andrade AFC, Recalde ECS Recalde, Fernandes CB.** Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams, *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.50, p.384-395, 2013.
- Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP.** Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. *Theriogenology*, v.78, p.69- 76, 2012.
- Byrne CJ, Keogh K, Kenny DA.** Review: Role of early life nutrition in regulating sexual development in bulls. *Animal*, v.17, p.100802, 2023.
- Camela ESC, Nociti RP, Santos, VJC, Macente BL, Maciel GS, Feliciano MAR, Vicente WRR, Gill L, Bartlewski PM, Oliveira MEF.** Ultrasonographic characteristics of accessory sex glands and spectral

- Doppler indices of the internal iliac arteries in peri- and post-pubertal Dorper rams raised in a subtropical climate. *Anim Reprod Sci*, v.184, p.29-35, 2017.
- Carvalho CF, Chammass MC, Cerri GG.** Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. *Ciência Rural*, v.38: p.872-879, 2008.
- Claus LAM, Barca Junior FA, Koetz Junior C, Pereira GR, Fávoro PC, Galdioli VH, Seneda MM, Ribeiro ELA.** Scrotal skin thickness, testicular shape and vascular perfusion using Doppler ultrasonography in bulls. *Livestock Sci*, v.226, p.61-65, 2019.
- Fávoro PC, Pereira GR, Barca FA, Adona PR, Franco EMV, Dias IS, Seneda MM, Koetz Junior C.** Hemodynamic evaluation of the suprastesticular artery in bulls. *Livestock Sci*, v.241, p.104210, 2020.
- Garcia AR.** Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? *Rev Bras Reprod Anim*, v.41, p.33-39, 2017.
- Gloria A, Carluccio A, Wegher L, Robbe D, Valorz C, Contri A.** Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. *J Anim Sci Biotech*, v.9, p.1-7, 2018.
- Gonçalves JD, Vergani GB, Rodrigues JND, Dias JH, Pereira V.SA, Garcia AR, Esteves SN, Fonseca JF, Oliveira MEF.** Luteal tissue characteristics of Morada Nova ewes with hCG application 7.5 days after the end of estrus synchronization protocol in the breeding season. *Anim Reprod Sci*, v.261, p.107396, 2024.
- Hafez B, Hafez ESE.** Reprodução Animal (v.1, p.513). Manole: São Paulo, Brasil, 2004.
- Kahwage PR, Esteves SN, Jacinto MAC, Junior WB, Pezzopane JRM, Andrade Pantoja MH, Bosi C, Miguel MCV, Mahlmeister K, Garcia AR.** High systemic and testicular thermolytic efficiency during heat tolerance test reflects better semen quality in rams of tropical breeds. *Inter J Biometeorol*, v.61, p.1819-1829, 2017.
- Kastelic JP, Brito FC.** Ultrasonography for Monitoring Reproductive Function in the Bull. *Reprod Domest Anim*, v.47, p.45-51, 2012.
- Kastelic JP, Wilde RE, Bielli A, Genovese P, Rizzoto G, Thundathil J.** Hyperthermia is more important than hypoxia as a cause of disrupted spermatogenesis and abnormal sperm. *Theriogenology*, v.131, p.177-181, 2019.
- Luceño NL, Angrimani DSR, Bicudo LC, Szymańska KJ, Poucke MV, Demeyere K, Meyer E, Peelman L, Mullaart E, Broekhuijsen MLWJ, Van Soom A.** Exposing dairy bulls to high temperature-humidity index during spermatogenesis compromises subsequent embryo development in vitro. *Theriogenology*, v.141, p.16-25, 2020.
- Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Júnior 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. *Inter J Biometeorol*, v.59, p.357-364, 2015.
- Pastore AA, Toniollo GH, Cardilli DJ, Canola JC, Mercadante MEZ.** Contribuição da ultrassonografia na avaliação andrológica de bovinos Nelore. *Rev Bras Reprod Anim*, v.39, p.32-40, 2015.
- Rizzoto G, Ferreira JCP, Mogollón Garcia HD, Teixeira-Neto JF, Bardella LC, Martins CL, Silva JRB, Thundathil JC, Kastelic JP.** Short-term testicular warming under anesthesia causes similar increases in testicular blood flow in *Bos taurus* versus *Bos indicus* bulls, but no apparent hypoxia. *Theriogenology*, v.145: p.94-99, 2020.
- Rodrigues NN, Rossi GF, Vrisman DP, Taira AR, Souza LL, Zorzetto MF, Bastos NM, Paz CCP, Lima VFMH, Monteiro FM, Oliveira M.E.F.** Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands and arterial spectral indices in peri- and postpubertal Nelore and Caracu bulls. *Anim Reprod Sci*, v.212, p.106235, 2020.
- Romanello N, Lourenço Junior JB, Barioni Junior W, Brandão FZ, Marcondes CR, Pezzopane JRM, Andrade Pantoja MH, Botta D, Giro A, Moura ABB, Nascimento Barreto A, Garcia AR.** Thermoregulatory responses and reproductive traits in composite beef bulls raised in a tropical climate. *Int J Biometeorol*, v.62, p.1575-1586, 2018.
- Romanello N, Barreto ADN, de Carvalho Balieiro JC, Brandão FZ, de Andrade AFC, Zappaterra M, Garcia AR.** Effect of access to natural shade on scrotal thermoregulatory capacity, integrity of the testicular parenchyma and sperm morphology of Nelore (*Bos indicus*) and Canchim (*Bos taurus* x *Bos indicus*) bulls. *Int J Biometeorol*, v.68, p.2431-2446, 2024.
- Snider EJ, Hernandez-Torres SI, Boice EN.** An image classification deep-learning algorithm for shrapnel detection from ultrasound images. *Sci Rep*, v.19, p.8427, 2022.
- Vikram R, Dewry RK, Mohanty TK, Yadav HP, Nath S, Bhakat M, Devi I, Raval K, Yousuf S.** Digital analysis of testicular ultrasound image can classify buffalo bulls with high sperm production capacity. *Buffalo Bulletin* v.40, p.107-114, 2021.

Waites GMH. Temperature regulation and the testis. In: Johnson AD, Gomes WR, Vandermark NL. (Eds.). The testis. Nova York: Academic Press, 1970. p.241-279.

Wood MM, Romine LE, Lee YK, Richman KM, O'Boyle MK, Paz DA, Chu PK, Pretorius DH. Spectral Doppler signature waveforms in ultrasonography: a review of normal and abnormal waveforms. *Ultrasound Q*, v.26, p.83-99, 2010.

Zhuang M, Chen Z, Wang H, Tang H, He J, Qin B, Yang Y, Jin X, Yu M, Jin B, Li T, Kettunen L. AnatomySketch: An Extensible Open-Source Software Platform for Medical Image Analysis Algorithm Development. *J Digit Imaging*, v.35, p.1623-1633, 2022.
