

MORFOMETRIA TESTICULAR E DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS DE LEÕES-AFRICANOS (*PANTHERA LEO*, LINNAEUS, 1758) ADULTOS, EM CATIVEIRO

João Bosco Gonçalves Barros¹
Tarcizio Antonio Rego de Paula¹
Sérgio Luis Pinto da Matta²
Cláudio César Fonseca¹
F.R. Melo³
Laércio dos Aanhos Benjamim¹

RESUMO

Uma relação direta entre peso testicular e produção espermática é observada em diferentes animais já investigados. O tamanho testicular reflete principalmente o comprimento total do túbulo seminífero, visto ser este seu principal componente. A composição do parênquima testicular e o tamanho relativo dos testículos podem fornecer valiosas informações à fisiologia da reprodução. O objetivo deste trabalho foi quantificar os diferentes componentes testiculares em leões africanos adultos mantidos em cativeiro. Este estudo concluiu que o peso corporal médio dos leões-africanos neste estudo foi de 183,7 kg, dos quais cerca de 0,015% é de massa testicular e 0,009% de túbulos seminíferos, que representaram cerca de 75,6% do parênquima testicular. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi de 252,7mm e a espessura média do epitélio seminífero, de 93,2mm. O leão-africano apresenta 12,3 metros de túbulo seminífero por grama de testículo.

Palavras chave: testículo, túbulo seminífero, leão, *Panthera leo*

FAVOR CONFERIR O TÍTULO NO ABSTRACT, POIS O ARTIGO DO AUTOR NÃO TINHA

ABSTRACT

MORFOMETRIA TESTICULAR AND OF SEMINIFIC TÚBULOS OF LION-AFRICANS (*PANTHERA LEO*, LINNAEUS, 1758) ADULTS, IN CAPTIVITY

A direct relationship between the testis weight and spermatic production is observed in different animals already investigated. The testis size primarily reflects the total length of the seminiferous tubule, since this one is its main component. The composition of the testis parenchyma and the relative size of the testis can provide valuable information concerning to reproductive physiology. The aim of this work were quantify the different components of the captivity African lion testis. This study concluded that the average body weight of the African lions were 183.7 kg, from which approximately 0.015% are allocated in the testis mass and 0.009% are specifically in the seminiferous tubules, which represented about 75.6% of the testis parenchyma. The average diameter of the seminiferous tubules was 252.7 mm and the average thickness of the seminiferous epithelium was 93.2 mm. The African lion presents 12.3 m seminiferous tubule by each gram of testis.

Key words: testis, seminiferous tubule, lion, *Panthera leo*

¹ Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Viçosa, MG. E-mail: tarcizio@ufv.br

² Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Viçosa, MG.

³ Universidade Estadual de Minas Gerais/UEMG/FAFILE.. Carangola, MG.

INTRODUÇÃO

O leão (*Panthera leo*) é o segundo maior felino do mundo, podendo atingir até 230 kg, sendo menor apenas que o tigre (*Panthera tigris*). Diferente da maioria dos gatos, o leão possui hábitos gregários, formando grupos de até 30 indivíduos. As fêmeas são encarregadas da caça e cuidam da prole, enquanto um ou dois machos dominantes se responsabilizam pela proteção do grupo (Alden *et al.*, 1998).

Leões africanos vivem em planícies ou savanas, onde constituem o segundo maior grupo predador depois das hienas manchadas (*Crocuta crocuta*). Podem viver ainda em áreas arborizadas, montanhosas e mesmo em habitats semidesérticos (Estes, 1993). Esses felinos possuem pelame curto e cauda longa, com um tufo de pêlos pretos em sua extremidade. São sexualmente dimórficos, visto que, além de maior altura e peso corporal, apenas os machos possuem jubas (Alden *et al.*, 1998). Machos e fêmeas tornam-se sexualmente maduros após os três anos de idade (Estes, 1993). Existem pelo menos cinco subespécies de leões africanos, sendo cada uma delas identificada pela região geográfica em que ocorre, fato este contestado por alguns autores (Urban & West, 2002). Embora ainda haja abundância desses animais em cativeiro, todas as subespécies de leão africano são listadas no apêndice II da CITES (Convention on International Trade in Endangered Species, 2005), sendo classificada como espécie ameaçada de extinção na lista vermelha da IUCN (The World Conservation Union, 2004) como espécie vulnerável (Cat Specialist Group, 2003). Em alguns países africanos, os leões foram praticamente exterminados, podendo ser encontrados livre somente em alguns parques nacionais (Alden *et al.*, 1998; Cat Specialist Group, 2003). O isolamento geográfico de populações distintas de leões em vida livre no leste africano e no oeste indiano tem levado à perda de variabilidade genética, tendo como consequência direta o aumento de anormalidades espermáticas e alterações no balanço de hormônios reprodutivos, afetando a espermatogênese e a ovulação e aumentando a morbidade e mortalidade perinatal (Wildt *et al.*, 1987; Munson *et al.*, 1996).

De acordo com alguns pesquisadores, há uma relação direta do peso testicular com a produção espermática: quanto maior o testículo, maior a produção

de espermatozoides (Amann, 1970; Olar *et al.*, 1983; França & Russell, 1998). Porém, a quantidade de espermatozoides produzida é sempre maior que o número suficiente para a fecundação, e não necessariamente o tamanho do testículo é proporcional ao tamanho corporal, pois, se assim fosse, animais de grande porte produziram quantidade excedente de células reprodutivas (Paula, 1999).

A composição do parênquima testicular (Paula, 1999) e o tamanho relativo dos testículos (Kenagy & Troumbulak, 1986) em determinada espécie podem fornecer valiosas informações quanto à fisiologia reprodutiva e até mesmo quanto ao seu sistema de acasalamento. Assim, o estudo da morfologia testicular e do processo espermatogênico em animais selvagens é fundamental para a determinação de padrões fisiológicos, com os quais se podem estabelecer protocolos em reprodução assistida.

O processo de biópsia testicular vem sendo amplamente utilizado em estudos que envolvem a fisiopatologia reprodutiva de animais domésticos e selvagens, por ser um método conservativo da capacidade reprodutiva, não apresentando efeitos deletérios na produção espermática a longo prazo (Lopate *et al.*, 1989; Threlfall & Lopate, 1993; Hunt & Foote, 1997; Attia *et al.*, 2000; Bittencourt *et al.*, 2004; Azevedo *et al.*, 2006; Mascarenhas *et al.*, 2006; Guião Leite *et al.*, 2006). Esta metodologia é uma excelente opção frente à castração ou castração unilateral, uma vez que fornece material suficiente para a análise microscópica representativa do testículo, pelo fato de não se observarem diferenças significativas na composição do parênquima testicular entre diferentes regiões do testículo (Amann, 1970; Berndtson, 1977; Amann & Schanbacher, 1983).

O objetivo deste estudo foi descrever a morfometria testicular e dos túbulos seminíferos e relacioná-la com a massa corporal, de leões africanos adultos mantidos em cativeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados fragmentos testiculares de cinco leões africanos adultos, com idades entre nove e dezessete anos, provenientes de parques zoológicos dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Os animais

utilizados no estudo foram incluídos em programas de controle populacional e, durante a deferentectomia, foram submetidos ainda à biópsia testicular. Os animais foram contidos com dardos anestésicos e mantidos em anestesia geral com 10 mg/kg da associação tiletamina/zolazepan (TELAZOL® - Fort Dodge) via intramuscular.

Para a determinação do volume testicular, ambos os testículos foram mensurados percutaneamente quanto à largura, à espessura e ao comprimento, com a utilização de paquímetro digital. A espessura da pele escrotal também foi mensurada e descontada das dimensões testiculares. Através da fórmula do volume do elipsóide $4/3 ABC$, onde A= metade da largura, B= metade da espessura e C= metade do comprimento, foi calculado o volume de cada testículo (Moreira, 1995). O volume testicular foi convertido em gramas, visto que a densidade do testículo de mamíferos é muito próxima de 1 (Johnson *et al.*, 1981; Paula, 1999). A túnica albugínea e o mediastino testiculares foram estimados em 18% da massa testicular, uma vez que esta média foi observada em todos os carnívoros domésticos e selvagens já estudados (Godinho, 1999; França & Godinho, 2003; Bittencourt *et al.*, 2004; Mascarenhas *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2005; Guião Leite *et al.*, 2006). Para o cálculo da massa do parênquima testicular, este valor foi descontado do volume total dos testículos.

Após tricotomia e anti-sepsia local, a pele do escroto foi incisada na porção média do testículo direito ou esquerdo e, em seguida, com o uso de um bisturi manual circular descartável de 4 mm de diâmetro (ORTOVET®), foi obtido um fragmento da região média do testículo, direito ou esquerdo. O fragmento foi imediatamente fixado, utilizando-se solução de aldeído glutárico (Merck®) 4% em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 em temperatura ambiente, por um mínimo de 2 h, sendo posteriormente armazenado sob refrigeração no mesmo tampão. O corte nos envoltórios testiculares foi suturado em planos distintos com fio sintético absorvível, sendo na pele utilizada sutura intradérmica com extremidades embutidas. Cada animal recebeu antibióticos e antiflogísticos como terapia preventiva e foi clinicamente acompanhado até o seu restabelecimento.

Os procedimentos adotados na metodologia deste estudo, no que se refere ao bem-estar dos animais envolvidos, estão de acordo com Processo

Nº 27/2005, aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, em 1º/04/2005.

Para estudos de microscopia de luz, os fragmentos foram desidratados em série alcoólica (etanol) crescente (70°, 80°, 90° e 100° GL) e incluídos em resina plástica à base de glicol metacrilato (Historesin - LEIKA®). Foram obtidos cortes histológicos de modo seqüencial, por meio de micrótomo rotativo dotado de navalha de vidro, com 4 µm de espessura, os quais foram corados com solução de azul-de-toluidina / borato de sódio a 1%.

Ao microscópio de luz, com auxílio de ocular integradora de 100 pontos em aumento de 400 vezes, foram avaliadas as proporções volumétricas de túbulos seminíferos e do espaço intertubular no parênquima testicular, por contagem dos elementos teciduais correspondentes aos pontos, em dez campos aleatoriamente distribuídos, em cada animal. Inferindo-se a estas proporções o volume total do parênquima testicular, foram obtidos os volumes totais de cada componente testicular de todos os animais. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos e a espessura do epitélio seminífero foram estimados pela média das mensurações, por meio de ocular micrométrica, em 20 secções transversais de túbulos seminíferos, o mais circular possível, de cada animal.

Devido ao formato cilíndrico do túbulo seminífero, utilizou-se para o cálculo de seu comprimento a derivação da fórmula volumétrica do cilindro, onde comprimento tubular = volume de túbulos seminíferos/área da secção transversal do túbulo seminífero. Com o peso estimado de ambos os testículos, foi calculado o índice gonadossomático, que representa o percentual de massa corporal alocado em gônadas. Já para o cálculo do índice tubulossomático, inferiu-se ao índice anterior a proporção volumétrica correspondente aos túbulos seminíferos.

Os dados foram analisados pela estatística descritiva quanto à média, ao desvio-padrão (d.p.) e, em alguns casos, ao coeficiente de variação (CV) e ao coeficiente de correlação de Pearson (r), utilizando-se para isto o programa SAEG (Sistema para Análise Estatística e Genética, 2001).

RESULTADOS

O peso corporal médio dos animais estudados foi de 183,7 kg, variando entre 150 e 220 kg, dentro de uma faixa considerada normal para a espécie. Nos leões africanos estudados, o peso total dos testículos apresentou uma variação considerável ($cv = 46,6$), porém altamente correlacionada com a massa corporal ($r = 0,9$). Esses animais apresentaram índice gonadossomático (IGS) médio de 0,015%, sendo este parâmetro consistente quanto à similaridade do tamanho relativo dos testículos (Tabela 1).

Os animais estudados apresentaram 75,6 % de túbulo seminífero no parênquima testicular, o que

corresponde em média a 16,9 ml alocados em ambos os testículos. O índice tubulossomático (ITS) foi, em média, de 0,009% nos animais estudados (Tabela 2).

Os valores dos túbulos seminíferos encontrados em leões africanos foram, em média, 252,7 mm de diâmetro tubular e 93,2 mm de espessura média do epitélio seminífero. O comprimento total do túbulo seminífero, uma vez que representa o principal componente testicular, teve nestes animais, uma grande variação ($cv = 44,6$) também observada no tamanho testicular. Já o comprimento tubular por grama de testículo apresentou homogeneidade entre os animais estudados ($cv = 3,08$), sendo em média 12,3 metros de túbulo seminífero por grama de testículo (Tabela 3).

Tabela 1. Peso corporal (PC), peso do testículo direito (PTD), peso do testículo esquerdo (PTE), peso de ambos testículos (PAT), volume total do parênquima testicular (VTPT) e índice gonadossomático (IGS) de leões africanos adultos, mantidos em cativeiro

Animal	PC (g)	PTD (g)	PTE (g)	PAT (g)	VTPT (ml)	IGS (%)
1	188700	11,03	8,96	19,99	16,39	0,010
2	220000	27,63	20,78	48,41	39,69	0,022
3	150000	8,48	5,93	14,41	21,77	0,010
4	180000	14,45	13,50	27,95	22,92	0,016
5	180000	11,56	15,96	27,52	22,57	0,015
Média ± d.p.	183740 ± 25028,7	14,6 ± 7,6	13,0 ± 5,8	27,6 ± 12,9	24,6 ± 8,8	0,015 ± 0,005
CV (%)	13,6	51,9	44,6	46,6	35,6	33,3

DISCUSSÃO

O peso testicular foi calculado a partir de suas dimensões uma vez que, para este estudo, foram realizadas coletas de fragmentos através de biópsias testiculares. A estimativa do volume, através da fórmula matemática utilizada, mostrou-se efetiva em testículos de cães submetidos à castração, apresentando alta correlação com os valores correspondentes ao peso testicular (Mascarenhas *et al.*, 2006). Esta técnica foi utilizada com o mesmo propósito para a onça-parda (Guião Leite & Paula, 2003), para o lobo guará (Bittencourt *et al.*, 2004) e para a onça pintada (Azevedo *et al.*, 2006). De acordo com Johnson *et al.* (1981), a densidade volumétrica média do testículo de mamíferos é de aproximadamente 1,046g/ml, e, em decorrência deste fato, considerou-se neste trabalho, o volume testicular em mililitros igual à sua massa em gramas. A massa dos testículos de leões africanos não sofreu variação significativa entre os antímeros pelo teste *t* de Student a 5% probabilidade (SAEG, 2001), confirmando o

observado para todos os mamíferos já pesquisados (França & Russell, 1998).

Segundo França & Russell (1998), maior alocação e dispendimento energético em massa testicular são observados em animais de menor porte. Neste sentido, o índice gonadossomático em leões africanos adultos (0,015%) foi menor que os observados em felinos silvestres brasileiros, como a onça-parda (0,03%) (Guião Leite & Paula, 2003) e a onça-pintada (0,034%) (Azevedo *et al.*, 2006) e menor ainda que aqueles observados em pequenos felinos, como o gato doméstico (0,07%) (Godinho, 1999) e o gato selagem africano (0,05%) (Kenagy & Troumbulak, 1986).

Segundo Kenagy & Troumbulak (1986), o tamanho relativo dos testículos não se correlaciona com sua localização corporal, porém, é um forte indicador do sistema de acasalamento de uma determinada espécie (Short, 1997). As espécies de mamíferos em que uma fêmea cruza com vários machos, durante o período fértil do ciclo ovariano (ciclo estral), apresentam maiores

Tabela 2. Proporção volumétrica de túbulo seminífero (PVTS) e espaço intertubular (PVEIT), volume total de túbulo seminífero (VTTS) e índice tubulossomático (ITS) de leões africanos adultos, mantidos em cativeiro

Animal	PVTS (%)	PVEIT (%)	VTTS (ml)	ITS (%)
1	74,3	25,7	12,2	0,006
2	72,4	27,6	28,7	0,013
3	79,9	20,1	9,4	0,006
4	75,9	24,1	17,4	0,010
5	75,6	24,4	17,1	0,009
Média ± d.p.	75,6 ± 2,7	24,3 ± 2,7	16,9 ± 7,4	0,009 ± 0,003
CV (%)	3,5	11,1	43,8	33,33

índices gonadossomáticos em relação às espécies em que um único macho é responsável pela cópula. Isto se deve ao fato de, no primeiro caso, haver necessidade de maior produção espermática, uma vez que a competição pela fertilização ocorre no interior do trato genital feminino. Em leões africanos, assim como em onças-pintadas e em onças-pardas, o IGS reflete seu comportamento reprodutivo, no qual raramente uma fêmea copula com mais de um macho durante o cio (Hemker *et al.*, 1992). Não há, então, necessidade de grande investimento em massa testicular e conseqüente produção espermática, visto não haver competição entre espermatozoides de diferentes machos na fertilização de uma mesma fêmea (Kenagy & Troumbulak, 1986).

A túnica albugínea e o mediastino testicular compõem a morfofisiologia testicular, embora não participem diretamente da função espermatogênica ou androgênica. Nos estudos fisiológicos, estas estruturas são desconsideradas do peso testicular para a obtenção do cálculo do parênquima testicular (Johnson *et al.*, 1981). Na maioria das espécies domésticas, a proporção volumétrica da albugínea e do mediastino testiculares é geralmente em torno de 10% (França & Russell, 1998), porém estudos de carnívoros demonstram que estas estruturas são mais abundantes. Assim, Godinho (1999) observou no gato doméstico valores próximos a 18%; Mascarenhas *et al.* (2006) descrevem valores similares para o cão, assim como Bittencourt *et al.* (2004) para lobo-guará e Azevedo *et al.* (2006) para onça-pintada. Para se estimar a massa do parênquima testicular de leões africanos, foram considerados 18% do peso testicular alocado em albugínea e mediastino.

Tabela 3. Diâmetro do túbulo seminífero (DTS), espessura do epitélio seminífero (EES), comprimento do túbulo seminífero por grama de testículo (CTS/gT) e comprimento total do túbulo seminífero por testículo (CTTS/T) de leões africanos adultos, mantidos em cativeiro

Animal	DTS (m)	EES (m)	CTS/gT (m/g)	CTTS/T (m)
1	253,25	94,56	12,10	108,37
2	248,25	93,19	12,26	254,78
3	255,12	85,44	12,81	76,09
4	257,75	96,31	11,92	161,08
5	249,25	96,75	12,70	202,84
Média ± d.p.	252,72 ± 3,9	93,25 ± 4,6	12,36 ± 0,38	160,63 ± 71,63
CV (%)	1,54	4,93	3,08	44,60

Embora o termo parênquima testicular não seja totalmente adequado para a referência do testículo desprovido de albugínea e mediastino testiculares, é amplamente mencionado na literatura especializada (Berndtson, 1977; Johnson *et al.*, 1981; Russell *et al.*, 1990a; Johnson *et al.*, 2000). O parênquima testicular pode ser dividido em dois compartimentos: o tubular e o intertubular (Amann, 1970; Fawcett *et al.*, 1973; Amann & Schanbacher, 1983; Russell *et al.*, 1990a). O compartimento tubular é caracterizado como principal componente do testículo na grande maioria dos mamíferos, exercendo grande influência sobre o peso testicular e, por conseqüência, sobre a produção espermática (Amann, 1970; França & Russell, 1998; Paula *et al.*, 1999). Com exceção dos baixos valores descritos em estudos da marmota e da capivara (Russell *et al.*, 1990b; Costa & Paula, 2003), a maioria dos mamíferos investigados apresentara entre 70 e 90% de túbulos seminíferos no parênquima testicular (Paula & Cardoso, 1994; França & Russell, 1998), incluindo nesta faixa os valores observados em felinos, como o gato doméstico, com cerca de 90% (Godinho, 1999), a onça-parda com 78% (Guião-Leite & Paula, 2003) e ainda a onça-pintada com 77,7% (Azevedo *et al.*, 2006). O leão africano apresentou 75,6% de túbulo seminífero no parênquima testicular, o que corresponde à média de 17 mililitros alocados em ambos os testículos.

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que visa quantificar o investimento em túbulo seminífero relativo à massa corporal do animal. Assim sendo, o leão africano aloca, em média, 0,009% do peso corporal em túbulos seminíferos, sendo este valor, menor que o observado na onça-pintada (0,022%)

(Azevedo et al., 2005) e na onça-parda (0,02%) (Guião-Leite & Paula, 2003). O índice tubulossomático de 0,06% no gato doméstico (Godinho, 1999) demonstra maior investimento corporal desta espécie na produção espermática, reafirmando a tendência descrita por Kenagy & Troumbulak (1986) para animais de menor porte.

A medida do diâmetro tubular é uma abordagem utilizada como indicador da atividade espermatogênica em experimentos que envolvem a função testicular (Godinho & Cardoso, 1979; Sinha-Hikim *et al.*, 1991; Russell *et al.*, 1994; Muñoz *et al.*, 1998; França & Cardoso, 1998; França & Godinho, 2003). Embora o valor encontrado para o diâmetro tubular médio possa chegar a 550 mm em algumas espécies de marsupiais australianos (Woolley, 1975), o valor tipicamente observado para a maioria dos amniotas varia de 180 a 300 mm (Roosen-Runge, 1977). Os valores encontrados em leões africanos foram, em média, 252,7 mm, apresentando-se muito próximo daqueles observados na onça-parda (Guião-Leite & Paula, 2003), na onça-pintada (Azevedo *et al.*, 2006) e no gato doméstico (Godinho, 1999), sendo enquadrados dentro da amplitude citada para as demais espécies estudadas.

Segundo Wing & Christensen (1982), a mensuração da espessura do epitélio seminífero é mais efetiva para a avaliação da produção espermática do que o diâmetro tubular. No leão africano, a espessura média do epitélio seminífero foi de 93,2 μm , estando acima do observado para o gato doméstico (81mm/ Godinho, 1999), a onça-parda (67mm/ Guião Leite & Paula, 2003) e semelhante ao da onça-pintada (90,3 mm/Azevedo *et al.*, 2006), embora esteja dentro da amplitude observada nos animais domésticos, que é de 60 a 100 mm (França & Russell, 1998).

O leão africano apresenta em média 12,3 metros de túbulo seminífero por grama de testículo, valor dentro da faixa de 10 a 15 m/g descrita para a maioria dos animais

domésticos (França & Russell, 1998), porém abaixo dos valores encontrados para o gato doméstico, 23 m/g (Godinho, 1999), para a onça-parda, 18 m/g (Guião Leite & Paula, 2003) e muito semelhante ao da onça-pintada, 12,2m/g (Azevedo *et al.*, 2006). Os valores decrescentes registrados, respectivamente, para o gato doméstico, a onça-parda, o leão-africano e onça-pintada reafirmam o investimento inverso na produção espermática com relação à massa corporal.

O tamanho testicular reflete o comprimento total do túbulo seminífero, uma vez que este é o seu principal componente. Nos leões africanos, foi observada grande variação entre indivíduos quanto ao comprimento total de túbulo seminífero ($cv = 44,6$), acompanhando a grande variação encontrada para o volume testicular. Entretanto, esta variação deve ser desconsiderada quando analisada por unidade de peso testicular ($cv = 3,08$), demonstrando, mais uma vez, a constância do investimento na produção espermática desta espécie.

CONCLUSÃO

Nos leões africanos adultos mantidos em cativeiro, utilizados neste estudo, os índices gonadossomático e tubulossomático foram, respectivamente, 0,015% e 0,009%, sendo a proporção volumétrica de túbulos seminíferos, em média, de 75,6%. O diâmetro tubular médio nestes animais e a altura média do epitélio seminífero foram de 252,7 μm e 93,2 μm , respectivamente. Leões apresentaram em média 12,3 metros de túbulo seminífero por grama de testículo.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, à Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte/MG. Ao Parque Zoobotânico Municipal de Pouso Alegre/MG. Aos Zoológicos Municipais das cidades de Paulínia/SP, Americana/SP e Limeira/SP.

REFERÊNCIAS

- Alden P, Estes R, Schlitter D, McBride B (1998) National Audubon Society Field Guide to African Wildlife. New York, Alfred A. Knopf Incorporation. pp. 112-128.
- Amann RP (1970) Sperm production rates. In: Johnson AD, Gomes WR, Vandemark NL (Eds.) The testis. New York, Academic Press. pp. 433-482.
- Amann RP, Schanbacher BD (1983) Physiology of male reproduction. J Anim Sci Suppl 57: 380-403.
- Attia KA, Zaki AA, Eilts BE, Paccamonti DL (2000) Anti-sperm antibodies and seminal characteristics after testicular biopsy or epididymal aspiration in dogs. Theriogenology 53: 1355-1363.
- Azevedo MHF, Paula TAR, Matta SLP, Fonseca CC (2006) Morfometria testicular e o túbulo seminífero da onça pintada (*Panthera onca*). Revista CERES (no prelo).
- Berndtson WE (1977) Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. J Anim Sci 44: 818-883.
- Bittencourt VL, Paula TAR, Matta, SLP, Fonseca CC, Neves MTD, Costa MEL, Malta MC, Coelho CM, Bastos JAB (2004) Avaliação da população celular do epitélio seminífero e índices indicativos da população espermática, através de biópsia testicular em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811) adulto. Rev Bras Rep Anim 28: 108-113.
- Cat Specialist Group (2003) "*Panthera leo*". 2003 IUCN Red list of Threatened Species. Disponível em: <http://www.redlist.org/search/details.php?species=15951>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2005.
- CITES, Convention on International Trade in Endangered Species. 2005. Disponível em: http://www.ukcites.gov.uk/intro/cites_species.htm. Acesso em: 29 outubro 2005.
- Costa DS, Paula TAR (2003) Coleta e avaliação do sêmen de catetos (*Tayassu tajacu*). Scientia 4: 44-53.
- Estes R (1993) The Safari Companion: A Guide to Watching African Mammals. Vermont, Chelsea Green Publishing Company. pp. 89-103.
- Fawcett DW, Neaves WB, Flores MN (1973) Comparative observations on intertubular lymphatic and organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. Biol Reprod 9: 500-532.
- França LR, Cardoso FM (1998) Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. Tissue Cell 30: 573-582.
- França LR, Russell LD (1998) The testis of domestic mammals. In: Regadera J, Martinez-Garcia F (Eds.) Male reproduction: a multidisciplinary overview. Madrid, Churchill Livingstone. pp. 197-219.
- França LR, Godinho CC (2003) Testis morphometry seminiferous epithelium cycle length and daily sperm production in domestic cats. Biol Reprod 68: 1554-1561.
- Godinho HP, Cardoso FM (1979) Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. Arq Esc Vet UFMG 31: 351-361.
- Godinho CL. 1999. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*) sexualmente maduros. Tese de Mestrado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 123p.
- Guião Leite FL, Paula TAR (2003) Rendimento intrínseco da espermatogênese, o índice de células de Sertoli e a produção espermática diária da onça parda (*Puma concolor*). Rev Bras Reprod Anim 27: 21-26.
- Guião Leite FL, Paula TAR, Matta SLP, Fonseca CC, Neves MTD, Barros JBG (2006) Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma (*Puma concolor*) Anim Reprod Sci 91: 307-316.
- Hemker TP, Lindzey FG, Ackerman BB (1992) Population Characteristics and Movement Patterns of Cougars in Southern Utah. Journal of Wildlife Management 48: 1275-1284.
- Hunt WL, Foote RH (1997) Effect of repeated testicular biopsy on testis function and semen quality in dogs. J. of Andrology 18: 740-744.
- IUCN, The World Conservation Union, "*Panthera leo*". 2004. Disponível em: <http://lynx.uio.no/catfolk/lion>. Acesso em: 12 fevereiro 2005.
- Johnson L, Petty CS, Neves WB (1981) A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. Biol Reprod 25: 217-226.
- Johnson L, Varner DD, Roberts ME, Smith TL, Keillor GE, Scrutchfield WL (2000) Efficiency of spermatogenesis: A comparative approach. Anim Reprod Sci 60: 171-180.
- Kenagy GJ, Trombulak SC (1986) Size And Function Of Mammalian Testes In relation to body size. J Mamm 67: 1-22.
- Lopate C, Threlfall WR, Rosol TJ (1989) Histopatologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. Theriogenology 32: 585-602.
- Mascarenhas RM, Paula TAR, Carretta Júnior M, Ribeiro ECS, Borboleta LR, Matta SLP (2006) Efeitos da biópsia incisional testicular sobre o rendimento intrínseco da espermatogênese e índices de células de sertoli em cães. Revista CERES 53: 100-105.
- Moreira JR. 1995. The reproduction, demography and management of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) on Marajó Island- Brazil. Oxford, England: University of Oxford. Thesis.
- Muñoz EM, Fogal T, Dominguez S, Scardapane L, Guzman J, Cavicchia JC, Piezzi RS (1998) Stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the viscacha (*Lagostomus maximus maximus*). Anat Rec 252: 8-16.

- Munson L, Brown JL, Bush M, Packer C, Janssen D, Reiziss SM, Wildt DE (1996) Genetic diversity affects testicular morphology in free-ranging lions (*Panthera leo*) of the Serengeti Plains and Ngorongoro Crater. *J Reprod Fert* 108:11-15.
- Olar TT, Amann RP, Pickett BW (1983) Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. *Biol Reprod* 29: 1114 - 1120.
- Paula, TAR, Cardoso, FM (1994) Alterações etárias na espermatogênese do cão. I. Análise histométrica. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 46: 19-30.
- Paula TAR. 1999. Avaliação Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Tese de Doutorado. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 84p.
- Paula TAR, França LR, Garcia HC (1999) Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Tissue & Cell* 31: 327-334.
- Roosen-Runge EC (1977) The process of spermatogenesis in animals. Cambridge, University Press. pp. 32-78.
- Russell LD, Ettlín RA, Sinha-Hikim EP, Clegg ED (1990a) Histological and histopathological evaluation of the testis. New York, Cache River Press. pp. 196-254.
- Russell LD, Ren HP, Sinha-Hikin I, Schulze W, Sinha-Hikin AP (1990b) A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. *Am J Anat* 188: 21-30.
- Russell LD, Chandrashekar V, Bartke A, Sinha-Hikim AP (1994) The hamster Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. *Int J Androl* 17: 93-106.
- Saeg, 2001. Sistema para análise estatística e genética. Viçosa: Editora UFV.
- Short RV (1997) The testis: the witness of the mating system, the site of mutation and the engine of desire. *Acta Paediatr Suppl* 422: 3-7.
- Sinha-Hikim AP, Sinha-Hikim IS, Amador AG, Bartke A, Woolf A, Russell LD (1991) Reinitiation of spermatogenesis by exogenous gonadotropins in a seasonal breeder, the woodchuck (*Marmota monax*), during gonadal inactivity. *Am. J Anat* 192: 194-213.
- Threlfall WR, Lopate C (1993) Testicular biopsy. In: Mc Kinnon AO, Voss JL. (Eds.) *Equine Reproduction*. Lea & Febiger: Philadelphia, London. pp. 943-949.
- Urban M, West P (2002) "Lion Research Center". Disponível em: <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/local/redirect.php/http://www.lionresearch.org/>. Acesso em: 15 de abril de 2005.
- Wildt ED, Bush M, Goodrowe KL, Packer C, Pusey AE, Brown JL, Joslin P, O'Brien SJ (1987) Reproductive and genetic consequences of founding isolated lion populations. *Nature* 329: 328-331.
- Wing TY, Christensen AK (1982) Morphometric studies on rat seminiferous tubule. *Am J Anat* 165: 13-25.
- Woolley P (1975) The seminiferous tubules in dasyurid marsupials. *J Reprod Fert* 45: 255-261.