

ALEX SANDER DIAS MACHADO

**Estudo do sistema reprodutor masculino do Lobo-Marinho-do-Sul**  
**(*Arctocephalus australis*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia de Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências

**Departamento:**

Cirurgia

**Área de Concentração:**

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

**Orientadora:**

Profa. Dra. Paula de Carvalho Papa

São Paulo  
2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1693  
FMVZ

Machado, Alex Sander Dias

Estudo do sistema reprodutor masculino do Lobo-Marinho-do-Sul (*Arctocephalus australis*) / Alex Sander Dias Machado.- São Paulo: A. S. D. Machado, 2006.  
135 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2006.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Profa. Dra. Paula de Carvalho Papa.

1. *Arctocephalus australis*. 2. Sistema reprodutor masculino.  
3. Anatomia. 4. Reprodução animal. I. Título.

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MACHADO, Alex Sander Dias

Título: Estudo do sistema reprodutor masculino do Lobo-Marinho-do-Sul  
(*Arctocephalus australis*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia de Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

*Aos meus Pais e irmãs, meu maior motivo de luta.*

*Dedico esta parte de meu trabalho aos animais, que são, o todo.  
Uma salva de silêncios às almas e corpos dos bichos que estudei*

## ***Agradecimentos***

Agradeço a Profa. Paula de Carvalho Papa, que acolheu meus pensamentos e anseios e dedicou-me atenção e ensinamentos. Você torna-se parte de minha intelectualização e forma de pensar, fazer ciência e viver.

À querida Prof. Maria Angélica Miglino, que ofereceu-me uma bênção e apoio, e me trouxe para a Universidade de São Paulo, estudar os pinípedes.

Ao Prof. Francisco Javier Hernandez-Blazquez pelo apoio, ensino e entusiasmo.

Ao Prof. Alfredo Le Bas, fisiologista, anatomista, biólogo e veterinário, apaixonado pela vida marinha que me acompanhou em caminhadas pelas praias frias em busca de material.

A Organização Civil PROFAUMA, na pessoa de seu Presidente Daniel Del Bene e de sua filha Kiara.

Ao DINARA na pessoa do Sr. Ponce de Leon, pelo apoio concedido.

A Ana Paula da Silva, bióloga e companheira.

A Laura Pacheco Artoni pela amizade e auxílio na imuno-histoquímica.

Ao Carlos Eduardo Bezerra de Moura pelas correções anatômicas.

A todos os colegas do Laboratório para Estudos Morfofuncionais e Endocrinologia – LEME, Fernando, Liza, Vanessa, Edu, Danila, Celina, Mariana, Luciana e demais.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Ao Departamento de Cirurgia, Setor de Anatomia de FMVZ –USP, hoje e, espero, sempre parte de meu lar.

Aos funcionários e amigos Maicon e Jackeline, Diogo, Ronaldo, Índio e demais que sempre mostraram-se prestativos.

A querida Tia Maria Helena e Tio Jorge, por todo o apoio e carinho que nos dão.

À Thais, a mais valente das mulheres, que ao meu lado enfrenta a vida e cria a Flora.

Sua bênção, senhor.

*Vida animal tem cada bicho interessante,  
e dos mamíferos é o homem o mais falante...*

## RESUMO

MACHADO, A. S. D. **Estudo do sistema reprodutor masculino do Lobo-Marinho-do-Sul (*Arctocephalus australis*)**. [Study of the Male Reproductive System of Southern-Fur-Seal (*Arctocephalus australis*)]. 2006. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

O Lobo-Marinho-do-Sul (*Arctocephalus australis*), carnívoro, caniforme, membro da superfamília dos *Focóides*, família *Otaridae*, é o mais comum mamífero marinho pertencente à fauna brasileira. É freqüentemente avistado, nos meses de outono e inverno na costa do Brasil, desde o Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul. Ainda é discutido se algum dia este animal já possuiu colônias reprodutivas neste país. É histórica a grande pressão antrópica que esta espécie recebeu, sendo explorado pelas populações litorâneas, para aproveitamento de sua pele, óleo e carne desde a antiguidade. No Uruguai, foram por muitos séculos abatidos em números que variavam em torno de 10 mil animais por ano, com o intuito de aproveitamento de sua pele para a confecção de casacos e testículos, para confecção de elixires no Oriente. Porém, deixou de ser explorado comercialmente naquele país na década de 80 e desde então seu número vem aumentando, e por isso especula-se sobre o surgimento de novos sítios reprodutivos em ilhas pedregosas, típicas de sua preferência. É possível até que estuários como o de Cananéia no litoral sul do Estado de São Paulo – BR, possam receber esta espécie nos meses de verão, o que, de acordo com a sazonalidade de sua reprodução, ocorre nesta época. Esse novo “pólo reprodutivo” pode representar um desbravamento de novas áreas (ou mesmo retorno a antigas áreas) pela espécie. É ainda muito escassa a literatura sobre esta espécie e poucos pesquisadores brasileiros a conhecem. Este trabalho



buscou através da coleta de indivíduos (cinco jovens e um adulto) em óbito recente, por causas naturais, contribuir com conhecimentos anatômicos, histológicos, ultraestruturais e imuno-histoquímicos do sistema reprodutor masculino do *Arctocephalus australis* de animais jovens e adultos. Os resultados demonstraram muitas vezes a singularidade da espécie estudada: expressiva queratinização da camada córnea do epitélio escrotal e forte coloração negra nesta região; diferença estrutural existente entre as túnicas albugínea do testículo e do pênis: na primeira observaram-se fibras elásticas bem distribuídas e ausência destas fibras na segunda; ausência de ampolas nos ductos deferentes; uretra pélvica pequena; bulbo do pênis ventral aos pilares penianos e posicionamento singular do seu osso peniano; glândula do pênis petaliforme. Encontramos um grande grau de adaptação do sistema reprodutor do macho ao da fêmea, nas duas idades estudadas, demonstrando que a evolução foi direcionada para o ciclo reprodutivo do tipo monoéstrico-estacional, de modo a otimizar a cópula e o volume do ejaculado, garantindo a deposição do sêmen o mais próximo possível do óstio uterino externo da fêmea, e conseqüentemente uma maior taxa de concepção.

Palavras-chave: *Arctocephalus australis*. Sistema reprodutor masculino. Anatomia.

Reprodução animal.

## ABSTRACT

MACHADO, A. S. D. **Study of the male reproductive system of Southern-Fur-Seal (*Arctocephalus australis*)**. [Estudo do sistema reprodutor masculino do Lobo-Marinheiro-do-Sul (*Arctocephalus australis*)]. 2006. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

The Southern-Fur-Seal (*Arctocephalus australis*) *Carnivora, Caniform*, member of the Superfamily *Focoidae*, Family *Otaridae*, is the most common marine mammal in Brazilian seas, frequently seen in the months of autumn and winter in the coast from Rio de Janeiro until Rio Grande do Sul. There are controversies if some day *A. australis* already possessed reproductive colonies in this country. The great anthropic pressure over the species is historical, being explored by coast populations because of its skin, oil, and meat. In Uruguay, it was slaughtered for many centuries in numbers that reached 10 000 animals per year: the skin was used for the confection of coats and testis, for elixir in the East. However, since the beginning of the decade of 80, commercial exploitation stopped and its number started increasing. Therefore one speculates on the sprouting of new reproductive places in stony islands, typical of its preference, and it is possible that estuaries like Cananéia, in the south coast of the State of São Paulo – BR, started to receiving this species in the summer months, what is in accordance with the reproductive season, which occurs at this time of the year. It can represent an opening of new areas (or even a return the old areas) for the species. Literature is still very scarce on this species and few Brazilian researchers know about it. For developing this work, six recent dead for natural causes individuals (five young and one adult) were collected and the reproductive tract was submitted to anatomical, histological, ultrastructural and immunohistochemistry approaches aiming

to improve the knowledge about the male reproductive system of the *Arctocephalus australis* of two ages. Results pointed towards peculiarities of the studied species: expressive keratinization of scrotal epithelium; structural differences between the *tunica albuginea* in the testis and penis: only in the testis elastic fibers could be observed; no *ductus deferens ampulae*, small pelvic urethra; glans penis in flower shape. We found a great degree of adaptation of the reproductive system of the male to the one of the female, in the two ages studied, demonstrating that the evolutive orientation was in direction of sazonal-monoestric reproductive cycle, in order to optimize copulation and the volume of the semen, guaranteeing the deposition of the semen as next as possible to the external female uterine ostium and consequently a bigger tax of conception.

Key work: *Arctocephalus australis*. Male reproductive system. Anatomy. Animal reproduction.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1-	Medidas padrão pinípedes IBAMA.....	44
Figura 1-	A- Fotografia de uma família <i>A. australis</i> . B – Fotografia do Lobo-Marinheiro-do-Sul macho jovem – decúbito dorsal. C- Fotografia do sistema reprodutor <i>A .australis</i> masculino dissecado.....	47
Figura 2-	A – Fotografia do Escroto. B, C e D – Fotomicrografias do Escroto.....	49
Figura 3-	A – Fotografia e esquema dos Testículos do macho adulto <i>in situ</i> . B- Fotografia de corte transversal do testículo. C- Fotografia de corte longitudinal do testículo.....	51
Figura 4-	Fotomicrografias do Testículo.....	53
Figura 5-	A e C- Fotomicrografias de Imuno-histoquímica para Enzima P450arom, em animal jovem. B e D- Fotomicrografias de Imuno-histoquímica para Enzima P450arom, em animal adulto.....	55
Figura 6-	A e B - Fotomicrografias da Túnica Albugínea testicular. C e D- Fotomicrografias do Mediastino testicular.....	57
Figura 7-	Fotomicrografias do Ducto Eferente adulto e jovem.....	59
Figura 8-	A - Fotografia da porção final do Ducto Deferente e Uretra pélvica com Próstata. B, C, e D- Fotomicrografias do ducto deferente.....	61
Figura 9-	A - Fotografia e esquema da bexiga e ligamentos. B- Fotografia e esquema da Cavidade pélvica dissecada. C- tributação Venosa testicular.....	63
Figura 10-	Fotomicrografias da Próstata.....	65
Figura 11-	A e B- Fotomicrografias da uretra Uretra Pélvica.C e D- Fotomicrografias da Uretra peniana.....	69

Figura 12-	A- Fotografia de corte longitudinal do pênis jovem. B- Fotografia da vista lateral da Raiz do Pênis. C-Fotografia da vista proximal da raiz do pênis, seccionada transversalmente .....	71
Figura 13-	Fotomicrografias do Pênis e Túnica Albugínea.....	73
Figura 14-	A e B- Fotografia da Glânde Peniana (A- Adulta, B- jovem). C e D- Fotomicrografias da Borda Petaliforme da glânde.....	75
Figura 15-	Eletromicrografias de Microscopia Eletrônica de Varredura da Coroa da glânde.....	77
Figura 16-	A e B- Fotomicrografias do Osso peniano descalcificado. C e D- Fotomicrografias do Prepúcio. E -Técnicas de Determinação de Idades através dos Dentes Caninos , fotografias e fotomicrografias.....	81

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
2.1	<b>Filogenia</b> .....	<b>21</b>
2.2	<b>“Status” e Conservação</b> .....	<b>23</b>
2.3	<b>Ecologia e Biologia da Espécie</b> .....	<b>27</b>
2.4	<b>Anatomia dos Focóides</b> .....	<b>29</b>
2.5	<b>Reprodução do Lobo-Marinho-do-Sul</b> .....	<b>33</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
3.1	<b>Obtenção de Blocos para Microscopia</b> .....	<b>40</b>
3.2	<b>Colorações Histológicas</b> .....	<b>40</b>
3.3	<b>Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura</b> .....	<b>41</b>
3.4	<b>Protocolo para Descalcificação do Osso Peniano e Caninos</b> .....	<b>42</b>
3.5	<b>Protocolo para Imuno-histoquímica</b> .....	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>45</b>
4.1	<b>Escroto</b> .....	<b>46</b>
4.2	<b>Testículos</b> .....	<b>50</b>
4.2.1	<i>Túbulos Seminíferos</i> .....	<b>54</b>
4.2.2	<i>Túbulos Retos</i> .....	<b>54</b>
4.2.3	<i>Rede Testicular</i> .....	<b>56</b>
4.2.4	<i>Ductos Eferentes</i> .....	<b>56</b>
4.3	<b>Epidídimo</b> .....	<b>56</b>

4.4	<b>Funiculo Espermático</b> .....	60
4.5	<b>Ducto Deferente</b> .....	62
4.6	<b>Próstata</b> .....	64
4.7	<b>Uretra</b> .....	66
4.7.1	<i>Uretra Prostática</i> .....	66
4.7.2	<i>Uretra Pélvica</i> .....	67
4.7.3	<i>Uretra Peniana</i> .....	68
4.8	<b>Pênis</b> .....	70
4.8.1	<i>Raiz do Pênis</i> .....	70
4.8.2	<i>Corpo do Pênis</i> .....	74
4.8.3	<i>Glande do Pênis</i> .....	76
4.9	<b>Oso Peniano</b> .....	79
4.10	<b>Prepúcio</b> .....	80
4.11	<b>Determinação das Idades</b> .....	80
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	82
5.1	<b>Escroto</b> .....	83
5.2	<b>Testículos</b> .....	85
5.3	<b>Epidídimo</b> .....	93
5.4	<b>Funiculo Espermático</b> .....	95
5.5	<b>Ducto Deferente</b> .....	96
5.6	<b>Próstata</b> .....	99
5.7	<b>Uretra</b> .....	102

5.8	<b>Pênis</b> .....	105
5.8.1	<i>Raiz do Pênis</i> .....	107
5.8.2	<i>Bulbo do Pênis</i> .....	108
5.8.3	<i>Glande do Pênis</i> .....	110
5.9	<b>Oso Peniano</b> .....	113
5.10	<b>Prepúcio</b> .....	115
5.11	<b>Determinação das Idades</b> .....	116
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	117
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	120



## 1 Introdução

---

## 1 INTRODUÇÃO

Cinquenta espécies de mamíferos marinhos habitam ou freqüentam a Zona Marítima brasileira. Destas, poucas foram estudadas morfológicamente. Oito delas estão incluídas na Lista Oficial de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção (IBAMA, 1998) e outras possuem dados disponíveis insuficientes para que possam ser classificadas quanto a seu risco de desaparecimento. Muitos trabalhos já foram feitos e avanços conseguidos mediante atuação de ambientalistas e políticos envolvidos com a preservação da fauna brasileira, porém ainda há muito a evoluir enquanto País soberano e consciente de suas riquezas. Águas marítimas brasileiras são citadas como das mais importantes, guardando ecossistemas e biodiversidades que, caso venham a desaparecer, levam consigo todas as possibilidades de estudos e conquistas únicas para toda a Terra (IBAMA, 2001).

Das sete espécies de Pinípedes que existem em nosso território, algumas estão seriamente ameaçadas de extinção: o Peixe-Boi- Amazônico (*Trichechus inunguis*) é ainda hoje muito caçado em seu habitat e o Peixe-Boi-Marinho (*Trichechus manatus*) já desapareceu de muitos estados - sua população total atual é de aproximadamente 500 animais; a Ariranha (*Pteronura brasiliensis*) está em risco muito alto de extinção na natureza em futuro próximo, em virtude de destruição e alteração de seu habitat; o Leão-Marinho (*Otária flavescens*) é classificado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) como espécie em baixo risco de extinção, porém, vem sofrendo grande pressão antrópica em águas brasileiras, ou seja, é ainda muito caçado e morto em quantidades relevantes por pescadores ou veranistas que os molestem (MMA, 2002).

O Lobo-Marinheiro-do-Sul (*Arctocephalus australis*) é uma espécie pouco estudada e raros são os dados conhecidos para que se possa avaliar seu *status* de ameaça. É registrada nos meses de outono e inverno na costa brasileira e, assim como o Leão-Marinheiro, também é bastante grande a pressão antrópica que sofre em águas sob jurisdição brasileira pois a degradação do ambiente costeiro devido à poluição, a sobrepesca de peixes que fazem parte de sua alimentação e a morte intencional por molestamentos humanos ou pela captura acidental em redes de pesca, são ameaças reais a esta espécie (CRESPO, 1985).

O *Arctocephalus australis*, o qual possuía uma colônia reprodutiva no Rio Grande do Sul (PALAZZO; BOTH,1988), é avistado em maior número que todas as outras espécies de Pinípedes em nosso litoral, desde o Rio Grande do Sul até o Rio de Janeiro, sendo a maioria dos registros representados por machos ou indivíduos jovens. Esta espécie sempre despertou interesse nas populações litorâneas devido a sua pele, gordura (óleo), carne e testículos, e foi inclusive explorada pelo próprio governo uruguaio, que chegou a abater mais de 10.000 destes animais por ano (XIMENES; MALEKY; BATALLÉS,1988). Seu tecido adiposo apresenta grande concentração de ácidos graxos do tipo Ômega (GRAMPONE; SIENDRA; QUILEZ, 1992). Como característica peculiar apresenta ainda um retardo na implantação do seu óvulo fecundado (blastocisto) ao endométrio, o que desperta o interesse da comunidade científica, e pode se tornar um modelo de estudo importante para o processo de implantação.

O estudo do sistema reprodutor do macho desta espécie pode contribuir para melhor compreensão do seu ciclo reprodutivo e dos fenômenos sazonais que envolvem sua biologia.

Ainda é escassa a literatura especializada sobre esta espécie, tanto relativo às suas características ecológicas, quanto fisiologia e morfologia. A caracterização morfológica, do comportamento reprodutivo e da estrutura genética de populações naturais são muito importantes para a conservação e uso da variabilidade genética disponível em programas de melhoramento e preservação (MIGLINO, 2005).

Este trabalho visa: descrever o aparelho reprodutor do macho do *Arctocephalus australis*, macroscópica e microscopicamente; comparar os animais jovens ao adulto, tentando estipular a idade de sua maturação fisiológica reprodutiva; levantar dados sobre a topografia visceral desta espécie, principalmente a de seus órgãos reprodutores, disponibilizar metodologias de estudos deste animal, discutindo os dados obtidos dentro do contexto fisiológico, o que poderá contribuir para o maior conhecimento da espécie por parte de pesquisadores, sociedade brasileira e mundial e também poderá ser usado como base para pesquisas futuras que visem propiciar condições de melhoria na qualidade de vida do Lobo-Marinho-do-Sul, garantindo assim sua manutenção como importante ser vivo deste Planeta.

## **2 Revisão Bibliográfica**

---

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Conhecer a origem filogenética, a ecologia, a anatomia e a biologia reprodutiva do Lobo-Marinheiro-do-Sul, é prazeroso e elucidativo à compreensão dos fundamentos deste estudo.

### 2.1 Filogenética

Cetáceos e Pinípedes originaram-se de espécies de mamíferos terrestres distintas, durante o período Eoceno (há 50 milhões de anos) e o período Mioceno (há 23 Milhões de Anos), respectivamente (ALMAÇA, 1998; PALAZZO; BOTH, 1988; PINEDO, 1992; RIDGWAY; HARRISON, 1993). Entre os Pinípedes, os *Focídeos* surgiram no Meio-Mioceno (de 16,3 a 14,2 Milhões de Anos), aparecendo os *Otarídeos* apenas no final do Mioceno (de 10,4 a 6,7 Milhões de Anos) e destes, os *Arctocephalídeos* do Hemisfério Norte se diferenciaram no final do Plioceno (de 3,4 a 1,64 Milhões de Anos) e os do Hemisfério Sul, no Pleistoceno recente, há cerca de 10 mil anos (DEMÉRÉ; BERTA; ADAM, 2003). A morfologia dos leões-marinhos, lobos-marinhos, focas e morsas indica uma relação filogenética com o grupo dos ursos (enaliarctídeos) (PINEDO, 1992) e ambos os grupos possuem ancestral monofilogenético comum, o taxon *Enaliarctos* e seus relativos, que habitavam o norte do Oceano Pacífico há aproximadamente 27-30 milhões de anos (COLLINS; TSANG; LOFTS, 1982).

O termo Pinípedes (do latim, *pinna*, pena e *podos*, pés) foi criado por Liger, em 1811, para designar a 13.<sup>a</sup> Ordem e a 37.<sup>a</sup> Família da sua classificação dos Mamíferos, Subordem dos Carnívoros. Contudo, para alguns autores, seriam os Pinípedes uma Ordem ou mesmo uma Subordem, a *Pinnipedia*. Recentemente, a nova classificação dos Mamíferos (MCKENNA; BELL, 1998) substituiu a Ordem ou Subordem dos Pinípedes pela Superfamília dos Focóides, relacionada filogeneticamente aos ursos, integrada na Subordem dos Caniformes (ALMAÇA, 1998; MCKENNA; BELL, 1998). Entretanto, o termo “pinípede” ainda é amplamente usado por pesquisadores e órgãos governamentais, e será utilizado neste trabalho, porém, representando apenas o modo como tais espécies são popularmente conhecidas, não caracterizando nenhuma classificação taxonômica. Incluem-se neste grupo 20 gêneros, 31 espécies e 16 sub-espécies, que coletivamente, respondem no mundo por uma população de 15 a 25 milhões de indivíduos (ANIMAL DIVERSITY, 2006). Os leões-marinhos, lobos-marinhos, elefantes-marinhos, focas e morsas, adaptados à vida aquática e terrestre, são divididos em três famílias: Família *Otariidae* (Lobos e Leões-marinhos), a Família *Odobenidae* (Morsas) e a Família *Phocidae* (Focas e Elefantes-marinhos) (SCHEFER, 1969); no entanto, apenas algumas espécies das famílias *Otariidae* e *Phocidae* ocorrem em águas brasileiras (IBAMA, 2001; MMA, 2000; PALAZZO; BOTH, 1988).

A espécie *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783), Ordem *Carnivora* (Bowdich, 1821), Subordem *Caniformia* (Kretzoi, 1943), Superfamília *Phocoidea* (MCKENNA; BELL, 1998), Família *Otariidae* (Gray, 1825), Subfamília *Arctocephalinae* (Gray, 1859), Gênero *Arctocephalus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire & F. Cuvier, 1826)

(USDA, 2005; MCKENNA; BELL,1998), é conhecida pelos nomes comuns de Lobo-Marinheiro-do-Sul, lobo-marinho de dois pêlos, lobo-fino, urso-marinho e *south american fur seal*, assim chamado devido à existência de um “lobo-marinho” em Portugal. Usualmente se distinguem 2 subespécies, *Arctocephalus australis gracilis* (Zimmermann,1780) com habitat continental e *Arctocephalus australis australis* (Nehring,1887) habitante das Ilhas Malvinas (ITIS-USDA, 2005; PALAZZO; BOTH, 1988); porém, esta divisão ainda é discutida (RIDGWAY; HARRISON, 1993). Recente trabalho encontrou diferenças genéticas significativas e propõe que a espécie *A. australis* refira-se apenas aos animais encontrados na costa Atlântica da América do Sul e, que os lobos-marinhos da costa Pacífica, sejam denominados provisoriamente de *Arctocephalus sp. A* (OLIVEIRA, 2005).

## **2.2 “Status” e Conservação**

Segundo o Ministério do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (MMA, 2002), a Zona Costeira Brasileira é uma unidade territorial definida em legislação, para efeitos de gestão ambiental, que se estende por 17 estados e abriga mais de 400 municípios, distribuídos do norte equatorial ao sul temperado do País, tendo como aspectos diferenciais sua extensão e a grande variedade de espécies e de ecossistemas. Em termos de área de abrangência, a linha de costa se estende por 7300 Km, número que se eleva para mais de 8500 Km, quando se consideram os recortes litorâneos.



Já a Zona Marinha, que se estende da região costeira por até 200 milhas marítimas (370 Km), constitui-se em Zona Econômica Exclusiva, que além de fornecer parte substancial dos alimentos consumidos no Planeta, responde por diversos recursos minerais, com destaque para o petróleo. Existem no território nacional, de Norte a Sul do País, cinquenta espécies de mamíferos aquáticos que aqui encontram abrigo, entre os quais cetáceos (39), pinípedes (7), sirênios (2) e mustelídeos (2); várias destas incluídas na Lista Oficial de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção e outras com dados disponíveis insuficientes para que possam ser classificadas (IBAMA, 1998, 2001; MMA, 2002).

A International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources - IUCN, coloca em sua *Red List of Threatened Species* (Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas de Extinção), referente ao ambiente marinho brasileiro, 30 espécies: destas, 8 são mamíferos (IUCN, 2000). De acordo com o risco de extinção, a IUCN classifica as espécies em *Critically Endangered* (CR) – risco extremamente alto de extinção na natureza em futuro imediato; *Endangered* (EN) – risco muito alto de extinção na natureza em futuro próximo; *Vulnerable* (VU) – alto risco de extinção na natureza em médio prazo; *Lower risk* (LR) – quando a espécie, tendo sido avaliada, não se enquadra nas categorias acima; *Deficient Data* (DD) – quando não existem informações adequadas para se fazer uma avaliação. A classificação DD não significa uma categoria de ameaça ou de ausência de ameaça, mas apenas a constatação de que os dados conhecidos não permitem uma avaliação. Corresponde à classificação Indeterminado (I), no critério adotado pela IUCN antes de 1994; Not

*Evaluated* (NE) – indica que a espécie ainda não foi avaliada sob nenhum dos critérios acima (IUCN,1994, 2000).

Os mamíferos marinhos brasileiros em risco de extinção são os Cetáceos: Baleia-Franca (*Eubalaena australis*) - EN, Baleia-sei (*Balaenoptera borealis*) - VU, Baleia-azul (*Balaenoptera musculus*) – CR, Baleia-fin (*Balaenoptera phisalus*) – EN, Baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) – VU, Cachalote (*Physeter macrocephalus*) – VU, Franciscana (*Pontoporia blainvillei*) – EN e o Pinípede Peixe-boi-marinho (*Trichechus manatus*) – CR (MMA, 2005).

Na relação de Espécies sob Pressão Antrópica, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis descreve apenas as 12 espécies sob evidente risco, porém cita a Orca (*Orcinus orca*), a Falsa-orca (*Pseudorca crassidens*), o Golfinho-pintado-do-atlântico (*Stenella frontalis*), o Golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) e o Lobo-Marinheiro-do-Sul (*Arctocephalus australis*), como provavelmente sofrendo pressões em águas sob jurisdição brasileira, em maior ou menor grau, mas os dados disponíveis não permitem avaliá-las com segurança (IBAMA, 2001). Sua distribuição é sul-americana, ocorrendo também nas Ilhas Malvinas: distribui-se desde a Península de Paracas (13°53'S; 76°22'W) costa sul do Peru, canal de Beagle, até o Rio de Janeiro (23°,18'S; 44°,30'W), Brasil, porém a distribuição no mar e o “status” da espécie não são suficientemente conhecidos (PINEDO, 1998; SCHILLER, 2000). O nome australis (= southern) originalmente aplicou-se aos animais das Ilhas Malvinas, porém, esta espécie ocorre em muitas ilhas sul-americanas e grande parte do continente (RIDGWAY; HARRISON, 1993).

O Lobo-Marinheiro-do-Sul (*South american fur seal*), que também se reproduzia na Ilha dos Lobos - RS (BR), foi vítima de um massacre nesta ilha, e ainda não foi observado seu retorno definitivo à área (PALAZZO; BOTH, 1988).

No Uruguai a espécie foi manejada para exploração de óleo, pele e testículos, em uma matança que chegou a ultrapassar 10.000 animais por ano (XIMENES; MALEKY; BATALLÉS et al., 1988). Porém, atualmente a legislação uruguaia contempla o manejo, preservação e conservação desta espécie através de diferentes leis e decretos, que contribuem para melhoria da proteção da mesma, proibindo sua caça ou captura ilegal, sugerindo sua devolução ao mar em casos de captura acidental, prevendo qualquer tipo de dano que seja provocado, voluntária ou involuntariamente, pela atividade humana, capaz de alterar seu habitat natural, lugares de cria e de reprodução (URUGUAY, 2006). Contudo, ainda é bastante comum a morte intencional ou por captura acidental de *Otarídeos* no Uruguai (MACHADO et al., 2006), assim como a morte de *Focóides* por asfixia, pelo aprisionamento em redes de pesca, em todo o planeta (WOODLEY, 1991).

Em relação à exploração e extinção destes mamíferos marinhos, Palazzo (1988) faz a seguinte referência:

*(...) “a história da exploração dos mamíferos marinhos pelo homem é, como muitos outros casos de utilização gananciosa e ignorante dos recursos naturais, uma história de massacre e destruição. Todas as populações das diversas espécies de grandes baleias já foram reduzidas a níveis assustadoramente baixos. Os pequenos cetáceos, botos e golfinhos, além de*

*serem mortos intencionalmente por pescadores em várias partes do mundo, são afogados aos milhares nas redes das frotas de pesca e traficados como escravos dos “circos aquáticos”. Focas e leões-marinhos foram trucidados a pauladas para o aproveitamento de seu óleo e a venda de sua pele para fabricar casacos em muitos países. Os manatís, dóceis e lentos, estão ameaçados de extinção em todas as áreas de sua distribuição no Planeta e uma espécie sirênia, Vaca-marinha-de-Steller (*Hydrodamalis stelleri*), foi varrida para sempre da face da Terra já no século XVIII” .*

A população mundial estimada do *Arctocephalus australis* e subespécies gira em torno de 300.000 animais (SCHILER, 2000). Contudo, fenômenos como o El Niño em 1982-1983 causaram um grande declínio populacional nesta espécie (YARNAL, 2006) e no El Niño de 1997-1998, o mais intenso do século passado, morreu cerca de 70% dos lobos-marinhos que habitam no Peru (OLIVEIRA, 2005).

### **2.3 Ecologia e Biologia da Espécie**

Na Região Sul do Brasil, o deslocamento na direção norte da convergência subtropical formada pelo encontro das águas da Corrente Brasil com a Corrente das Malvinas, durante os meses de inverno, confere à região características climáticas mais próximas às temperadas, influenciando profundamente a composição da fauna de mamíferos marinhos e aves costeiras e

marinhas nos Estados das regiões Sul e Sudeste do Brasil (MMA, 2002). A ocorrência de Pinípedes na costa paulista é sazonal, e 90% das notificações acontecem principalmente nos meses de junho a novembro (ALVARENGA, 1998). O episódio narrado por Pêro Magalhães Gândavo no inverno de 1564, no capítulo IX de seu livro, descreve e figura um “monstro” marinho que reluta à morte pelos índios, os quais o conheciam como “ípopiara” (demônio-d’água) em Santos, referindo-se certamente a um lobo-marinho (VON IHERING, 1968).

No período de 1952 a 1997 foram notificadas 38 ocorrências envolvendo 4 espécies de Pinípedes no estado de São Paulo: três *Otária flavescens*, três *Lobodon carcinophagus*, cinco *Arctocephalus australis* e cinco *Arctocephalus tropicalis*. Outros 22 exemplares foram identificados como *Arctocephalus sp.*, por falta de evidências comprobatórias para se determinar a espécie (ALVARENGA, 1998). Contudo, especula-se que a frequência de Pinípedes no estuário de Cananéia, litoral sul de São Paulo, seja alta devido ao isolamento do local, a restrição do acesso humano, e a característica rochosa da região, preferida pela espécie, sendo a presença destes animais, maior a cada ano (SANTOS, 2003).

A alimentação do Lobo-Marinheiro-do-Sul é composta basicamente por peixes, crustáceos diversos, cefalópodes e outros invertebrados marinhos (King, 1983). Análises fecais indicam que os peixes *Cynoscion guatucupa*, o *Trichiurus lepturus*, o *Engraulis anchoita* e *Anchoa mitchilli* são os mais consumidos pelo *A. australis*, principalmente aqueles com massa inferior a 200g (NAYA, 2002). Surpreendentemente, mesmo no Uruguai, onde é muito alto o número de animais desta espécie, os pescadores não se queixam da disputa pela pesca, devido à pouca

interferência destes na pesca artesanal ou comercial (CRESPO, 1985; RIDGWAY; HARRISON, 1993). Contudo, mais ao Sul, próximo às Ilhas Malvinas, é negativo o impacto que a espécie impõe aos pescadores, devido à quantidade de sardinhas que consomem diariamente (ANIMAL DIVERSITY, 2006).

Os principais predadores da espécie *Arctocephalus australis* são a *Orcinus orca*, Foca leopardo, Leão-Marinho, Caçães, endoparasitas, tuberculose ou outras doenças, mas, sem dúvida, o mais representativo é o homem (BASTIDA, 1999; BRAUNN, 1998; CAPPOZO; PEREZ; RAGA, 1998; ENCICLOPÉDIA, 1998; FRANCISCO, 1998; HARCOURT, 1992; PALAZZO; BOTH, 1988, SCHEFER, 1969).

Muitos trabalhos têm sido feitos para que se conheça melhor a ecologia do *A. australis*, que representa um importante bioindicador de contaminação do ambiente costeiro e aquático (GERPE et al., 1990; HOELZE et al., 1994).

O *A. australis* apresenta  $2n = 36$  cromossomos e demonstra cariótipo de acordo com as bases cromossômicas dos carnívoros (RIDGAW, 1993), sendo o cromossomo X metacêntrico, identificado na banda G na metáfase dos machos; o cromossomo Y é menor e também metacêntrico (BEILTS, 1999).

## **2.4 Anatomia dos Pinípedes**

Pouco se sabe a respeito da anatomia dos Focóides, a maioria dos trabalhos tratam principalmente da família *Phocidae* ou leões-marinhos do hemisfério norte, quase não são conhecidas características das formas Austrais (ANDERSEN, 1969).

O menor pinípede macho adulto é o *Ringed Seal (Phoca hispida)*, com 140 cm de comprimento e 90kg de peso, e o maior é o Elefante-Marinho-do-Sul macho adulto, com até 650 cm de comprimento e 3629kg. O corpo dos pinípedes é hidrodinâmico em forma de torpedo, contudo, menos fusiforme que o corpo dos cetáceos (SCHEFER,1969). Seu corpo é totalmente coberto de pêlos, que se renovam anualmente. A epiderme é grossa e na derme existem glândulas sebáceas e sudoríparas, com exceção das morsas (*Odobeus rosmarus*) que não as possuem (PINEDO,1992). Sob sua pele há uma espessa camada de gordura, que serve como isolante térmico do corpo e reserva de energia (PALAZZO; BOTH,1988).

A orelha externa é bastante reduzida na maioria das espécies ou inexistente no caso das focas; os membros anteriores e posteriores estão modificados em nadadeiras com dedos compridos e unidos por espessas membranas. Esses membros são internamente sustentados pelas cinturas peitoral e pélvica e por todos os ossos que compõem os membros dos tetrápodes (PALAZZO; BOTH, 1988; PINEDO, 1992). O pescoço é curto e espesso, as narinas são verticais, à frente do focinho e de fácil oclusão. A cauda é curta ou rudimentar (ALMAÇA, 1998). Sua temperatura interna é essencialmente constante e aproximadamente igual à humana (36,5-37,5° C) (PALAZZO; BOTH, 1988) e se mantém constante graças a um mecanismo fisiológico que regula a contração dos vasos sangüíneos, permitindo um eventual resfriamento da pele (ENCICLOPÉDIA, 1998). Tanto a pele como as nadadeiras são providas de redes de capilares bem desenvolvidas; assim, quando o corpo fica superaquecido, o sangue é resfriado nestes capilares ou, quando a temperatura corpórea declina além do normal, o fluxo sangüíneo para

estas regiões é reduzido (WHITE; ODELL, 1971). Os pinípedes possuem ainda válvulas em vários pontos do sistema circulatório, que diminuem o fluxo sanguíneo para algumas partes do corpo, a fim de assegurar o fornecimento de oxigênio para o cérebro e o coração durante o mergulho ou períodos de apnéia que podem ser relativamente longos (LAVIGNE, 1982). Com exceção do paladar, todos os demais sentidos estão bem desenvolvidos, possuindo vibrissas no rosto e acima dos olhos com função sensorial (PINEDO, 1992). A capacidade de termorregulação para espécies de *Focóides*, revela-se fundamental desde seus primeiros dias de vida para sua sobrevivência, visto que nascem geralmente no verão, devendo porém, estar preparados para o forte inverno que aguarda a maioria das espécies (TRITES, 1990).

O *Arctocephalus australis* possui corpo com coloração variando de negro a marrom, com tons cinza prateado. Pelagem dupla, com pêlos escuros e grossos (conhecido como pêlos de guarda) e abaixo destes, pêlos superficiais mais claros, curtos e macios, semelhante a uma penugem (VAZ FERREIRA, 1976; PINEDO, 1992). Os machos adultos apresentam uma “juba” de pêlos longos semelhante ao leão-marinho. As fêmeas e machos imaturos são cinzentos no dorso e com a região ventral bem mais clara, quase creme (PALAZZO; BOTH, 1988). O crânio possui 255 mm de diâmetro, fronte curta, rostro moderadamente longo, nariz médio (38 mm), palato largo e ligeiramente arqueado anteriormente, os dentes pós-caninos têm proeminentes cúspides, anterior e posterior. Nas maxilas podem observar-se, atrás dos caninos, muito robustos, 5 dentes não diferenciados uns dos outros, que, por isso, são denominados pós-caninos (ALMAÇA, 1998; PINEDO, 1992; SCHEFER, 1969). Uma dentição de leite (decídua) precede a permanente, e



desaparece antes ou logo após o primeiro ano (PINEDO, 1992; SCHEFER, 1969). Os dentes servem ainda como critério para avaliação da idade cronológica, através da leitura das camadas de deposição na dentina e no cimento do dente: os primeiros trabalhos foram realizados em caninos e, pela coincidência das leituras destas camadas com as de animais de idade conhecida, estabeleceu-se a existência de uma deposição anual para algumas espécies de pinípedes (HARRISON, 1972; SCHILLER, 2000).

Em *Focóides*, o pênis é localizado no tecido subcutâneo, apresentando uma abertura cutânea medianamente localizada entre o umbigo e o ânus. Possuem osso peniano. Nos membros da família *Phocidae* os testículos são intra-abdominais, posicionados lateroventralmente à pelve, posteriormente aos rins. Nos membros da família *Otaridae*, os testículos são escrotais, localizados ventral à cauda e ao ânus (FRED; DANIEL; ODELL, 1971; KING, 1983).

O Lobo-Marinho-do-Sul atinge em média 1,90 a 2,0 m para machos e 1,40 a 1,50 m para fêmeas; o peso dos machos varia de 160 a 180 kg e o das fêmeas de 50 a 60 kg (VAZ-FERREIRA, 1976). O pênis dos *Arctocephalídeos*, foi descrito como longo e retraído internamente, apresentando o prepúcio a dois terços entre o ânus e o umbigo. O corpo cavernoso origina-se do arco púbico e possui forma de fuso fortemente curvado. Apresenta um osso na parte distal do corpo cavernoso sendo uma ossificação tipo endocondral deste. A uretra ocupa o leito ventral da superfície do báculo (ANDERSEN, 1969; ATKINSON, 1997).

## 2.5 Reprodução do Lobo-Marinheiro-do-Sul

Nos *Focóides* em geral a reprodução possui características interessantes e exclusivas destes mamíferos, como a longa diapausa, encontrada no *A. australis* e obrigatória para a maioria das espécies, e a sazonalidade da estação reprodutiva monoestral, presente em muitas, mas não em todas as espécies. Os pinípedes possuem copulação terrestre ou aquática, e parto obrigatoriamente terrestre. A lactação possui maior duração em otarídeos que em focídeos. Possuem forte influência de fatores ambientais na sua reprodução, como o fotoperíodo além da nutrição e fatores xenobióticos (ATKINSON, 1997).

As características reprodutivas do Lobo-Marinheiro-do-Sul não foram ainda muito estudadas e a maioria dos trabalhos existentes tratam de investigações biológicas. O período de gestação varia de 11 a 12 meses contando-se o período de retardo embrionário (ATKINSON, 1997; RIDGWAY; HARRISON, 1993; VAZ-FERREIRA, 1976). O nascimento e, em geral, a amamentação e o acasalamento, acontecem fora da água (HARRISON, 1972). Os fetos estão em estado avançado de desenvolvimento na altura do nascimento, que ocorre nas últimas semanas de novembro e nas primeiras de dezembro (ALMAÇA, 1998).

No período de reprodução os machos adultos regressam às colônias de reprodução que em geral são sempre as mesmas (ENCICLOPÉDIA, 1998). Existem colônias reprodutivas em quatro grupo de ilhas do Uruguai: Grupo de Ilha dos Lobos, Ilhas Torres, Ilhas Castillo Grande (Cabo Polônio) e Ilhas de La Coronilla. Na Argentina a província de Chubut, Ilha dos Estados e Ilhas Malvinas (SCHILER,

2000); ainda no Atlântico Sul nas ilhas da Terra do Fogo e arquipélago de Los Chonos (RIDGWAY; HARRISON,1993), na costa do Pacífico; existem colônias reprodutivas em Punta San Juan, no sul do Peru, estudos sugerem o aparecimento de colônias reprodutivas no Chile (TORRES,1985).

Aproximadamente 30 dias antes do início da estação reprodutiva, os machos delimitam seus territórios e aguardam a chegada das fêmeas, defendendo estas áreas da invasão de outros machos. Os machos são poligâmicos, mas, não prendem as fêmeas em seus haréns. Machos sub-adultos não delimitam território, mas, ficam às margens destes à espera de uma fêmea que permita, afastada do macho dominante, suas primeiras tentativas de cópula, até que este consiga estabelecer um território e seu próprio harém (CASSINI, 1999). O estro das fêmeas ocorre em dezembro, 5 a 8 dias após o parto. O primeiro parto ocorre quando as fêmeas têm, aproximadamente, 4 anos de idade. A densidade populacional, durante a estação de cria no ano de 1980, em três áreas estudadas foi de: 12 indivíduos em 20 metros quadrados, 10 em 15 metros quadrados e 27 em 30 metros quadrados. A distância entre os territórios de cada macho varia de acordo com a topografia e localização do terreno. A média da taxa de poligamia foi de 56 machos para 354 fêmeas, 1 macho para cada 6,3 fêmeas (VAZ-FERREIRA; PONCE DE LEON, 1984). A densidade populacional em uma colônia reprodutiva varia entre 0,5 a 1,5 animal / metro quadrado. O tamanho médio de cada harém é de 50 metros quadrados (TRILLMICH; MAJLUF, 1981). A proporção entre os gêneros em uma amostra de 572 lobos-marinhos com 1,5 mês de idade foi de 56,11% de machos (VAZ-FERREIRA, 1976).

As fêmeas alcançam a maturidade sexual após 3 anos de idade, talvez 2 anos em alguns casos (VAZ-FERREIRA, 1976), anterior à do macho (ATKINSON, 1997) que ocorre em torno dos 7 anos (VAZ-FERREIRA, 1976, RIDGWAY; HARRISON, 1993), mas existem dados controversos na literatura (ANDERSEN, 1969; ATKINSON, 1997).

Os filhotes nascem durante o verão pesando entre 2,8 e 5 kg e são amamentados por até quase um ano (PALAZZO; BOTH, 1988). A relação entre a mãe e a cria é muito íntima durante os primeiros dias, mas, em pouco tempo, os cuidados maternos tornam-se menos assíduos e a fêmea começa a abandonar o filhote por períodos cada vez maiores para ir ao mar em busca de alimento, regressando regularmente para amamentá-lo (ENCICLOPÉDIA, 1998). Muitos estudos tratam da importância da vocalização nesta espécie, e de como a mãe reconhece e/ou atrai sua cria entre tantos milhares de outros lobos-marinhos jovens (PHILLIPS; STIRLING, 2001; PHILLIPS; STIRLING, 2001, 2000; RIDGWAY; HARRISON, 1993; TRILLMICH; MAJLUF, 1981). Phillips (2003) investigou a importância relativa dos fatores vocais, visuais, olfativos e espaciais no processo de reunião e concluiu que 67% das vezes a mãe encontra seu filhote. Mães e crias se reconhecem primeiramente por sinais vocais a longa distância e, então, a mãe usa investigação naso-nasal olfativa, aceitando ou recusando o filhote. As mães complementam suas buscas com variadas estratégias, como sinalizando seu local (76%), movendo-se apenas próximo à colônia (49%) e investigando filhotes próximos (42%), mas, o maior fator de sucesso é a resposta do filhote que, após serem chamados movem-se em direção à sua mãe resultando no reencontro dos pares, em

95% das vezes indiferente à conduta da mãe. Esta porcentagem é explicada pelo alto risco de um filhote ser machucado na aproximação à outra fêmea que não seja sua mãe.

Os órgãos reprodutivos dos machos *Arctocephalideos* foram menos estudados do que os das fêmeas, devido à dificuldade de se conseguir material fora da estação reprodutiva. Especula-se se demonstram atividade testicular sazonal e contudo, há poucas análises da espermatogênese destes animais (ASHCHEPKOVA LIU; FEDOSEEV VIA, 1988). Sabe-se que os machos adultos do *Otaria flavescens* (leão-marinho) apresentam um período de azospermia, imediatamente após a estação reprodutiva (ATKINSON, 1997).

### **3 Materiais e Métodos**

---

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os animais descritos neste estudo são procedentes da colônia reprodutiva de Cabo Polônio - Uruguai (34° 23' 60S / 53° 46' 60W), mediante convênio firmado entre a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo e a Organização Civil PROFAUMA, com autorização concedida pelo DINARA (Dirección Nacional de Recursos Acuáticos), e do CRAM –Centro de Recuperação de Animais Marinhos do Museu Oceanográfico – FURG - Cidade do Rio Grande-RS-Brasil, onde realizamos dissecações e obtivemos algumas fotografias, sem coleta de material para microscopia.

Seis Lobos-Marinheiros-do-Sul, machos, que vieram a óbito por causas naturais no mês de julho de 2005, foram identificados e medidos de acordo com o padrão proposto pelo IBAMA em seu Plano de Ação – Versão II de 2001 (Medidas Padrão de Pinípedes) que destaca as medidas 1- Comprimento Total Padrão, desde o rosto até o extremo da cauda (linha reta); 2- Comprimento Curvilíneo (acompanhando a curvatura do corpo); 3- Comprimento da Nadadeira Anterior, desde o ponto de inserção no corpo até seu extremo; 4- Comprimento da Nadadeira Posterior, desde o ponto de inserção no corpo até seu extremo; 5- Circunferência em Nível Axilar (Quadro 1). Após estes procedimentos, os animais foram dissecados, tendo sua cavidade abdominal aberta longitudinalmente na linha média. Canulou-se a aorta abdominal, caudalmente às artérias renais, de modo a não danificar as artérias gonadais. Perfundiou-se primeiramente, no sistema sangüíneo, solução fisiológica 0,9% à temperatura ambiente, visando a lavagem do sistema artério-

venoso e drenagem total do sangue coagulado em seu interior. Incisou-se a veia cava caudal cranialmente a inserção das ilíacas, de modo a permitir a visualização da saída total do sangue retido nesse sistema, então após a conclusão da lavagem, com pinça hemostática, ocluiu-se a abertura da veia cava para permitir a manutenção do fixador no interior os vasos e sua posterior perfusão no sistema reprodutor. Utilizaram-se como fixadores: Solução de Formol a 10% em três animais jovens e Solução de Karnovsky modificada, em dois animais jovens e no animal adulto.

Depois da perfusão do fixador, cada sistema reprodutor foi retirado íntegro a partir da abertura da sínfise pélvica e dissecado para caracterização macroscópica de sua morfologia, sendo então medido, fotografado e desenhado esquematicamente para registro dos resultados.

Posteriormente, fragmentos de  $0,5 \text{ cm}^3$  foram seccionados para identificação das características microscópicas dos órgãos reprodutivos, a saber: escroto, testículos, epidídimos, funículos espermáticos, próstata, uretra, pênis e prepúcio, para estudo em microscopia de luz; a glândula do pênis também foi analisada por microscopia eletrônica de varredura. Tais fragmentos foram então fixados por imersão na mesma solução utilizada para perfusão. Após fixação por 24 horas, o material foi lavado em tampão fosfato para retirada do excesso do fixador e armazenados nesta mesma solução em geladeira, para posterior processamento.

Foram coletados os dentes caninos superiores de cada animal dissecado, para posterior determinação de sua idade: um foi colocado em solução



descalcificadora e outro macerado em água para contagem externa dos anéis de dentina.

Para análise estatística dos dados referentes ao comprimento dos segmentos do sistema reprodutor masculino à medida do Comprimento Total dos animais (Quadro 1) utilizamos o *teste t de Student* para comparação entre duas médias. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando  $p < 0.05$ .

### **3.1 Obtenção de Blocos para Microscopia**

Fragmentos de cada segmento do sistema reprodutor masculino do Lobo-Marinheiro-do-Sul foram resseccionados ou não, dependendo de seu tamanho, e tratados em série crescente de etanol (70 a 100%) para desidratação e xilóis para diafanização, utilizando-se procedimento convencional, para posterior inclusão em Paraplast® ( Leica/Germany ), confeccionando-se blocos retangulares com base de 3x4 cm.

### **3.2 Colorações Histológicas**

Foram feitos cortes de 5  $\mu\text{m}$  para obtenção das lâminas, as quais foram previamente silanizadas com 3-aminopropiltrietoxi-silano (APES) e então desparafinizadas, coradas, analisadas, fotomicrografadas (Microscópio Olympus BX

60 acoplado a câmera Axio CAM HRc) e capturadas utilizando-se o software Zeiss KS 400.

Foram utilizadas as seguintes colorações: a) Hematoxilina/Eosina, para caracterização microscópica; b) Tricrômico de Masson, para se diferenciar fibras musculares lisas de colágeno ; c) Aldeído Fucsina para fibras elásticas – Coloração de fundo van-Gieson, para visualização fibras colágenas e musculares lisas; c) Picrossírius com fundo Verde-luz para diferenciar fibras colágenas e realçar músculo estriado.

### **3.3 Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura**

Fragmentos da parte longa e coroa da glândula do Lobo-Marinheiro-do-Sul foram selecionados e fixados em Glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato a 0,1 M pH 7,4, por 24h. Após esse período os fragmentos foram lavados no mesmo tampão, em movimentação, para retirada do excesso de glutaraldeído. Os fragmentos foram pós-fixados em Tetróxido de Ósmio a 1%, sendo em seguida lavados novamente e tratados com Ácido Tânico a 1%. Depois foram desidratados em série crescente de etanol (70 a 100%) e secos pela técnica de dessecação pelo Ponto Crítico (Aparelho Balzers Union - CPD 020). Cada fragmento foi então colado em suporte porta-amostra “stub” com cola de carbono e sofreu posterior cobertura com condutor, e metalização com ouro (“sputtering” Emitech K 550). A microscopia foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo Leo 435 VP. As eletromicrografias

obtidas foram registradas em filme Neopan 100 acros(Fuji Film®) editadas para melhor visualização, em programa Adobe PhotoShop CS.

### **3.4 Descalcificação o Osso Peniano e Dentes Caninos**

Utilizamos a Solução de Morse para descalcificação lenta destas estruturas, de modo a permitir sua segmentação sem lesioná-las. Solução de Morse consiste na mistura de duas outras soluções, à base de Ácido Fórmico e Citrato de Sódio, que devem ser trocadas a cada 72 h. Os fragmentos de osso peniano foram descalcificados por 60 dias e os dentes por 90 dias, sendo porém, semanalmente acompanhado seu estado de descalcificação.

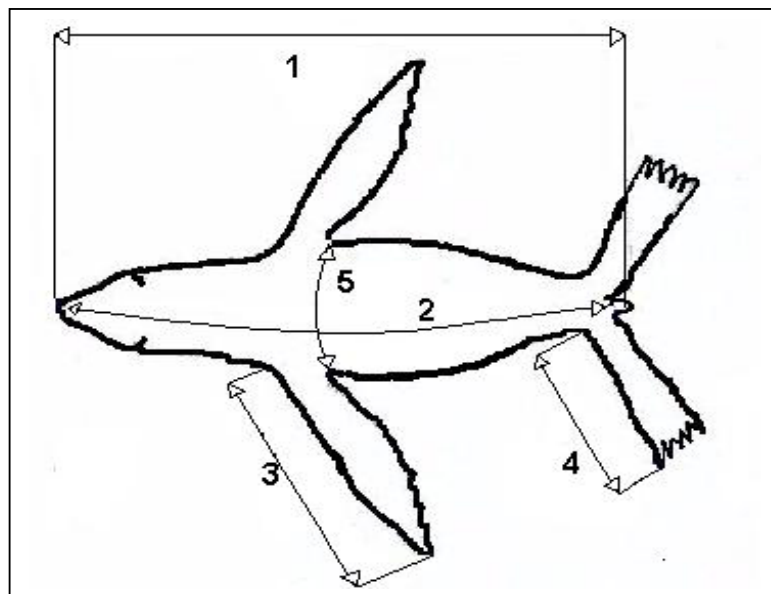
Os fragmentos de osso peniano foram emblocados em Paraplast e tratados como qualquer outro fragmento de tecido mole até a obtenção das fotomicrografias. Os dentes foram seccionados manualmente no seu plano mediano utilizando-se lâminas de aço para microtomia e depois pincelados com grafite em pó como proposto por Schiller (2000). Os segmentos foram então fotomicrografados em aumento de 40x para posterior contagem de suas linhas de deposição de dentina.

Os dentes macerados em água foram fotografados em zoom aproximado e contados seus anéis externos de deposição de dentina.

### 3.5 Imuno-histoquímica

Para estudo da enzima Aromatase 450arom, utilizaram-se secções de 3 µm do testículo de machos jovens e adultos. Tais lâminas foram desparafinizadas em xilóis, reidratadas em etanol decrescente (Absoluto a 70%), lavadas em água destilada (5 minutos) e depois em tampão citrato (pH 6,0 10mM) em temperatura ambiente (5 minutos) e aquecidas em forno de microondas, (15 minutos) na potência máxima, para melhor exposição dos antígenos. A ação da peroxidase endógena foi bloqueada durante 20 minutos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% em metanol. As lâminas foram depois lavadas com Solução ICC (pH 7,2 – 7,4 adicionado Triton -Triton X-100; Sigma-Adrich Co., USA). Para reduzir ligações inespecíficas, foram encubadas durante 30 minutos em câmara úmida, na solução de bloqueio com soro eqüino diluído 1:10 em solução ICC. As secções foram secas com bomba de sucção e incubadas por 20 h em câmara úmida na geladeira com anticorpo primário na diluição 1:100 em tampão ICC. Três lavagens com solução de ICC precederam a incubação do Anticorpo secundário (anti-mouse, anti-rabbit) por 30 minutos em câmara úmida a temperatura ambiente. Após novas lavagens em solução ICC, as secções foram incubadas por 45 minutos com complexo de peroxidase-estreptovidina-biotina (Vectastain-Elite-ABC-Kit®; Vector Laboratories Inc., USA) para amplificação do sinal da reação. Após novas lavagens com solução ICC, a reação de imuno-histoquímica específica foi revelada utilizando-se NovaRed® (Vector Laboratories Inc., USA) por 5 minutos. Finalmente as secções foram lavadas em água destilada e contra-coradas com hematoxilina por 1 minuto e lavadas em água corrente por 15 minutos. A montagem

da lâmina/lamínula foi realizada com glicerina. Como controles negativos foram utilizadas lâminas que, a exceção do anticorpo primário, passaram pelos mesmos procedimentos aqui descritos. A obtenção das fotomicrografias foi realizada após 12 horas, utilizando Microscópio Olympus BX 60 acoplado a câmera Axio CAM HRc e as imagens capturadas utilizando-se o software Zeiss KS 400.



Fonte: IBAMA , Plano de Ação – Versão II de 2001/ Anexo 2

Quadro 1-Medidas Padrão de Pinípedes – IBAMA/2001

## **4 Resultados**

---

## 4 RESULTADOS

Em nosso trabalho de campo, numa colônia fora de estação reprodutiva, percebemos marcante diferenças entre fêmeas adultas e machos adultos nesta espécie, sendo o dimorfismo sexual menos visível entre os jovens pré-puberes (Figura 1A) . O sistema reprodutor masculino do *Arctocephalus australis* é constituído pelo escroto, um par de testículos, um par de epidídimos e funículos espermáticos, próstata, pênis e prepúcio. São considerados partes genitais externas o escroto, o pênis e o prepúcio (Figura 1 B) Descreveremos a análise macro (Figura 1 C) e microscópica de cada um desses componentes.

### 4.1 Escroto

Macroscopicamente constitui uma especialização da pele, apresentando-se como uma porção de pele negra, pouco provida de pêlos, com pregueamento característico, formato pendular, situado na porção mais ventral da região perineal do animal, ventral ao ânus, em contato com a face medial das nadadeiras caudais (Figura 2 A). É menos visível no animal neonato e jovem ou no animal molhado, e mais pronunciado no macho adulto, nos quais fica evidente a presença dos testículos nas horas mais quentes do dia.

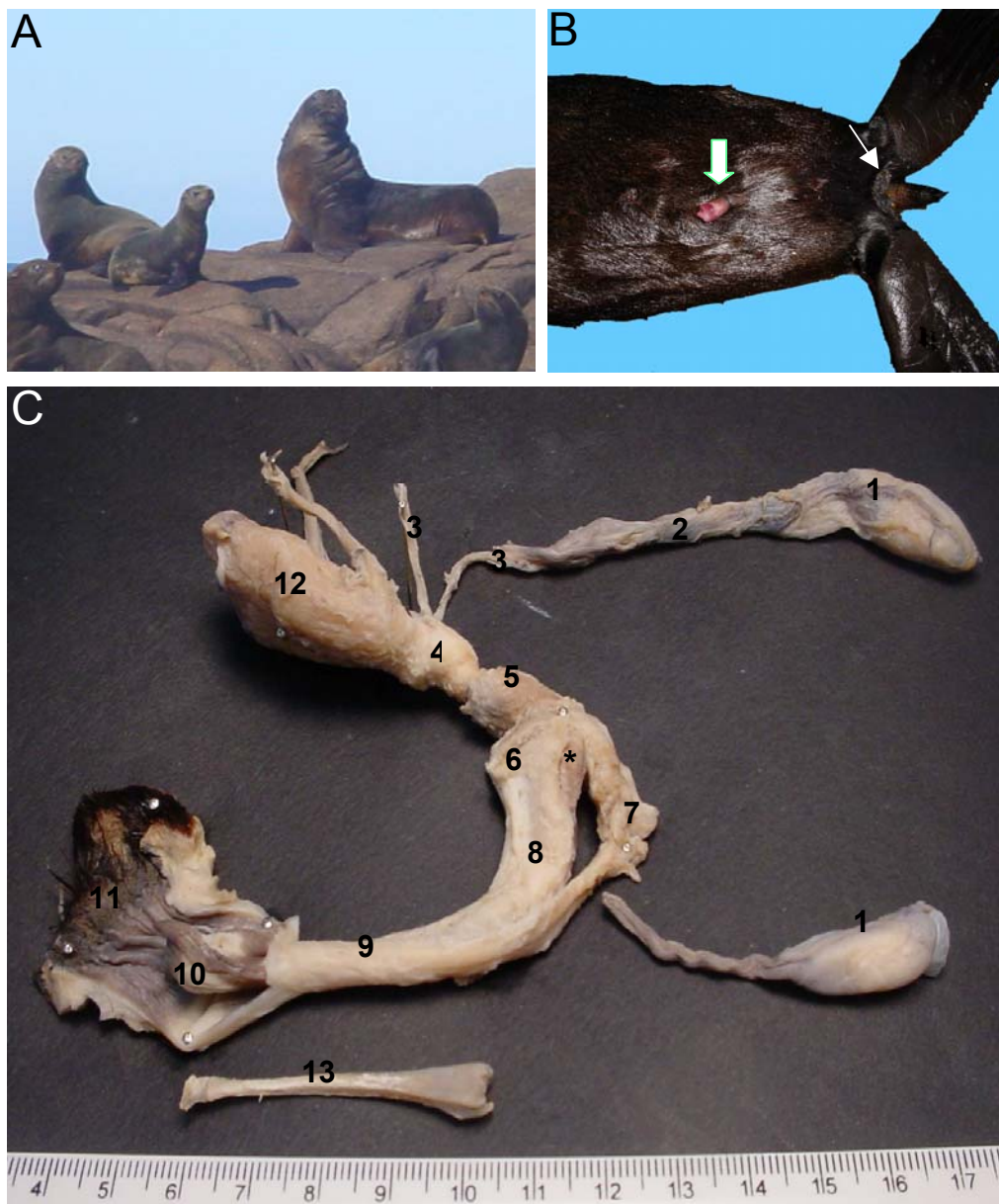


Figura 1- **A-** Fotografia de uma família de *Arctocephalus australis*. **B** – Fotografia da metade posterior de Lobo-Marinho-do-Sul, macho, jovem – decúbito dorsal: Seta Larga - Prepúcio com pênis exposto, Seta Fina- Escroto. **C-** Fotografia do sistema reprodutor masculino dissecado de *A. australis*: 1-Testículos, 2-Funículo Espermiático, 3-Ductos Deferentes, 4-Próstata, 5-Uretra Pélvica, 6-Raiz do Pênis, 7-Músculo Retrator do Pênis, 8-Corpo do Pênis, 9-Parte longa da Glândula, 10-Coroa da Glândula, 11-Prepúcio, 12-Bexiga, 13-Osso Peniano, \*Bulbo do Pênis.



Foi observada uma grande variação da presença ou não dos testículos dentro do escroto, em relação à temperatura externa e ao tempo que animal esta fora da água. Em todos os animais encontrados em óbito e dissecados, o escroto não continha os testículos.

Histologicamente, o escroto é constituído por uma pele fina, com estrato córneo desenvolvido e derme delgada. A epiderme possui um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado em sua camada córnea, camada espinhosa com células poligonais ou cubóides e camada basal com células cubóides. que repousam sobre uma membrana basal separando a epiderme da derme com grande quantidade de melanócitos distribuídos entre estas duas últimas camadas (Figura 2 B). Em nenhum dos cortes analisados foram visualizadas as camadas granulosa e lúcida na epiderme do escroto.

A derme é constituída por um tecido conjuntivo compreendido em duas camadas de divisão pouco nítida, são elas: a camada papilar (sobre o qual se apóia a epiderme), é constituída de tecido conjuntivo frouxo apresentando papilas dérmicas e a camada reticular de tecido conjuntivo denso não modelado, presente na sua porção mais profunda intermediada por fibras da túnica dartos (Figura 2 C).

Foram visualizadas glândulas sudoríparas túbulo-enoveladas apócrinas e sebáceas, relacionadas aos folículos pilosos, os quais não eram numerosos e apresentavam pêlos primários curtos. Logo abaixo da pele encontra-se a túnica dartos com suas fibras musculares lisas, desprovida de células gordurosas (Figura 2 D).

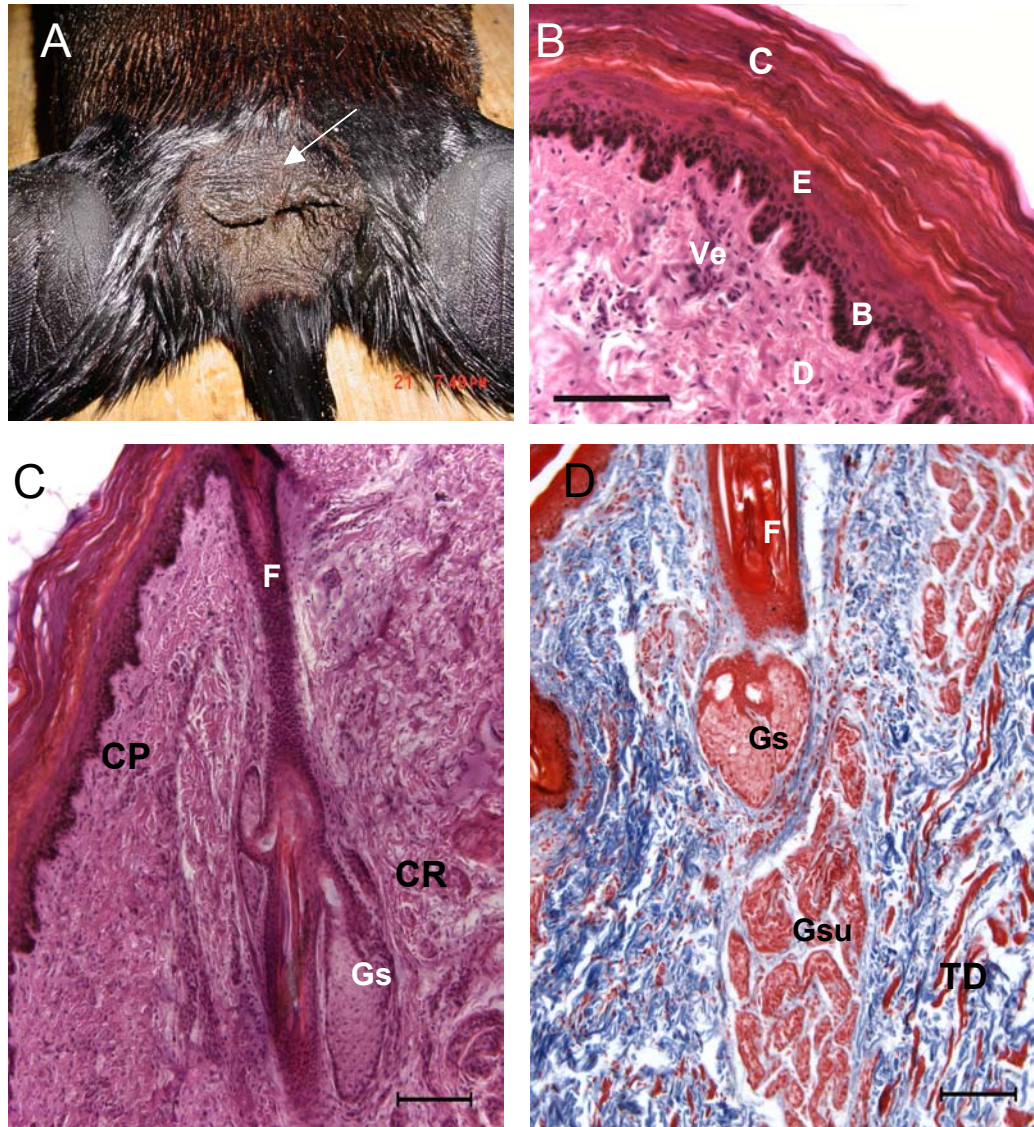


Figura 2- **A** – Fotografia do Escroto. **B** – Fotomicrografia do Escroto, coloração HE, Barra = 50 µm: C- Epiderme camada Córnea, E- Epiderme camada Espinhosa contendo melanócitos, B- Epiderme camada Basal contendo melanócitos, D- Derme, Ve- Vasos escrotais. **C** –Fotomicrografia do Escroto, coloração HE, Barra = 100µm: F- Folículo Piloso, Gs- Glândula sebácea, CP- camada papilar da derme, CR- camada reticular da derme. **D** –Fotomicrografia do Escroto coloração tricrômio de Masson, Barra = 100µm: F- Folículo piloso, Gs- Glândula sebácea, Gsu- Glândula sudorípara, TD- Fibras musculares da túnica Dartos.

## 4.2 Testículos

São dois órgãos parenquimatosos, ovóides, que podem apresentar-se no subcutâneo das regiões inguinais, recobertos pela espessa capa de gordura que geralmente preenche esta região, ou dentro do escroto, na porção final de cavidade vaginal. Os testículos medem 3% do Comprimento Total (Quadro 1) tanto nos animais jovens como no adulto (n=6) ( $p < 0,05$ ). Observou-se nos animais estudados a localização do testículo esquerdo sempre mais cranial que o direito, possuindo ambos características macroscópicas e microscópicas idênticas (Figura 3A e 3A1).

Revestindo externamente os testículos existe uma membrana derivada das lâminas serosas e fibrosas da parede abdominal, encontram-se aderidas, e são elas: fáschia espermática externa, fáschia cremastérica, fáschia espermática interna e a túnica vaginal de origem peritoneal, há dissecação, foi possível identificar macroscopicamente apenas os folhetos da túnica vaginal: um parietal, acoplado às fáschias já mencionadas, e outro visceral, em contato com a cápsula do testículo (Figura 3 B e C).

O testículo possui uma extremidade cranial (capitada), relacionada à cabeça do epidídimo e ao funículo espermático, uma extremidade caudal (caudada), relacionada à cauda do epidídimo, uma margem livre, lateral, e uma margem epididimária, medial (Figura 3 A1).

Acompanhando a deiscência do testículo, no final do desenvolvimento embrionário, de uma porção do músculo oblíquo abdominal interno, deriva-se o

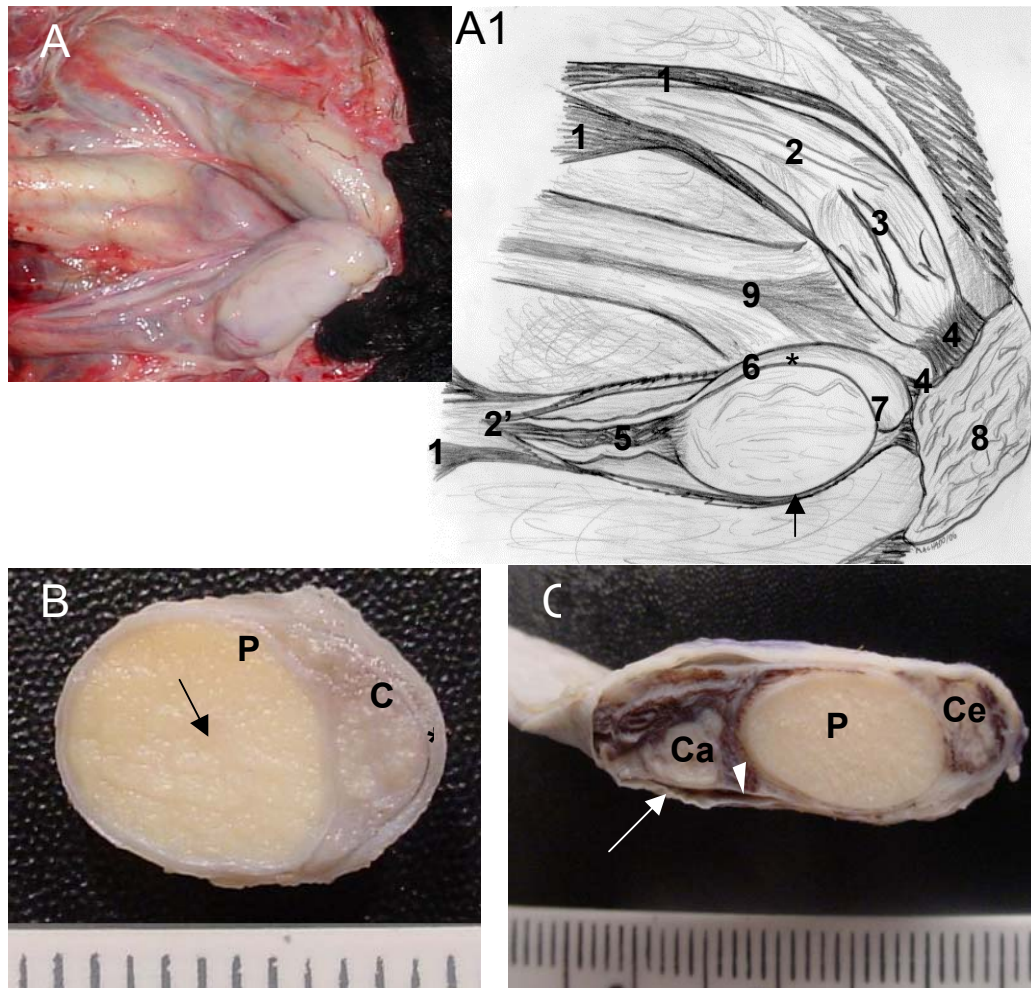


Figura 3 - **A** – Fotografia dos Testículos do macho adulto *in situ* - Dissecados pele e tecido subcutâneo. **A1**- Representação esquemática da fotografia 3A: 1- M. Cremáster Porções Proximais, 2- Túnica Vaginal folheto parietal, 2' – Túnica vaginal folheto parietal com abertura longitudinal, 3- Vascularização Túnica Vaginal folheto parietal, 4- M. Cremáster porção distal, 5- Plexo Pampiniforme e Artéria testicular direita, 6- Ducto Deferente porção distal, 7- Cauda do Epidídimo, 8- Escroto, 9- Raiz do Pênis, Seta- margem livre, (\*)- margem epididimária. **B**- Fotografia de corte transversal do testículo: P- Parênquima testicular, C- Corpo do Epidídimo, Seta-mediastino, pouco visível macroscopicamente, (\*)- folheto visceral da túnica vaginal. **C**- Fotografia de corte longitudinal do testículo: Ca- Cabeça do Epidídimo, P- Parênquima testicular, Ce- Cauda do Epidídimo, Seta- Folheto parietal da Túnica Vaginal, Cabeça de Seta- Folheto visceral da Túnica Vaginal

músculo cremáster e suas fáscias, que no lobo-marinho se apresenta externo à túnica vaginal parietal, dividido em dois feixes musculares próximos ao anel vaginal e outro feixe visível na porção caudal da túnica vaginal parietal, na ligação desta com o escroto (Figura 3 A1).

Microscopicamente, cada testículo está envolvido por uma espessa cápsula de tecido conjuntivo denso rico em fibras colágenas e escassas fibras elásticas, a túnica albugínea, altamente vascularizada (Figura 4 A e 5 A e B), a qual envia grande quantidade de septos de mesma constituição em direção ao mediastino testicular, região central do parênquima, dividindo o testículo em lóbulos, que podem ou não apresentar intercomunicações (Figura 4 A).

No estroma testicular, composto por tecido conjuntivo frouxo, encontram-se, além de numerosos vasos e nervos, as células intersticiais de Leydig e no parênquima deste órgão estão os túbulos seminíferos, na forma de adenômeros tubulares enovelados, responsáveis pela espermatogênese. As células de Leydig estão localizadas no tecido conjuntivo dos septos, são poliédricas com núcleo grande, evidente e esférico e possuem em seu citoplasma grande quantidade de grânulos (Figura 4 B e C).

A imuno-histoquímica revelou diferenças marcantes em relação a expressão da enzima aromotase (P450arom) entre as duas idades estudadas. Nos animais jovens foi visível sua presença apenas na luz do túbulo seminífero, nas células de Sertoli e da linhagem espermática. No animal adulto, sua expressão ocorreu tanto na luz dos túbulos seminíferos como no estroma testicular, sendo detectável sua presença nas células de Leydig (Figura 5 C e D).

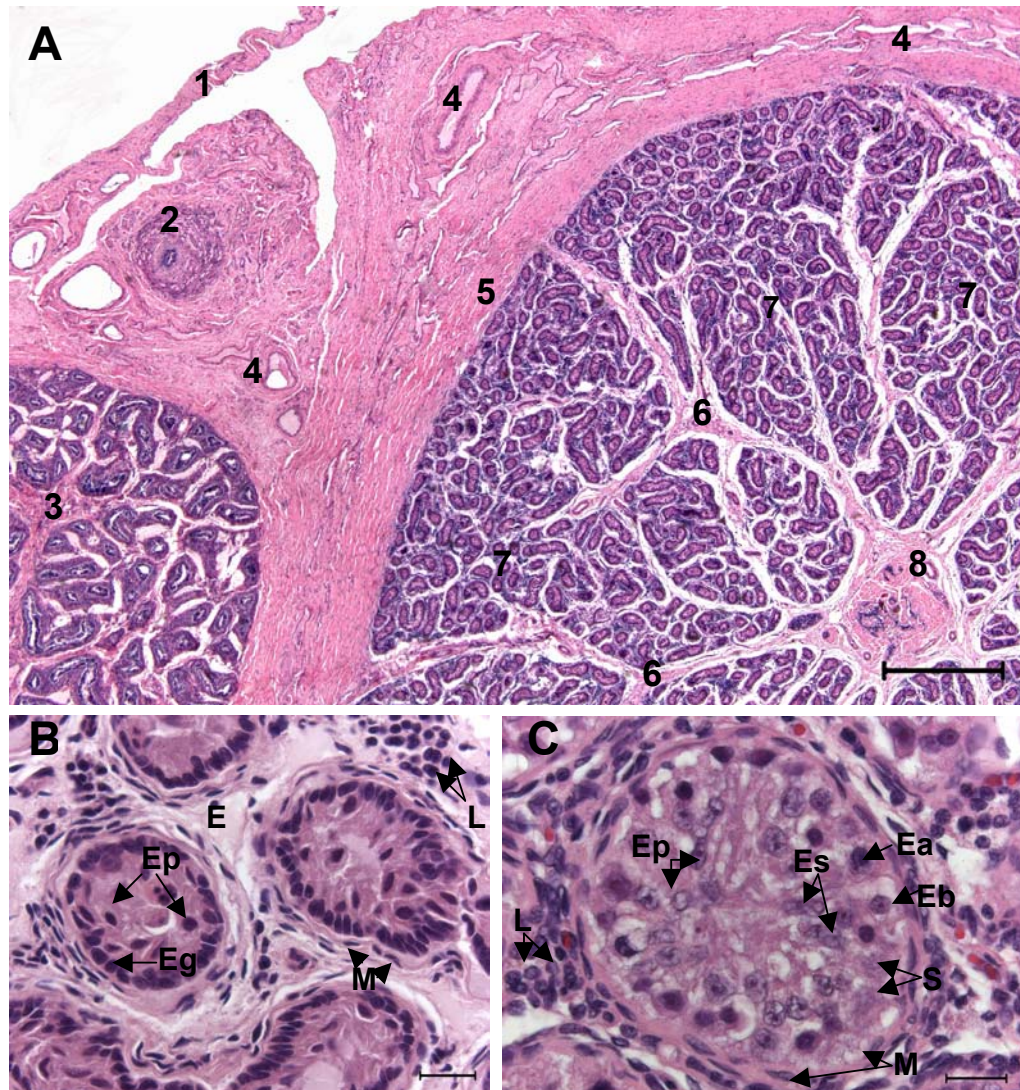


Figura 4 - **A-** Fotomicrografia do Testículo, coloração HE, Barra = 500  $\mu$ m: 1- Folheto visceral da Túnica Vaginal, 2- Ducto Deferente, 3- Epidídimo, 4- Vasos sanguíneos testiculares, 5 Túnica Albugínea testicular, 6- Septos testiculares, 7- Lóbulos testiculares, 8- Mediastino testicular. **B-** Fotomicrografia dos Túbulos Seminíferos de animal jovem, coloração HE, Barra = 20 $\mu$ m: E- Estroma testicular, L- Células de Leydig, M- Células Mióides, Eg- Espermatogônias, Ep- Espermatócitos primários. **C-** Fotomicrografia do Túbulo Seminífero de animal adulto, coloração HE, Barra = 20 $\mu$ m: L- Células de Leydig, M- Células Mióides, S- Célula de Sertoli, Ea- Espermatogonia A, Eb- Espermatogonia B, Ep- Espermatócito Primário, Es- Espermatócito secundário

### **4.2.1 Túbulos Seminíferos**

A parede de cada túbulo seminífero é composta, desde a camada adjacente até o lúmen, por cápsula ou túnica própria formada por miofibroblastos (células achatadas, contráteis, denominadas mióides), lâmina basal e uma camada interna formada por epitélio estratificado atípico, (epitélio germinativo), composto por células da linhagem espermática: espermatídes A e B, espermatogônias, espermatócitos primários e secundários e espermatozóides, junto com as células de Sertoli. As células de Sertoli são células grandes com núcleo piramidal ou arredondado, cujo citoplasma se estende desde a lâmina basal até o lúmen do túbulo seminífero (Figura 4 B e C).

Em comparação com o adulto, os animais jovens possuem um estroma mais abundante e um parênquima constituído por túbulos seminíferos com epitélio germinativo apresentando maior número de espermatogônias A (Figura 4 B).

### **4.2.2 Túbulos Retos**

Contínuos aos túbulos seminíferos encontram-se os túbulos retos que convergem para uma região do testículo denominada mediastino testicular, onde estes túbulos se anastomosam e formam a rede testicular. Estes túbulos são revestidos por epitélio cúbico simples, apoiados em tecido conjuntivo denso, conectando os túbulos seminíferos à rede testicular (Figura 6 C e D).

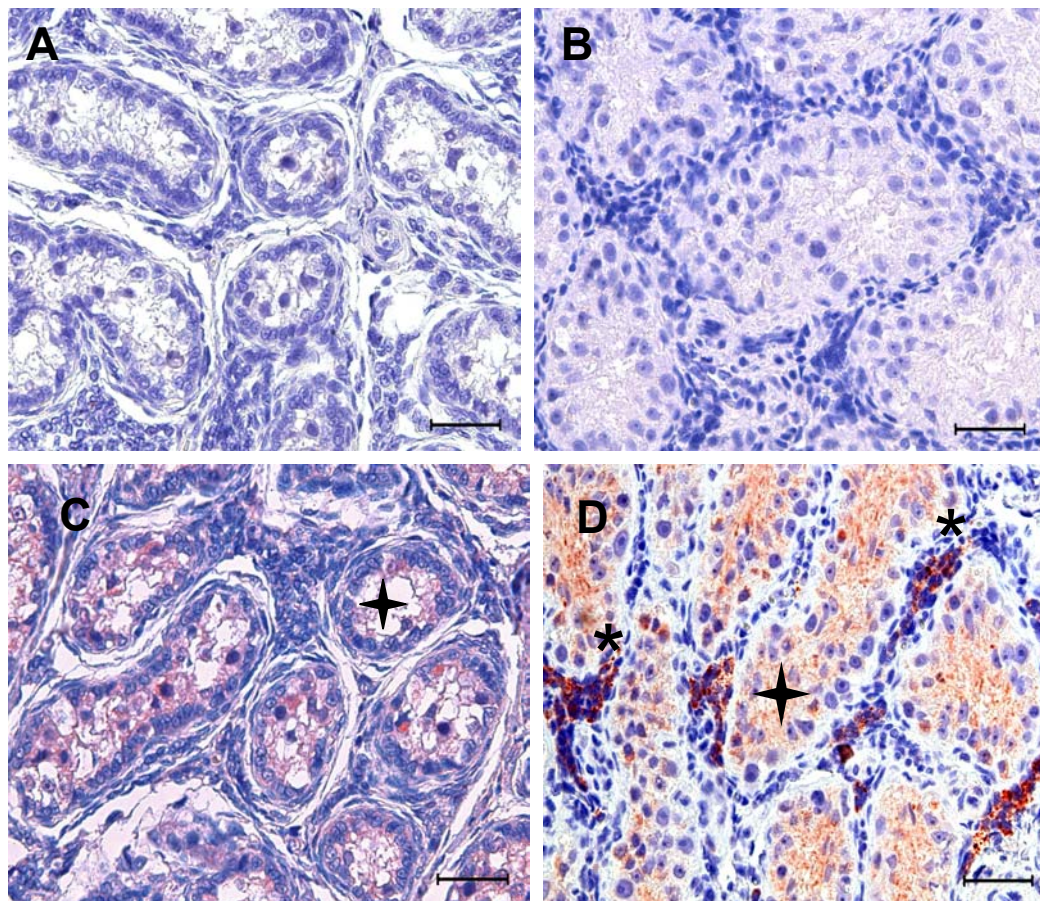


Figura 5 - Fotomicrografias de Imuno-histoquímica para Enzima Aromatase P450arom, Barra = 40  $\mu$ m . **A-** Controle negativo animal jovem. **B-** Controle negativo adulto. **C-** Expressão da P450arom no epitélio germinativo e células de Sertoli (◆). **D-** Expressão da P450arom no epitélio germinativo, células de Sertoli (◆) e células de Leydig no estroma testicular (\*).



### **4.2.3 Rede Testicular**

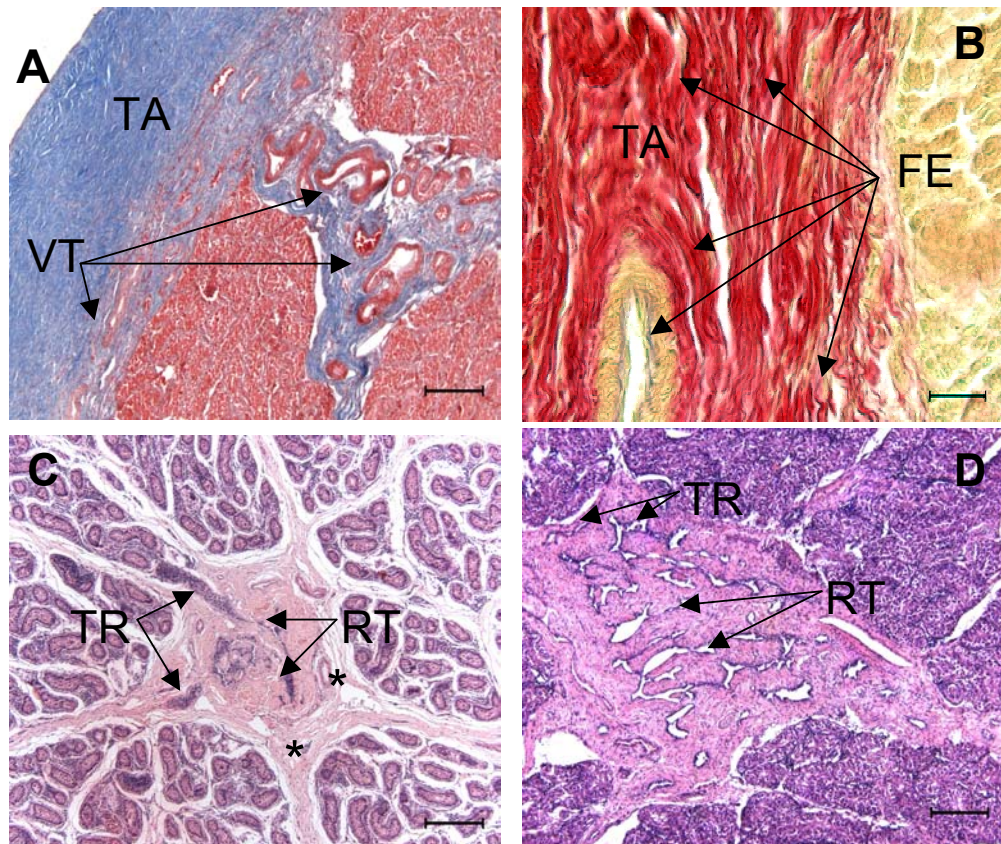
Formada por ductos chamados de ductos eferentes, os quais apresentam um epitélio constituído por grupos alternados de células cúbicas e de células prismáticas ciliadas. Estes ductos conectam a rede testicular ao ducto epididimário (Figura 6 C e D).

### **4.2.4 Ductos Eferentes**

A rede testicular, desemboca em uma série de ductos, formados por epitélio simples com células cúbicas e prismáticas alternadas, com presença de estéreocílios, que terminam no ducto epididimário (Figura 7 A).

## **4.3 Epidídimo**

É um órgão em forma de “C” fixado ao testículo. Está dividido em três partes: cabeça, corpo e cauda (Figura 3 A1, B e C). A cabeça é constituída pelo final dos ductos eferentes e início do ducto epididimário, na extremidade cranial do testículo (Figura 3 C). O corpo do epidídimo está firmemente ligado ao testículo por uma serosa denominada bolsa testicular e corresponde a porção epididimária mais delgada e longa (Figura 3 B). A cauda do epidídimo é a parte final do ducto epididimário que dá início ao ducto deferente (Figura 3 A1). Está presa à porção caudal do testículo pelo ligamento próprio do testículo, e ao folheto visceral da túnica vaginal pelo ligamento da cauda do epidídimo.



**A-** Fotomicrografia da Túnica Albugínea testicular (TA) coloração Tric. Masson, Barra = 200  $\mu$ m: VT- vasos sanguíneos testiculares nutritivos e termoreguladores. **B-** Fotomicrografia da Túnica Albugínea testicular (TA), Método Alcide Fucsina para fibras elásticas – Coloração de fundo van-Gieson, Barra = 20  $\mu$ m: Fe- Fibras elásticas (setas). **C e D-** Fotomicrografia do Mediastino testicular (C-jovem, D- adulto) coloração HE, Barra = 20  $\mu$ m: TR- túbulos retos, RT- rede testicular, \* vasos sanguíneos mediastinais.

Histologicamente, o epidídimo é composto por um único ducto enovelado que possui a mucosa revestida por epitélio simples pseudo-estratificado com estereocílios e apresenta grande quantidade de septos (Figura 7 C). As células basais são arredondadas e contêm gotículas lipídicas, enquanto as células superficiais são prismáticas, longas e finas, apresentam lipídeos, barra apical evidente e especializações citoplasmáticas em forma de estereocílios (Figura 7 B). Este epitélio apoia-se sobre uma lâmina própria formada por tecido conjuntivo frouxo, constituído por fibras colágenas e por fibras musculares (Figura 7 E e F).

Encontrou-se na luz do ducto epididimário pouca quantidade de espermatozóides, sendo que apenas em alguns cortes foi possível vê-la plenamente preenchida por estas células (Figura 7 D, E e F).

Na comparação entre as duas idades, observou-se diferenças na definição do epitélio e morfologia do ducto epididimário (Figura 7 E e F).

Na extremidade caudada do testículo, origina-se o ducto deferente, que conduz o espermatozóide até a uretra prostática, o qual, junto à outras estruturas, compõe o funículo espermático (Figura 3 A1).

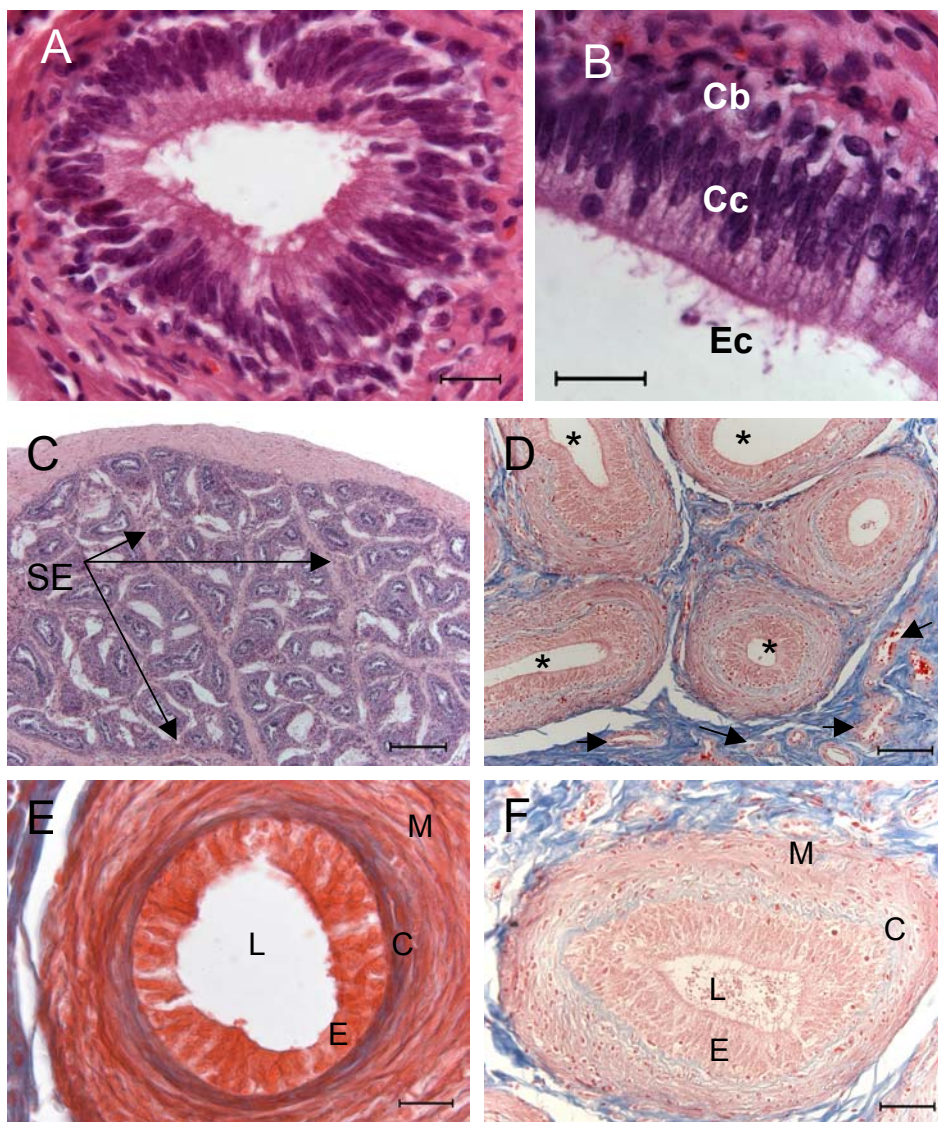


Figura 7 - **A-** Fotomicrografia do Ducto Eferente de animal adulto, coloração HE, Barra = 50  $\mu$ m, epitélio pseudoestratificado com células cúbicas e prismáticas estereociliadas. **B-** Fotomicrografia do Ducto Epididimário de animal adulto, coloração HE, Barra = 20  $\mu$ m demonstrando camadas epiteliais: Cb- células basais, Cc- células colunares, Ec- estereocílios. **C-** Corpo do Epidídimo de animal jovem, coloração HE, Barra = 200  $\mu$ m: SE- septos epididimários (setas) . **D-** Corpo do Epidídimo de animal adulto, coloração Tric. Masson, Barra = 100 $\mu$ m, visualizando-se a pouca quantidade de espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos (\*) e grande quantidade de vasos sanguíneos (setas). **E e F-** Fotomicrografias dos Ductos Epididimários ( E- animal jovem, Barra = 20  $\mu$ m; F- animal adulto, Barra = 50  $\mu$ m), coloração Tric. Masson: M- camada muscular, C- camada de colágeno, E- epitélio pseudoestratificado estereociliado, L- lumem (**E-** livre de espermatozóide; **F-** repleto de espermatozoides).

#### 4.4 Funículo Espermático

O funículo espermático é composto pela artéria testicular, plexo venoso pampiniforme, nervos do plexo espermático, vasos linfáticos e ducto deferente. É envolto pela lâmina parietal da túnica vaginal e acompanhado sintopicamente, na sua porção cranial, por fibras bilaterais do músculo cremáster e suas fáscias (Figura 3 A1).

À medida que o funículo espermático avança cranialmente em direção ao anel vaginal ocorre o desenovelamento do plexo venoso pampiniforme, o qual se apresenta então apenas como veia testicular. O ducto deferente, da mesma forma, à medida que se distancia da cauda do epidídimo torna-se menos tortuoso.

Ao ultrapassar o anel vaginal, invaginação horizontal do peritônio, situado na porção cranial da cavidade pélvica, lateral ao recesso colon-vesical, a lâmina parietal da túnica vaginal desaparece e funde-se ao peritônio. As artérias testiculares direita e esquerda se originam na aorta abdominal; a veia testicular direita é tributária da veia cava caudal, enquanto a veia testicular esquerda desemboca na veia renal esquerda (Figura 9 C).

Depois do anel vaginal, o ducto deferente curva-se medialmente em direção à uretra prostática, na qual desemboca.

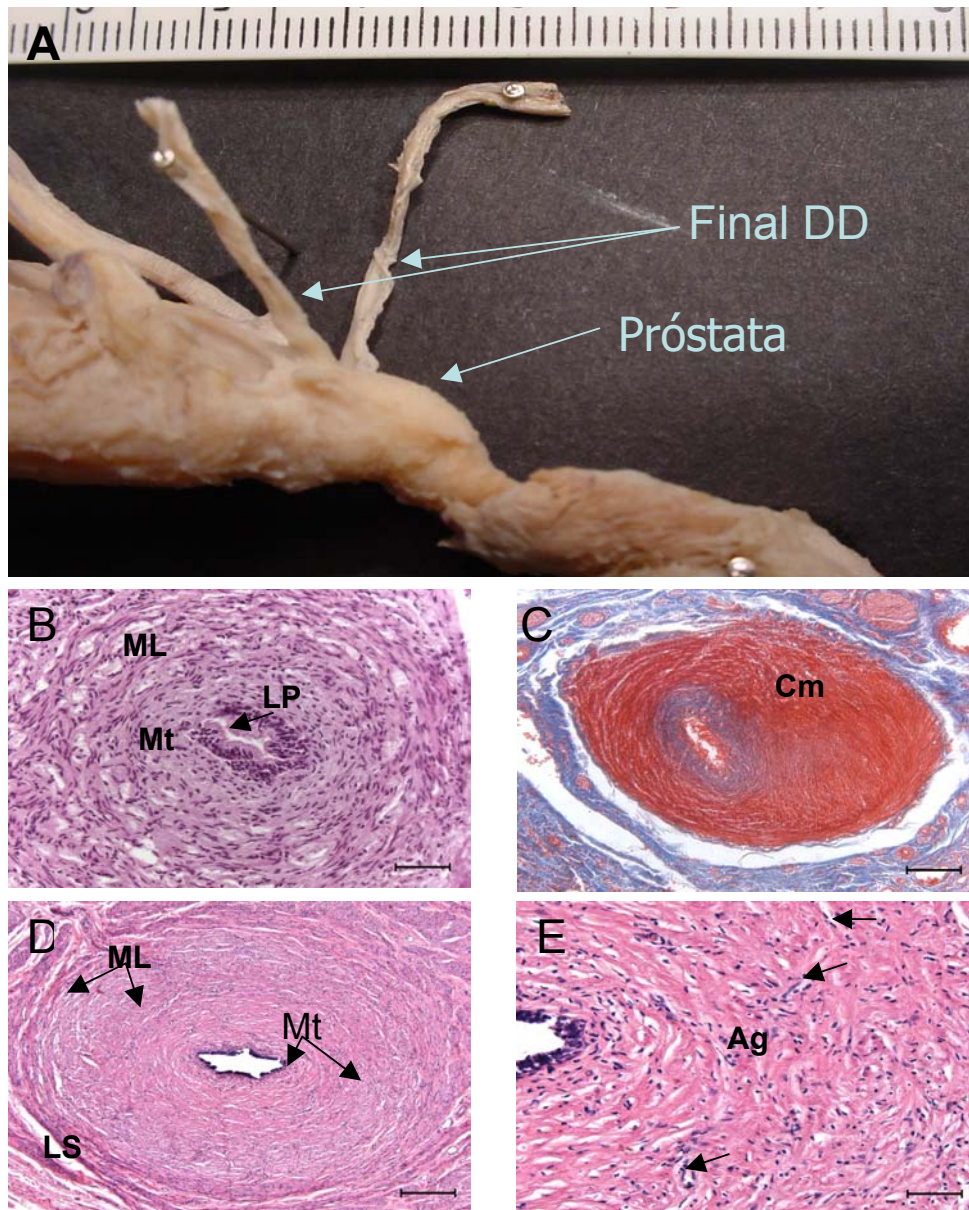


Figura 8 - **A-** Fotografia da porção final do Ducto Deferente e Uretra intrapélvica com Próstata, não sendo possível identificar as ampolas deste ducto. **B-** Fotomicrografia da porção final do Ducto Deferente de animal jovem, coloração HE, Barra = 50  $\mu$ m: ML- camada muscular longitudinal, Mt- camada muscular transversa, LP- lumem pregueado. **C-** Fotomicrografia da porção final do Ducto Deferente jovem, coloração Tric. Masson, Barra = 50  $\mu$ m, notar a grande camada muscular (Cm). **D-** Fotomicrografia da porção final do Ducto Deferente de animal adulto, coloração HE, Barra 200  $\mu$ m: ML- camada muscular longitudinal, Mt- camada muscular transversa, LS- lâmina serosa típica. **E-** Fotomicrografia da porção final do Ducto Deferente adulto, coloração HE, Barra = 50  $\mu$ m: Notar a ausência de glândulas (Ag), intensa vascularização (setas).

#### 4.5 Ducto Deferente

O ducto deferente origina-se na extremidade caudada do testículo, como uma continuação da cauda do epidídimo. Ao toque apresenta-se como uma estrutura cilíndrica e rígida em meio às outras estruturas do funículo espermático (Figura 3 A1). Consiste de um tubo que conduz o espermatozóide do testículo até a uretra, penetrando nesta diretamente na parte compacta da próstata (Figuras 8 A).

Há um espesso ligamento denominado prega genital, entre as porções finais do ducto deferente direito e esquerdo, que se inicia anterior aos ureteres e projeta-se em direção a eles (Figura 9 A).

Não foi observada macroscopicamente nenhuma dilatação que determine a existência de ampolas terminais nestes ductos (Figura 8 A).

Histologicamente, apresenta mucosa com epitélio prismático pseudo-estratificado estereociliado, lúmen plegueado (Figura 8 B), lâmina própria delgada de tecido conjuntivo frouxo rico em fibras colágenas, túnica muscular lisa abundante, espessa, em forma de espiral com duas subcamadas distintas (Figura 8 C), uma interna com fibras orientadas transversalmente e outra externa, com fibras orientadas longitudinalmente, e túnica serosa típica (Figura 8 D). Ao se aproximar de sua porção terminal, antes de penetrar na próstata, o epitélio torna-se mais espesso mas não foram encontradas células glandulares (Figura 8 E). A porção final intraprostática do ducto deferente apresenta mucosa com epitélio prismático pseudo-estratificado ainda com estereocílios, porém, a camada muscular passa não mais a existir (Figura 10 A).

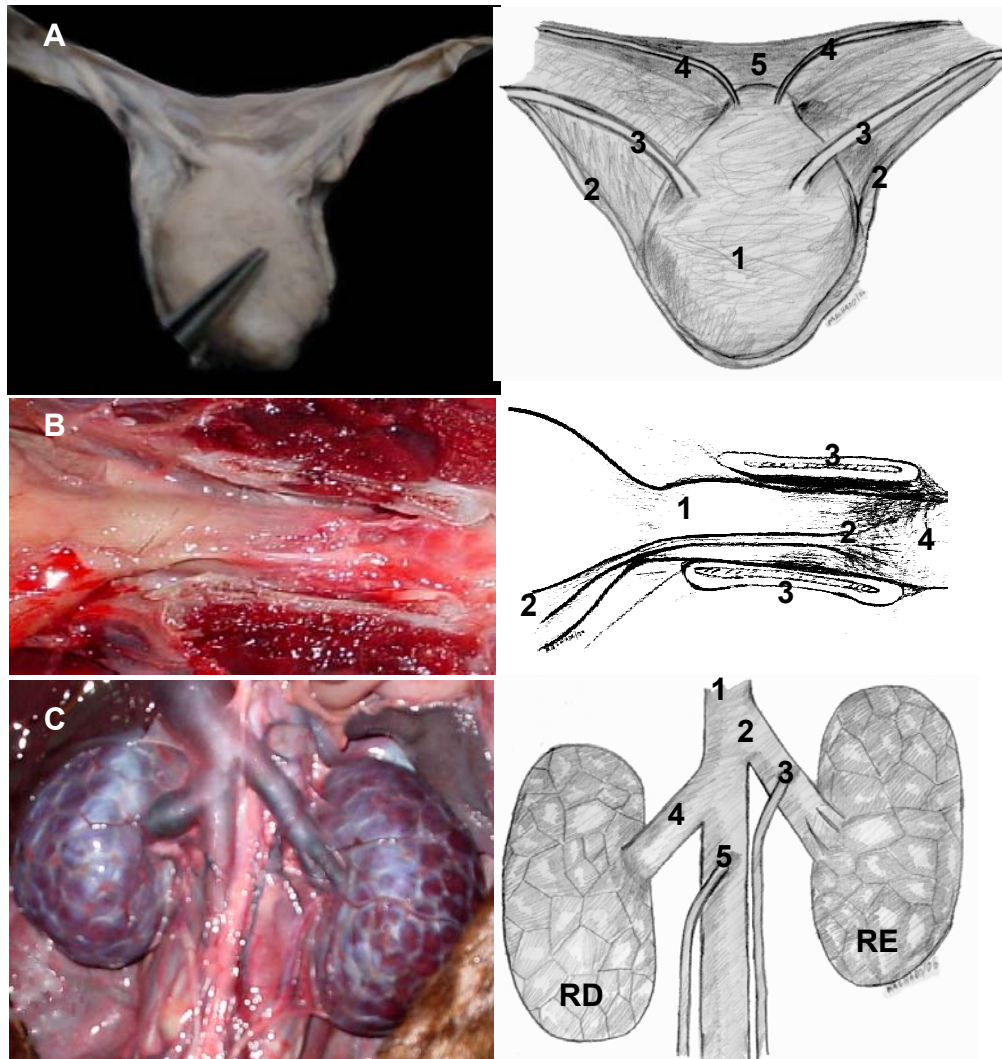


Figura 9 - **A-** Fotografia e representação esquemática da bexiga e ligamentos: 1- Vesícula urinária, 2- Ligamentos redondos laterais, 3- Ureteres, 4- Ductos Deferentes (porção final), 5- Prega genital. **B-** Fotografia e representação esquemática da Cavidade pélvica dissecada (o osso púbis foi retirado): 1- Uretra Prostática, 2- Ligamento redondo ventral, 3- Osso Púbis seccionado, 4- Raiz do Pênis. **C-** Fotografia e representação esquemática da Tributação Venosa testicular: 1- Veia Cava caudal, 2- Veia Renal esquerda, 3- Chegada Veia testicular esquerda, 4- Veia Renal direita, 5- Chegada Veia testicular direita, RD- Rim direito, RE- Rim esquerdo



## 4.6 Próstata

Única glândula sexual acessória presente no lobo-marinho. É um órgão compacto, parte glandular, parte muscular, situado ventralmente ao reto, cranio-dorsalmente à sínfise pélvica, caudal ao trígono vesical e cranial à uretra pélvica. Apresenta-se facilmente visível na porção dorsal da uretra inicial (prostática), à semelhança de um único lobo esférico, não sendo sua divisão em lobos passível de visualização macroscópica (Figura 8 A).

A próstata se divide em zona compacta, zona central (muscular) e zona disseminada (Figura 10 C).

A zona compacta se projeta ao redor de toda a uretra prostática, diminuindo seu tamanho e diâmetro ao avançar látero-ventralmente, determinando ao toque uma consistência mais rígida à região uretral correspondente. Existe uma área muscular, não ocupada por glândulas, formando uma zona central, entre as duas porções glandulares da próstata. A porção disseminada está representada apenas por pequenos lóbulos vizinhos à luz uretral, visíveis microscópicamente.

Histologicamente a parte compacta apresenta-se como um agregado de glândulas tubulares externas ao corpo da uretra prostática que desembocam na luz da mesma, enquanto a parte disseminada é mais evidente na região dorso-lateral do músculo uretral. Em ambas as regiões, as glândulas tubulares apresentam revestimento epitelial cúbico e são envoltas por uma cápsula rica em músculo liso (Figura 10 D).

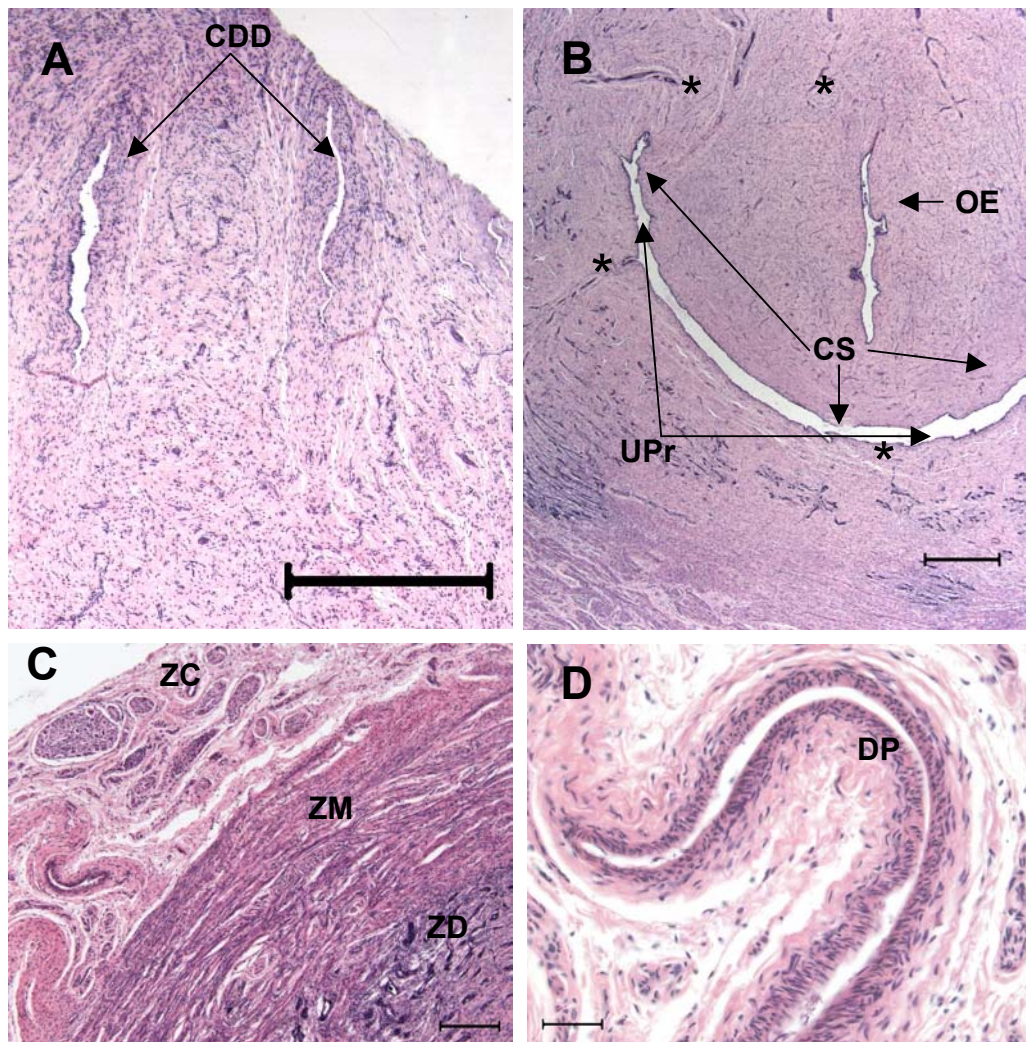


Figura 10 - **A**- Fotomicrografia da Próstata, Coloração HE, Barra = 500 µm: CDD- Chegada dos Ductos Deferentes (setas). **B**- Fotomicrografia da Próstata, coloração HE, Barra = 500 µm: CS- Colículo seminal, OE- Óstio Ejaculatório, UPr- Uretra Prostática, Ductos da Glândula Prostática, dirigindo-se à luz da uretra ( \*). **C**- Fotomicrografia das Regiões Prostáticas, Coloração HE, Barra = 200 µm: ZC- Zona compacta, ZM- Zona central (muscular), ZD- Zona disseminada. **D**- Fotomicrografia da Próstata Compacta, Coloração HE, aumento 400x, barra 50 = µm: DP- Ducto

## 4.7 Uretra

A uretra é um órgão comum aos sistemas urinário e reprodutor, dividindo-se em parte intrapélvica, prostática e pélvica, e extrapélvica, peniana. Tem origem no óstio uretral interno, situado na porção caudal do colo vesical, e conduz a urina assim como o sêmem e espermatozóides até o óstio uretral externo situado na glândula peniana.

A uretra intrapélvica possui 13% do comprimento total do animal jovem (n=5) ( $p>0,01$ ) e 18% no animal adulto (n=1). A uretra extrapélvica, constituída pelo pênis, será comparada adiante.

A uretra apresenta um ligamento redondo que tem origem no trígono vesical e se estende até a raiz do pênis, percorrendo toda a porção ventral da uretra prostática e pélvica, externamente à túnica muscular uretral destas regiões, aderindo-se à fascia ventral do músculo ísquio cavernoso na proximidade da raiz do pênis (Figura 9 B).

### 4.7.1 Uretra Prostática

Origina-se logo após o trígono vesical e possui comprimento de aproximadamente um terço da uretra intrapélvica. Macroscopicamente apresenta-se como uma porção caudal à bexiga, onde penetram dorsalmente os ductos deferentes. Apresenta coloração amarelo pálido, facilmente visualizada ao compará-

la à uretra pélvica (Figura 10 C). Percebe-se a presença da próstata situada em sua porção dorsal se estendendo látero - ventralmente.

Não está aderida às paredes laterais da pelve ou corpo do osso ílio, situa-se quase que totalmente na cavidade abdominal e apenas sua porção mais caudal está em constante contato com a sínfise pélvica.

Microscopicamente, sua parede é bastante espessa, constituída externamente por uma túnica serosa e internamente por uma túnica mucosa. Entre ambas se interpõe uma túnica muscular representada pelo músculo uretral estriado.

Longitudinalmente à túnica mucosa, encontra-se uma prega denominada crista uretral, que forma, próximo ao colo vesical, uma dilatação de forma arredondada, o colículo seminal, na qual situam-se os óstios terminais dos ductos deferentes. Após estas aberturas, a fenda ejaculatória, abertura posterior aos óstios, é quem se comunica com a luz uretral (Figura 10 A e B). A luz da uretra prostática apresenta diâmetro diminuído em relação à outras porções da uretra, e revestimento epitelial de transição (Figura 10 B), com membrana basal.

#### *4.7.2 Uretra Pélvica*

Macroscopicamente observa-se a uretra pélvica como um tubo oco, muscular, de coloração avermelhada e consistência firme. Apresenta porção cranial, da qual provém o músculo uretral, facilmente visível após a próstata compacta; porção média percorrendo dorsalmente toda a sínfise pélvica, relacionando-se ao corpo e ramo do osso isquio, e porção caudal em contato com o assoalho e face

lateral da abertura pélvica, onde existem fibras musculares orientadas em diferentes sentidos e que originaram a raiz do pênis (Figura 9 B). Está ventralmente fixada à sínfise pélvica por fibras do ligamento e do músculo pubovesical. Em sua porção caudal, próximo a raiz do pênis, apresenta-se envolta pelo corpo adiposo da fossa isquiorretal (Figura 9 B).

Na microscopia de luz observa-se que este segmento da uretra é revestido internamente por tecido epitelial de transição e apresenta lúmen bastante amplo e pregueado. Possui lâmina própria, submucosa formada por tecido conjuntivo frouxo contendo numerosas glândulas uretrais. Apresenta espesso músculo estriado uretral e túnica adventícia, ambos com capacidade erétil, devido ao grande número de vasos presente (Figura 11 A e B).

#### *4.7.3 Uretra Peniana*

Distal a raiz do pênis a uretra é recoberta dorsalmente pelos dois pilares penianos, protegidos pelos músculos ísquiocavernosos. A partir do bulbo do pênis, a uretra peniana apresenta-se envolta pelo corpo esponjoso e assim permanece até o orifício uretral externo, na coroa da glândula (Figura 14 A e B). Localiza-se sempre na porção ventral do pênis, e a partir do bulbo da glândula, encontra-se protegida dorsalmente pelo osso peniano (Figura 15 E). Microscopicamente apresenta tecido epitelial de transição e tecido erétil periférico à sua luz. A túnica muscular é constituída por músculo liso e o corpo esponjoso está presente no tecido conjuntivo subepitelial (Figura 11 C e D).

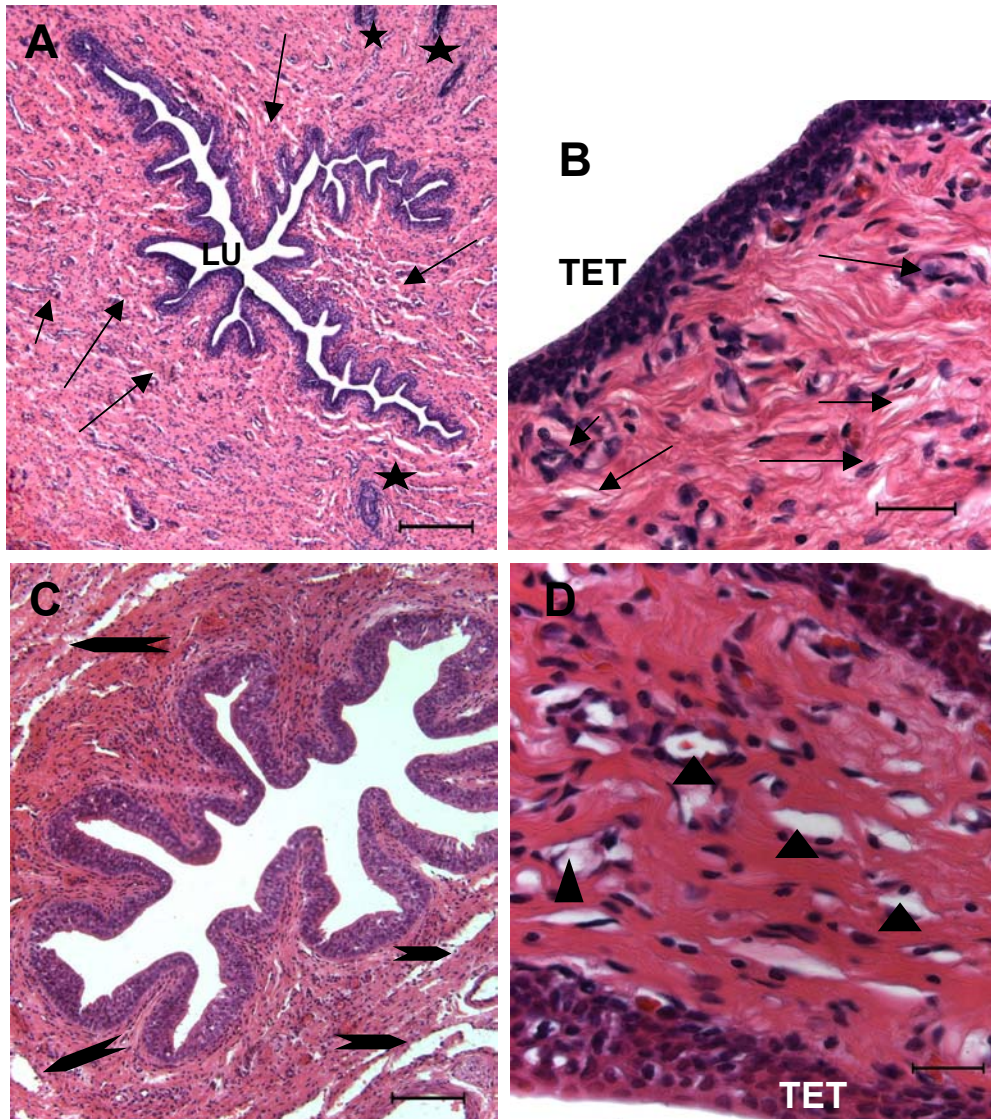


Figura 11 - **A-** Fotomicrografia da uretra Uretra Pélvica, Coloração HE, Barra = 200  $\mu$ m: LU- Lumen Uretral Pregueado, Glândulas uretrais(  $\star$  ), Tecido erétil, musc. uretral (setas). **B-** Fotomicrografia da Uretra Pélvica, Coloração HE, Barra = 20  $\mu$ m: TET- Tecido epitelial de transição, tecido erétil (setas). **C-** Fotomicrografia da Uretra peniana, Barra = 100  $\mu$ m: Corpo esponjoso (  $\blacktriangleright$  ). **D-** Fotomicrografia da Uretra peniana de animal adulto, Barra = 20  $\mu$ m: Corpo esponjoso com inúmeros vasos subepiteliais (  $\blacktriangle$  ), TET-Tecido epitelial de transição.

## 4.8 Pênis

Nesta espécie o pênis é constituído por raiz, corpo, glande e osso peniano (Figura 12 A). Mede 8% do Comprimento Total dos animais jovens (n=5) ( $p < 0,01$ ) e 14% do comprimento total do animal adulto (n=1).

Caracterizado como do tipo vascular, é formado essencialmente por três corpos cilíndricos de tecido erétil totalmente envolvidos por uma membrana de tecido conjuntivo denso muito resistente, denominada túnica albugínea do pênis. O pênis está alojado no tecido subcutâneo recoberto pelas fáscias penianas superficial e profunda. É exposto no momento da cópula pelo óstio prepucial (Figura 1B), uma abertura abdominal ventral, situada medianamente entre a cicatriz umbilical e o escroto, identificável pelo número bastante reduzido de pêlos em comparação com outras áreas da pele.

### 4.8.1 Raiz do Pênis

A raiz do pênis situa-se distal a porção final da uretra pélvica, aderida as margens caudais das tábuas isquiáticas direita e esquerda, entre as tuberosidades isquiáticas. É formada pelos dois pilares penianos, recobertos pelos músculos isquiocavernosos e pelo bulbo peniano, recoberto pelos músculos bulboesponjosos (Figura 12 C).

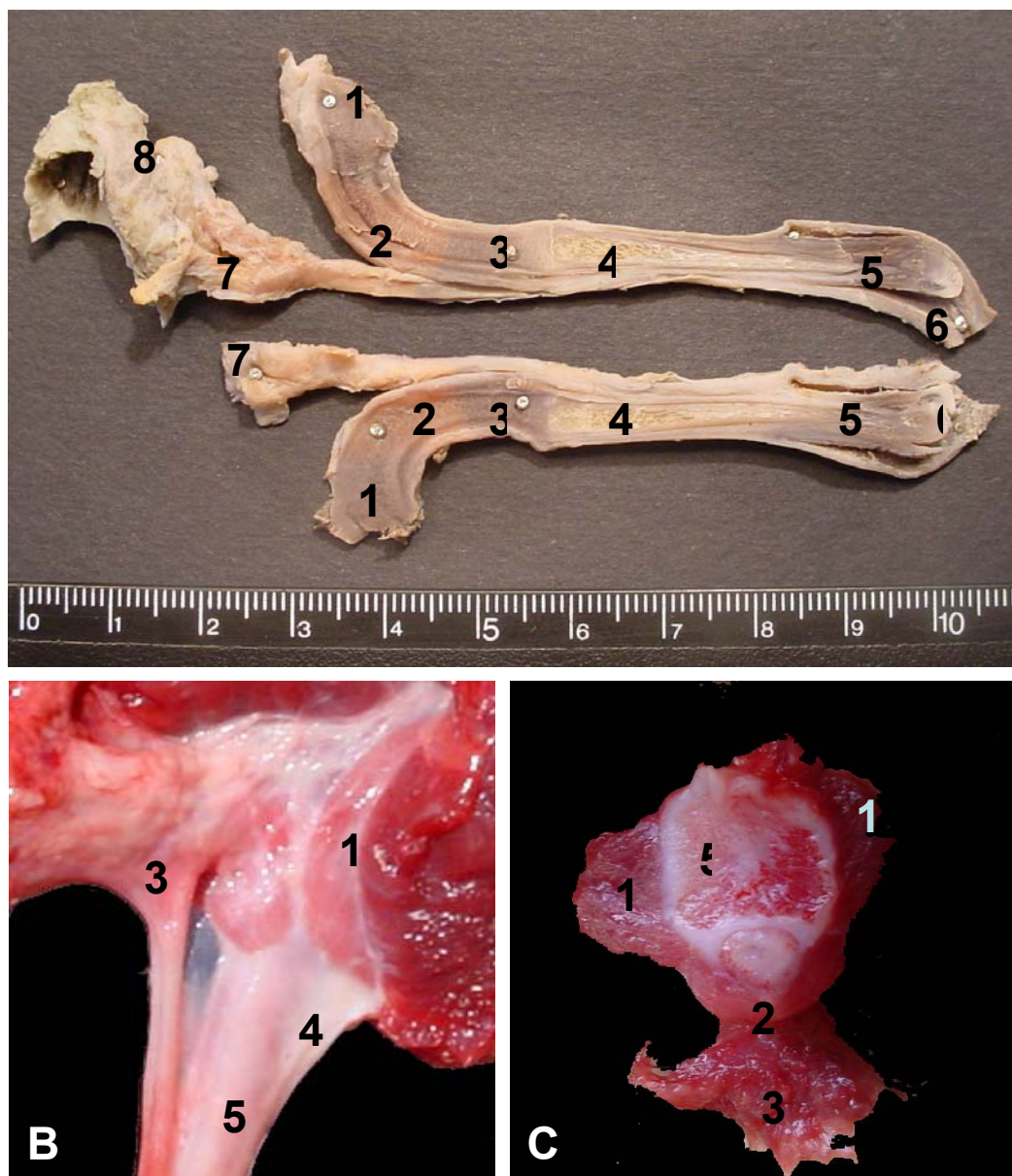


Figura 12 **A-** Fotografia de corte longitudinal do pênis de animal jovem: 1-Bulbo do pênis, 2-Corpo do Pênis, 3-Bulbo da Glande, 4- Osso Peniano, 5-Coroa da Glande, 6-Prepúcio, 7- M. retrator Pênis, 8- Ampola Retal. **B-** Fotografia da vista lateral da Raiz do Pênis: 1- Musc. Isquiocavernoso, 2-Musc. Bulboesponjoso, 3- Musc. Retrator do Pênis, 4- Ligamento Suspensório do Pênis. **C-** Fotografia da vista proximal da raiz do pênis, seccionada transversalmente: 1- Musc. Isquiocavernoso, 2- M.Bulboesponjoso, 3-M. Retrator do Pênis, 4- Ligamento Suspensório do Pênis, 5- Região para Inserção dos Pilares penianos, 6- Uretra



Pode se observar a origem do músculo ísquiocavernoso na tuberosidade isquiática, o qual direciona suas fibras no sentido crânio - caudal e insere-se no corpo peniano, na união dos pilares. Externamente ao arco isquiático origina-se o músculo bulboesponjoso, na linha mediana do períneo, ventralmente ao reto, na túnica albugínea lateral do corpo esponjoso do pênis, inserindo-se neste corpo, anteriormente ao isquiocavernoso (Figura 12 B).

Em sua porção distal, ventral ao reto, existe a origem aparente do músculo retrator do pênis na fáscia externa do músculo esfíncter anal externo (Figura 12 A).

Envolvendo os vasos e nervos dorsais do pênis, encontra-se o ligamento suspensor do pênis, uma lâmina colagenosa bilateral, que se estende desde a parte caudal da sínfise pélvica até os corpos cavernosos (Figura 12 B).

O músculo isquiouretral apresenta-se internamente ao arco isquiático, superior a veia dorsal do pênis.

Microscopicamente, a raiz do pênis apresenta uma região inteiramente composta por tecido conjuntivo fibroso denso rica em fibras colágenas, que forma a túnica albugínea e septos do pênis, recoberta por fibras musculares estriadas (Figura 13 A).

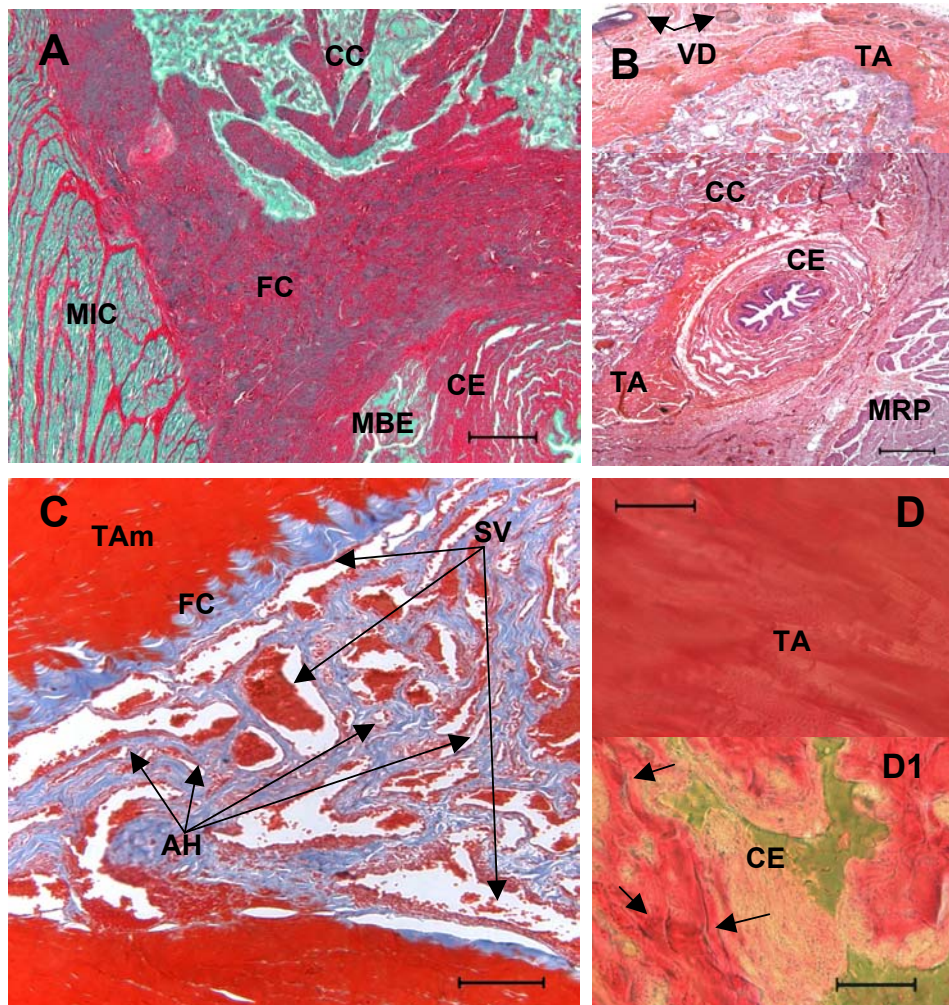


Figura 13 - **A-** Fotomicrografia da Raiz do Pênis com Músculos, Coloração Picosríus - Fundo Verde Luz, Barra = 500  $\mu$ m: CC- Corpo Cavernoso, FC- Fibras colágenas, CE- Corpo Esponjoso (Bulbo do pênis) MIC- Musc. Isquiocavernoso, MBE- Musc. Bulboesponjoso. **B-** Fotomicrografias do Corpo do pênis. Coloração HE, Barra = 500  $\mu$ m: VD- Vasos dorsais, TA- Túnica Albugínea, CC- Corpo Cavernoso, CE- Corpo esponjoso, Uretra (\*), MRP- Músculo retrator do pênis. **C-** Fotomicrografia do Corpo Cavernoso de animal adulto, Coloração Tric. Masson, Barra = 100  $\mu$ m: Tam- Fibras musculares da Túnica Albugínea do pênis, FC- Fibras colágenas da Túnica Albugínea do pênis e corpo esponjoso, AH- Artérias helicoidais, SC- Seios venosos do corpo cavernoso. **D-** Fotomicrografia da Túnica Albugínea do pênis, Coloração Tricrômio de Van Gienson, Barra = 20  $\mu$ m: TA- Fibras colágenas, sem visualização de fibras elásticas. **D1-** Fotomicrografia dos Septos do Corpo esponjoso com presença de fibras elásticas (setas), colágenas (vermelhas) e musculares lisas (amarelas).

#### 4.8.2 Corpo do Pênis

Estende-se desde a raiz até a glândula peniana. É a porção mais erétil do pênis. Formado pela fusão dos corpos cavernosos em sua porção dorsal e pelo corpo esponjoso que envolve a uretra em sua porção medial e os dois feixes do músculo retrator do pênis em sua porção ventral.

Está plenamente envolto pela túnica albugínea do pênis e o músculo retrator do pênis encontra-se interno a ela, em sua porção distal e externo em sua porção proximal. Esta região peniana corresponde a aproximadamente 50 por cento do tamanho total do pênis.

Microscopicamente, é formado pela cápsula de tecido conjuntivo denso, túnica albugínea, tecido erétil do corpo cavernoso e do corpo esponjoso da uretra, músculo liso retrator do pênis e uretra peniana (Figura 13 B).

A túnica albugínea, especialmente desenvolvida nesta espécie, emite septos de constituição semelhante a sua, os quais contêm fibras colágenas e musculares lisas, porém, não são encontradas fibras elásticas em sua porção mais periférica. A sua porção interna forma o revestimento fibroso dos componentes do tecido erétil, que inclui fibras colágenas, elásticas e músculo liso (Figuras 13 D e D1). O tecido erétil é rico em artérias helicoidais que se abrem em seios venosos e os preenchem de sangue durante a ereção (Figura 13 C).

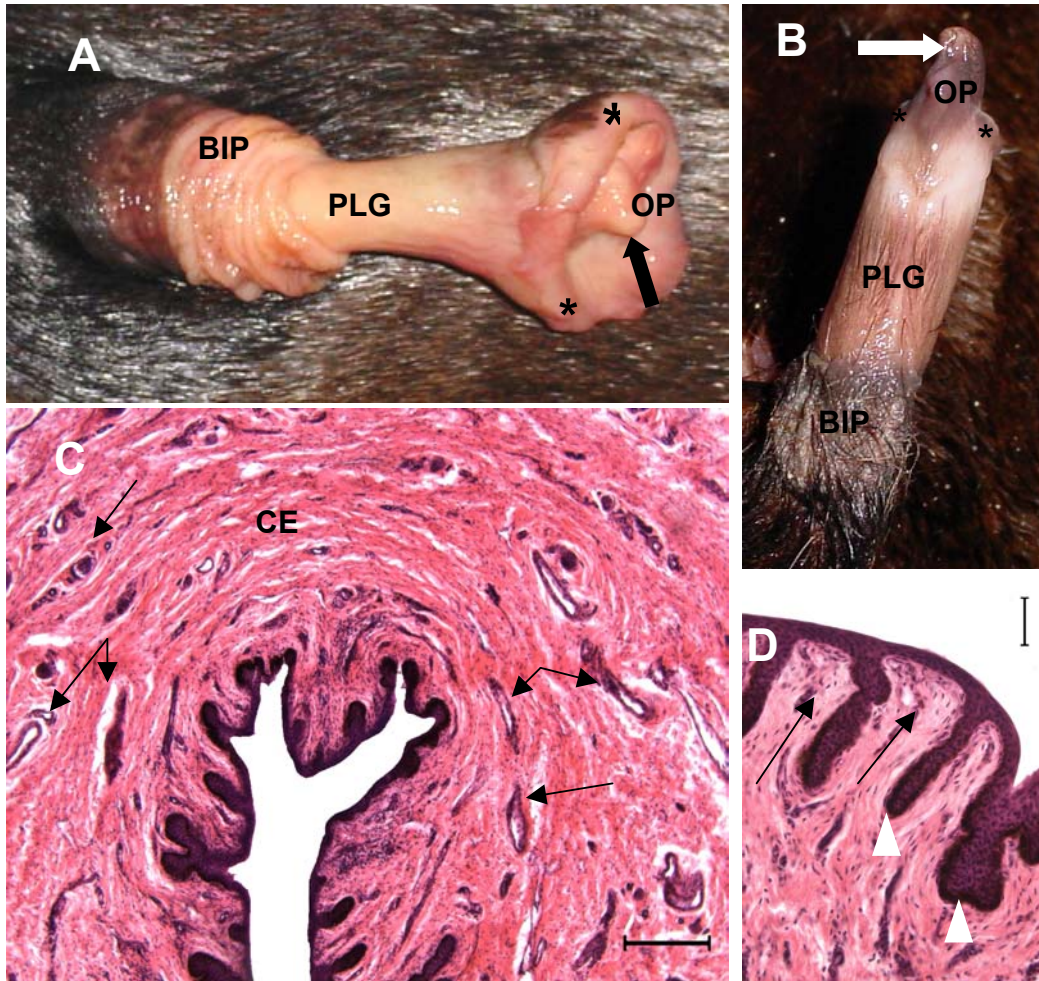


Figura 14 -**A e B**- Fotografia da Glânde Peniana (A- animal adulto, B- animal jovem): BIP- Bainha Interna do Prepúcio, PLG- Parte Longa da Glânde, OP- Porção Distal do Osso Peniano, Bordas Petaliformes da Glânde (\*), Óstio Uretral Externo (➡). **C** – Fotomicrografia da Borda Petaliforme, Coloração HE, Barra = 200 µm: CE- Corpo esponjoso, contendo inúmeros vasos (setas). **D**- Fotomicrografia da Borda Petaliforme, coloração HE, Barra = 50 µm: Papilas epidérmicas profundas na derme (pontas de seta), Camada papilar da Derme (setas).

### 4.8.3 Glânde

A glânde peniana está dividida em bulbo da glânde, parte longa da glânde e coroa da glânde. É a região distal do pênis, ápice deste órgão (Figura 14 A e B).

O bulbo da glânde, é posterior a parte final do corpo peniano, e mostra-se expandido mesmo em estado quiescente. Apresenta a origem do osso peniano e tecido erétil oriundo do corpo cavernoso em sua porção proximal e do corpo esponjoso em sua porção distal (Figura 12 A).

A parte longa da glânde é sua maior porção. Esta intimamente aderida ao osso peniano, apresenta pequena quantidade de tecido erétil em sua porção proximal e maior quantidade deste tecido a medida que se aproxima da coroa da glânde. Em relação ao pênis a parte longa da glânde, é a região que apresentou menor diâmetro.

A porção distal da glânde, a coroa da glânde, nesta espécie apresenta-se, particularmente, em forma de “Flor de Lírio”, com uma margem livre do osso peniano, que se abre e se distancia, ficando o osso centralizado. O osso peniano segue envolto a uma fina camada de tecido esponjoso e projeta-se cranialmente, além desta borda petaliforme (Figura 14 A e B).

Histologicamente, na sua porção proximal o bulbo da glânde ainda possui os corpos cavernosos, porém, a medida que este vai se aproximando da parte longa da glânde, converte-se em um osso - o osso peniano - onde existe uma dilatação do corpo esponjoso uretral, responsável pela ereção e preenchimento capilar desta região no momento da cópula.

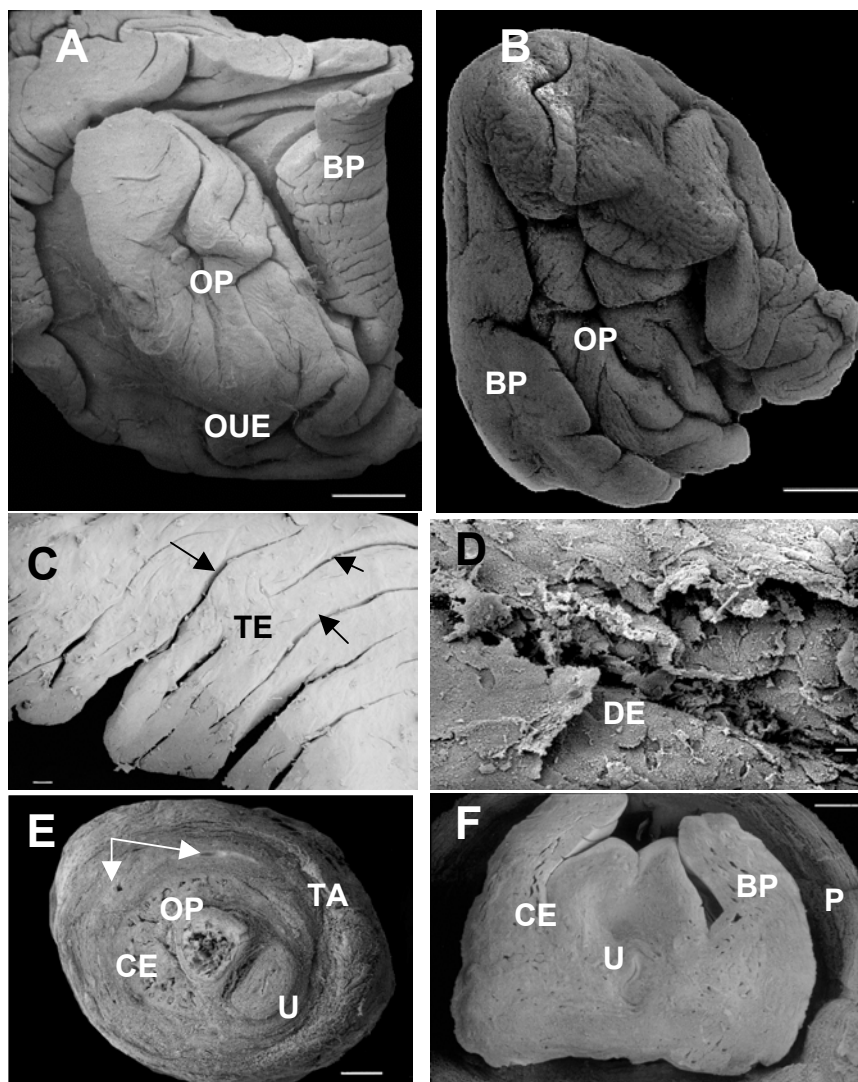


Figura 15 - **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**. **A-** Eletromicrografia da Coroa da Glânde de animal jovem, Barra = 1mm: BP- Borda Petaliforme, OP- Prolongamento Distal do Osso Peniano recoberto por tecido esponjoso, OUE- Óstio uretral externo. **B-** Eletromicrografia da Coroa da Glânde de animal adulto, Barra = 1mm: OP- Prolongamento Distal do Osso Peniano recoberto por tecido esponjoso, BP- Borda Petaliforme. **C-** Eletromicrografia da Borda Petaliforme da Coroa da Glânde de animal jovem, vista lateral, Barra = 100  $\mu$ m: TE- Tecido erétil, notar a grande quantidade de dobras e sulcos no tecido (setas). **D-** Eletromicrografia da Borda Petaliforme de animal adulto, vista lateral, Barra = 10  $\mu$ m: DE- Descamação da Epiderme, mostrando a deposição em camadas. **E-** Eletromicrografia da Parte Longa da Glânde de animal jovem, vista distal, Barra = 1mm: Setas- Vasos Dorsais do Pênis, OP- Osso Peniano, CE- Corpo esponjoso, TA- Túnica Albugínea, U- Uretra. **F-** Eletromicrografia da Coroa da Glânde, vista proximal, imediatamente distal ao Osso Peniano, Barra = 1mm: CE- Corpo esponjoso, Uretral, BP- Borda Petaliforme, P- Prepúcio.

A glande é recoberta por tecido epitelial estratificado e possui sua derme grande quantidade de papilas dérmicas (Figura 14 C e D). O corpo esponjoso da parte longa da glande possui túnica albugínea muito mais delgada que o corpo cavernoso e fibras musculares lisas dispostas circularmente. Entre estas fibras musculares lisas esparsas existem lacunas revestidas por epitélio pavimentoso simples que recebem sangue de arteríolas helicoidais que normalmente são encontradas contraídas em estado não-estéril (Figura 15 E).

A Microscopia Eletrônica de Varredura confirmou os achados macro e microscópicos encontrados. Grande similaridade na forma da coroa da glande nas duas idades estudadas foi observada (Figura 15 A e B), assim como a composição de tecido esponjoso da borda petaliforme e região formada por tecidos moles, distal ao osso peniano (Figura 15 F).

A profundidade da borda petaliforme em direção ao bulbo da glande é bem maior no adulto, assim como o grau de descamação epitelial na superfície da coroa da glande (Figura 15 B e D).

Encontramos grande quantidade de dobras e sulcos na borda petaliforme e porção distal da coroa da glande em todos os animais estudados (Figura 15 C).

#### 4.9 Osso Peniano

Parte do esqueleto visceral desta espécie, apresenta sua origem na região distal do bulbo da glande, o osso peniano do *Arctocephalus australis* projeta-se para além da coroa da glande. Possui forma triangular, achatado lateralmente, com dilatações em suas epífises cranial e caudal, sendo sua extremidade caudal de maior diâmetro. Não possui nenhuma região para inserção uretral, apenas situado dorsalmente a uretra peniana (Figura 1 C).

Microscopicamente apresenta-se como osso endocondral, possui uma zona cortical de osso compacto e uma zona medular totalmente preenchida por osso esponjoso, formado por trabéculas ósseas revestidas por tecido conjuntivo frouxo, o endóstio trabecular (Figura 16 A e B). Está envolto por tecido esponjoso erétil desde sua origem até sua extremidade distal, na coroa da glande (Figura 16 B).

A Microscopia Eletrônica de Varredura confirmou os achados macro e microscópicos encontrados, por evidenciar as regiões cortical e trabécula deste osso, assim como o seu envolvimento por tecido esponjoso erétil em toda sua extensão, desde o bulbo até a coroa da glande (Figura 15 E).



#### **4.10 Prepúcio**

É uma prega retrátil da pele do pênis. Externamente é encontrado em uma região central entre a cicatriz umbilical e o escroto. A parte livre do pênis, cerca da metade do bulbo e toda a parte longa e coroa da glândula, se projeta na cavidade prepucial (Figura 14 A e B). Possui uma região interna de pele escurecida que fica em contato com a mucosa da glândula e uma região externa, coberta de pêlos escassos e pele negra (Figura 14 A e B).

Contém tecido epitelial estratificado pavimentoso, epiderme queratinizada, derme de tecido conjuntivo denso, com glândulas sebáceas e sudoríparas (Figura 16 C). Possui em sua região próxima ao óstio prepucial grande quantidade de músculo liso e vasos sanguíneos (Figura 16 D).

#### **4.11 Determinação das Idades**

A partir das duas técnicas utilizadas (contagem dos anéis externos e contagem das linhas internas de deposição de dentina), conclui-se que os cinco animais jovens dissecados e estudados possuem menos de um ano, por não apresentarem nenhuma camada de deposição de dentina, interna ou externamente avaliadas (Figura 16 E1 e E3). O animal adulto estudado, encontrado em óbito apresentou nas duas técnicas utilizadas, cinco camadas de deposição de dentina, o que determina que possui cinco anos de idade (Figura 16 E2 e E4).

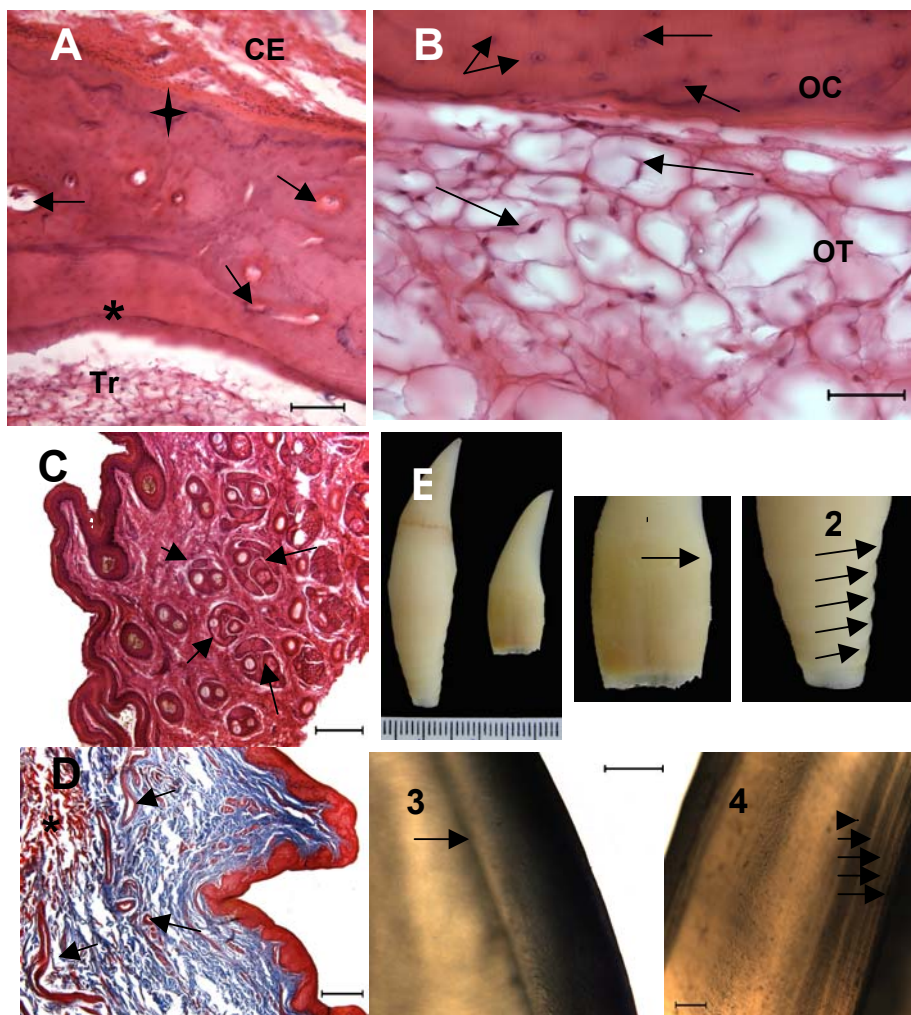


Figura 16 - **A-** Fotomicrografia do Osso peniano descalcificado, Coloração HE, Barra = 100  $\mu$ m: CE- Corpo esponjoso, Periosteio - Linha de Mineralização (  $\blacklozenge$  ), Osteócitos (setas), Endosteio (\*), Tr- Trabéculas ósseas. **B-** Fotomicrografia do Osso Peniano descalcificado, Barra = 40  $\mu$ m: OC- Osso Cortical, OT- Osso trabecular, Osteócitos (setas). **C-** Fotomicrografia do Prepúcio – Lâmina Externa, Coloração HE, Barra = 200  $\mu$ m: Tecido Epitelial Estratificado Queratinizado com melanócitos em sua camada Espinhosa e Basal (\*), Visualização de Grande Quantidade de Folículos Pilosos com glândulas sebáceas (setas). **D-** Fotomicrografia do Prepúcio- Lâmina Interna, Coloração Tric. Masson, Barra = 200  $\mu$ m: Inexistência de Folículos pilosos e grande quantidade de vasos sanguíneo (setas) e músculo (\*). **E-** Técnicas de Determinação de Idades através dos Dentes Caninos: Fotografias 1 e 2- Método de Visualização e contagem de anéis externos de dentina, Fotografia E1- Animal jovem (> 1 ano), Fotografia E2- Animal adulto (5 anos). Fotomicrografias da Técnica de Descalcificação, Secção mediana e pintura com grafite em pó: Fotomicrografia E3- Barra = 500  $\mu$ m: animal jovem (> 1 ano), Fotomicrografia E4- Barra = 500  $\mu$ m : Animal adulto (5 Anos).

## **5 Discussão**

---

## 5 DISCUSSÃO

Os achados deste estudo sobre o Sistema Reprodutor Masculino do Lobo-Marinho-do-Sul apontaram para peculiaridades interessantes “exclusivas” desta espécie, apesar de semelhanças com o sistema reprodutor masculino de outros carnívoros, especialmente dos cães domésticos (*Canis familiaris*) terem sido encontradas. O entendimento das condições ambientais, da biologia e do ciclo reprodutivo de cada gênero e espécie que comparamos ao *Arctocephalus australis* nesta discussão se faz necessário para a melhor compreensão destes resultados.

### 5.1 Escroto

A presença do escroto e orelhas externas no *Arctocephalus australis*, membro da Superfamília *Focíide*, são características que o classificam dentro da Subfamília *Otariídea*, e o diferencia das focas, morsas, peixes-boi e lontras.

O desenvolvimento do escroto no macho é controlado pelo cromossomo X e posterior secreção de andrógeno e hormônio anti-Mulleriano (AMH) pelos testículos fetais durante a fase do dimorfismo sexual (STEPHEN et al., 2005). A presença do escroto é primitiva no Reino Mammalia e a evolução prosseguiu, na maioria dos animais de uma condição escrotal para uma aescrotal (LARS; ASA, 1999), o que condiz com o aparecimento anterior dos *focídeos* (de 16,3 a 14,2 Milhões de Anos) em relação aos *otarídeos* (de 10,4 a 6,7 Milhões de Anos) (DEMÉRÉ; BERTA; ADAN, 2003), embora ambos possuam ancestral monofilogenético comum, o taxon

Enaliarctos (COLLINS; TSANG; LOFTS et al, 1982). Observado macroscopicamente, o escroto apresenta características de grande pregueamento e coloração escura, as quais podem ser relacionadas a termorregulação testicular. Sua forma, localização e pouca cobertura pilosa, também contribuem para a termorregulação. Laven et al. (1999) encontraram diferença na qualidade do sêmem em relação à quantidade de insolação escrotal em humanos, sendo que o sêmem de melhor qualidade foi encontrado no grupo que sofreu menor insolação escrotal.

Uma epiderme escura, protege as glândulas sudoríparas contra injúrias induzidas pela radiação Ultra-violeta (UV), o que sugere uma integração com a termo-regulação somática e é de grande significado para o sucesso da reprodução individual, pois a alta melanização da pele a protege contra a fotólise do folato, importante no desenvolvimento embrionário e na espermatogênese (JABLONSKI & CHAPLIN, 2000).

Nos resultados da análise microscópica a grande espessura da camada córnea da epiderme do escroto que, em comparação com o cão e o homem, é aproximadamente 5 vezes mais espessa, pode ser explicada pela forma de deambulação da espécie e do maior contato do escroto com as rochas, local onde geralmente descansa e copula. Tais características do habitat do Lobo-Marinho-do-Sul também explicariam a maior profundidade e quantidade das papilas epidérmicas encontradas, responsáveis pela adesão da epiderme à derme (BANKS, 1992).

Patel (2006) e Smilev (2006) isolaram e comprovaram o envolvimento de subtipos de queratinócitos com a re-epitelização e cicatrização de injúrias da pele de

ratos, sendo mais importantes os queratinócitos basais K5 e K14, o supra basal K10, os centrais K6, K16 e K17.

A visualização de grande quantidade de melanócitos na camada basal e lâmina basal da epiderme, em todos os animais estudados, comprova o caráter biológico da pigmentação e cor do escroto do *Arctocephalus australis*. Segundo Mills e Spaziani (1966), a presença de melanócitos no escroto do “black rat” é controlada diretamente e talvez, exclusivamente, por andrógenos. Outros autores sugerem que seja uma resposta ao estímulo da testosterona e reflita a maturidade sexual e síntese hormonal em muitas espécies (WILSON; SPAZIANI, 1973, 1976).

Bubenik e Bubenik (1985) observaram, através de técnicas imuno-histoquímicas, a presença de receptores de testosterona nos folículos pilosos, pêlos e glândulas apócrinas escrotais do cervo. A hipótese é que a pigmentação de certas regiões funciona como um indicador visual do status sexual do indivíduo.

## **5.2 Testículos**

A variação da presença dos testículos dentro do escroto nos animais dissecados, assim como nos avistados nas rochas e no mar da colônia estudada, além da forte túnica muscular Dartos encontrada microscopicamente, refletem a importância da termorregulação na manutenção das funções testiculares. Em humanos a túnica Dartos possui inervação simpática, assim como a pele do escroto, e o músculo cremaster inervação somática. Essas duas rotas de inervação, simpática tóraco-lombar e via nervosa genito-femoral (T12-L2), sugerem a grande

importância e função da termoregulação testicular na espermatogênese (YILMAZ, 2006).

Os testículos direito e esquerdo do lobo-marinho apresentaram características microscópicas idênticas, não sendo possível diferenciá-los. Tal achado também foi descrito em ratos, para os quais os autores buscaram encontrar diferenças nas funções exercidas por cada testículo, e os resultados não demonstraram tais diferenças (TURNER et al., 1996). Na macroscopia, o testículo esquerdo dos seis animais estudados posicionava-se mais cranial em relação ao direito, o que pode ser explicado através da análise da tributação venosa deste testículo. A veia testicular esquerda é tributária da veia renal esquerda, região mais cranial em relação ao posicionamento da desembocadura da veia testicular direita, situada na região lateral da veia cava caudal, caudal à veia renal do mesmo antímero. A mesma diferença na tributação venosa testicular foi observada em outro estudo com 150 cadáveres humanos, onde 78,8% dos sujeitos tiveram a veia testicular esquerda desembocando na veia renal esquerda e a veia testicular direita na veia cava caudal. Em apenas 2 casos do total de estudados, a veia testicular direita tributava na veia renal direita (ASALA et al., 2001). No cão, a tributação venosa testicular regularmente apresenta-se como foi encontrado para o Lobo-Marinho-do-Sul, porém variações não são incomuns (SCHALLER, 1999).

Em todos os animais estudados foram visualizados, durante as dissecações, apenas os dois folhetos, parietal e visceral, da túnica vaginal, e todas as outras fascias musculares encontravam-se aderidas ao folheto parietal. Os folhetos serosos e fibrosos que recobrem e abrigam os testículos durante o

descenso, normal ou anormal, refletirão futuramente na qualidade do funcionamento de tal órgão devido a alterações na termorregulação testicular, agravadas nos casos de criptorquidismo (WENSING; COLENBRANDER, 1986). Outros estudos de Maksimova e Maksimova (1977) demonstram o envolvimento da vascularização dos folhetos da túnica vaginal em processos metabólicos e de termorregulação testicular. Segundo Tanyel et al. (2000), assim como as túnicas serosas, o músculo cremaster também se forma durante o descenso testicular e encontra-se anormal em casos de hérnia inguinal ou criptorquidismo infantil.

No *Arctocephalus australis*, o músculo cremaster apresentou-se diferente do que é observado nas espécies domésticas e no homem, nos quais é composto por um único feixe localizado entre as fascias espermáticas interna e externa (SCHALLER, 1994). No Lobo-Marinheiro-do-Sul, o cremaster está dividido em três feixes: dois proximais, um lateral e um medial à túnica vaginal, e um feixe distal, localizado na ligação da porção final da túnica vaginal ao escroto. O feixe lateral e o feixe medial originam-se na fascia ilíaca, próximo ao anel vaginal. À medida que se direcionam a sua inserção, no terço final da túnica vaginal, estes músculos vão diminuindo o número e calibre de suas fibras. O feixe distal é responsável pela ligação da túnica vaginal ao escroto, e é mais calibroso que os dois outros feixes. Avaliando-se os estudos atuais sobre as funções deste músculo em outras espécies, conclui-se que, sua atuação na fisiologia termorregulatória das gônadas do *Arctocephalus australis*, é fundamental para o bom funcionamento deste órgão, e sua apresentação diferenciada é reflexo de uma adaptação evolutiva da espécie.



A movimentação dos testículos no interior da túnica vaginal é dependente da contratilidade do músculo cremaster, o que contribui para a termorregulação testicular (LONGUI, 2005).

A forma de condutibilidade nervosa e resposta a estímulos da microcirculação do músculo cremaster segue o modelo de outros músculos estriados esqueléticos, respondendo à acetilcolina com a vasodilatação e à norepinefrina com vasoconstrição, porém atuando na termorregulação testicular não apenas na aproximação ou distanciamento deste em relação ao escroto, mas também auxiliando na perda, ganho ou manutenção de calor através da circulação sanguínea que o nutre (ANDERSON et al., 1988). Tratamento com ácido mefenâmico (10µg/ml) um potente inibidor da síntese de prostaglandinas, produz marcada constrição das arteríolas do músculo cremaster de ratos, porém este efeito não foi observado nas vênulas, sugerindo que a vascularização deste músculo responde à regulação de prostaglandinas vasodilatadoras endógenas, assim como seus mecanismos de contração e relaxamento são também responsivos à variação de concentrações extracelulares do íon Cálcio (JOSHUA et al., 1988). As principais prostaglandinas envolvidas na contração e relaxamento da vascularização do músculo cremaster são a PGE1 (CHEN, 1990) e a PGE2 (MESSINA, 1980).

O Lobo-Marinheiro-do-Sul possui sua túnica albugínea testicular constituída microscopicamente por fibras colágenas, fibras elásticas não numerosas e músculo liso, além de grande quantidade de vasos sanguíneos.

A túnica albugínea do testículo de ratos é, na sua maior parte, composta por fibras colágenas (DENDUCHIS et al., 1977) e sua composição quantitativa no

testículo diminui em relação à idade em humanos, representando 16.77 g em crianças, 14.98 g em homens jovens e 13.6 g em homens adultos (SOSNIK, 1985). A presença de inúmeros vasos nesta túnica em diferentes espécies reflete diretamente o grau de exigência do controle da manutenção térmica para o melhor funcionamento testicular. As veias e artérias na túnica albugínea constituem um mecanismo para dissipação de calor de todo o parênquima do testículo (HEINZE; PTAK, 1976). A túnica albugínea testicular está envolvida no transporte de espermatozóides para fora de seu parênquima através da rede testicular contida no mediastino, respondendo a estímulos da acetilcolina, noradrenalina e adrenalina, que produzem marcada contração desta túnica. A histamina também causa contração da túnica albugínea do testículo, assim como a ocitocina e prostaglandinas, possui efeito de contração dose-dependente (QIN; LUNG, 2000). Em camelos, a túnica albugínea do testículo é formada por fibras colágenas e poucas fibras elásticas (SINGH; BHARADWAJ, 1978). No gambá, *Didelphis azarae*, ela é constituída preponderantemente por fibras colágenas, escassas fibras eláticas e não apresenta fibras musculares (NOGUEIRA et al., 1977).

Após atentas observações microscópicas de vários cortes dos testículos de cada animal processado neste estudo, percebemos que no estroma do testículo do *Arctocephalus australis* adulto grandes células de Leydig eram encontradas, porém, nos animais jovens, apesar do grande estroma intertubular, o reduzido tamanho e número destas células dificultavam que fossem vistas, em comparação com a grande quantidade dos fibroblastos que preenchem este tecido conjuntivo. Em ratos, estas células também demonstram diferenças morfométricas e funcionais

entre as idades fetais e adultas, sendo elas responsáveis pela diferenciação testicular e produção de andrógenos essenciais para a masculinização, no feto esta sob efeito do hormônio Luteinizante (LH) do hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH) e, no animal adulto, é completamente dependente do hormônio pituitário LH e de andrógenos, que podem agir diretamente nas células de Leydig ou ter ação indireta, através das células do espaço peritubular, porém não mais respondendo ao estímulo do ACTH (O'SHAUGHNESSY et al., 2005).

Entretanto, a regulação das células de Leydig maduras em mamíferos, acontece, sabidamente, através do eixo hipotálamo-pituitária-tireóide. A forma e função das células de Leydig são mantidas pela atuação do hormônio pituitário LH (Hormônio Luteinizante), fundamental para a síntese de testosterona. Os hormônios tireoideanos são também responsáveis pela síntese de esteróides, através das Proteínas Regulatórias "StAR", que fazem o transporte de colesterol, intermediário obrigatório na síntese de hormônios esteróides, até as mitocôndrias internas as células de Leydig, adicionalmente o hormônio hipotalâmico TRH (Hormônio Libereador de Tirotrófina) que possui exclusivamente receptores nas células de Leydig, atua como um modulador, agindo sobre a hipófise estimulando ou freando a síntese do TSH (Hormônio Tíreo-estimulante), responsável pela síntese dos hormônios tireoideanos que vão respaldar a ação do LH (MENDIS-HANDAGAMA; SIRIL ARIYARATNE, 2005).

A masculinização durante a vida fetal é dependente da secreção da testosterona pela célula de Leydig, induzindo a diferenciação do ducto de Wolff, do sinus urogenital e da genitália externa, enquanto as células de Sertoli produzem o

hormônio anti-Mulleriano (AMH), provocando a regressão do ducto de Muller (REY, 2005). No Lobo-Marinheiro-do-Sul, o dimorfismo sexual a partir de características secundárias, inicia-se em torno dos dois anos, quando ocorre um aumento abrupto nas diferenças entre machos e fêmeas, no início da puberdade, o qual se estabiliza a partir dos 9 anos (OLIVEIRA; DANILEWICZ, 2000). O *Arctocephalus australis* atinge sua maturidade sexual aos sete anos de vida (VAZ-FERREIRA, 1976).

Após observarmos diferenças em relação a morfologia das células de Leydig entre os indivíduos jovens em comparação com o adulto, as amostras de testículos foram testadas para a presença de Aromatase (P450arom), enzima que converte testosterona em estrógeno. Os resultados obtidos na imuno-histoquímica nos testículos do Lobo-Marinheiro-do-Sul nas duas idades estudadas, apontaram para uma diferença marcante na expressão da enzima aromatase pelas células de Leydig do animal de 5 anos, que caracterizamos como sendo um adulto jovem, capaz de produzir espermatozóides viáveis e apresentar comportamento de interesse por fêmeas em atividade reprodutiva, visto que apresentou a enzima P450arom nas células de Leydig e nas células do epitélio germinativo, padrão fisiológico de animais adultos. Todos os outros animais estudados apresentaram apenas P450arom nas células do epitélio germinativo, dentro dos túbulos seminíferos, caracterizados assim como jovens pré-púberes. Em ratos adultos, Abney (1999) encontrou a atividade da aromatase nos testículos semelhante a que observamos neste estudo, ocorrendo fundamentalmente nas células de Sertoli antes da puberdade e nas células de Leydig apenas em ratos adultos. Nas células germinativas testiculares de muitas espécies

também foi encontrada atividade da P450<sub>arom</sub> em espermatófitos, espermátides e espermatozóides epididimários (JANULIS et al., 1996).

Aromatases são complexos enzimáticos que catalisam a síntese de estrógenos a partir de andrógenos, após a ação primária das enzimas esteróides hidroxilases, possuindo duas formas, a Citocromo P450 (P450<sub>arom</sub>) e a NADPH-citocromo P450 redutase (Redutase), sendo o primeiro grupo mais importante biologicamente devido aos seus potenciais efeitos fisiológicos. A expressão da P450<sub>arom</sub> ocorre no cérebro e gônadas e é essencial para o desenvolvimento reprodutivo e fertilização (CONLEY; HINSHELWOOD, 2001).

A síntese de estrógenos, durante a gestação, se dá principalmente pela placenta, gônadas e partes do cérebro e outros tecidos fetais. A produção de P450<sub>arom</sub> é maior no macho (SIITERI, 1982). A aromatase declina ao nascimento e após o final da puberdade (ROSELI; RESKO, 1993). Microscopia de imunofluorescência demonstrou que, na gônada do macho eqüino, a enzima citocromo 450 aromatase foi localizada no tecido intersticial, porém, para as condições em que o estudo foi realizado, não se encontrou especificidade para a aromatase nas células de Sertoli, nem nas células germinativas (ALMADHIDI et al., 1995). No *Callorhinus ursinus*, lobo-marinho-do-norte, a maturidade sexual e dimorfismo ocorre dos 2 aos 7anos de idade, mas, um macho não forma harém com menos de 10 anos de idade (BROWNE et al., 2006). Para tecer conclusões a respeito da presença da aromatase nos testículos do Lobo-Marinheiro-do-Sul, seriam necessários novos estudos, com uma maior quantidade de animais adultos. Entretanto, pesquisas anteriores se referem à capacidade do animal de formar

haréns, ou seja, sua maturidade sexual social e não à maturação sexual fisiológica, definida pela capacidade de fecundar. A presença da P450arom dentro dos túbulos seminíferos e também nas células de Leydig revelam que ele está em plena atividade sexual, possuindo capacidade adequada de síntese de estrógeno a partir de andrógenos e conseqüentemente possuindo libido como outro animal de maior idade não constituindo harém por uma questão de força física e inexperiência de conquista de um território, porém sendo capaz de fecundar se houver oportunidade.

A pouca visualização de células germinativas nas camadas luminais e adluminais dos túbulos seminíferos do testículo dos animais estudados, adulto e jovens, podem estar relacionadas a fatores ambientais (fotoperíodo) e ao ciclo reprodutivo da espécie (ATKINSON; GILMARTIN, 1992; GARDINER, 1999).

Em *Focídeos*, mudanças no comportamento como desprezo pelas fêmeas ou mesmo agressividade para com elas, e ganho de peso, já que quando está na estação reprodutiva fica sem comer, gastando a energia armazenada na forma de gordura, provavelmente indicam um período de recrudescência testicular que pode durar vários meses após a estação reprodutiva, constituindo uma sazonalidade na espermatogênese do macho (ATKINSON; GILMARTIN, 1992).

### **5.3 Epididímo**

No Lobo-Marinheiro-do-Sul, o epididímo apresentou-se aderido ao testículo pela bolsa testicular que é uma inflexão do folheto visceral da túnica albugínea. De acordo com sua histologia, o epididímo pode ser dividido em três regiões: segmento

inicial (cabeça), médio (corpo) e final (cauda). Segundo Glover e Nicander (1971), nas espécies domésticas, nos dois primeiros segmentos ocorre a maturação e capacitação espermática e, no segmento terminal, ocorre a estocagem.

As funções epididimárias estão diretamente relacionadas à capacidade de resfriamento e manutenção da temperatura do epidídimo em relação a temperatura corpórea e ao próprio parênquima testicular. Em suínos reprodutores, a temperatura intra-testicular gira em torno de 35.0 a 36.5 °C, a da cabeça do epidídimo entre 35.5 a 37.0°C, e da cauda 35.3-37.0°C. A temperatura destes tecidos giram em torno de menos 2.5, 1.5 e 1.9 °C, respectivamente, em relação à temperatura retal (38.2°C, com alguma variação), sendo a cabeça do epidídimo a região onde ocorre a maior oscilação de temperatura (STONE, 1981). Para machos manatis (peixes-boi), a prevenção da hipertermia dos tecidos reprodutivos é feita a partir do resfriamento do sangue superficial e envio deste aos plexos venosos profundos em seus órgãos, assim como ocorre em cetáceos e *focídeos* (ROMMEL et al., 2001).

A grande quantidade de vasos contidos nas túnicas envoltórias epididimárias no Lobo-Marinheiro-do-Sul, sugere que a termorregulação deste órgão isolado, como de todo o testículo, envolve vários mecanismos termovasculares e converge para uma adaptação morfológica na sua história evolutiva, como ocorre em outras espécies. A composição tecidual epididimária encontrada no Lobo-Marinheiro-do-Sul foi a mesma relatada para humanos, onde, segundo Baumgarten, Holstein e Rosengren (1971), o tecido conjuntivo que circunda o ducto epididimário é formado por fibroblastos, colágeno, fibras elásticas, vasos sanguíneos e linfáticos, fibras nervosas, macrófagos e músculo liso. O músculo liso, que circunda o ducto

epididimário, apresenta aumento no diâmetro de suas camadas do segmento inicial em direção ao segmento terminal. Tal conformação condiz com o que encontramos na histologia epididimária do *Arctocephalus australis*, sendo ainda nesta espécie, maior a quantidade de tecido conjuntivo denso não modelado rico e fibroblastos que envolve o ducto epididimário na porção inicial deste ducto (cabeça) em comparação com a região da cauda, onde fibras musculares o sustentam.

#### **5.4 Funículo Espermático**

O plexo venoso pampiniforme auxilia na termorregulação epididimária devido à estreita relação existente entre a artéria da cabeça do epidídimo e tal plexo venoso, porém, nos coelhos, há pouca interferência deste mecanismo no resfriamento testicular como um todo, torna esta região essencialmente termorregulada pelo escroto (CLAVERT; CRANS; BRUN, 1980). Tal diferenciação na fisiologia termorregulatória do funículo espermático entre as espécies, reflete seu grau de importância na adaptação da espécie ao seu bioma e evolução reprodutiva.

Calor e substâncias, incluindo gases, esteróides e peptídeos, podem passar do sangue venoso, fluido intersticial ou linfático, para um vaso arterial, processo conhecido como transferência contra-corrente, mecanismo encontrado nos órgãos reprodutivos de muitas espécies animais, inclusive no homem (EINER-JENSEN; HUNTER, 2005), e bovinos (GLAD et al., 1991).

Como discutimos, ocorre uma diferenciação na tributação venosa entre os testículos do Lobo-Marinheiro-do-Sul, o que pode se refletir no mecanismo de termorregulação em seu funículo espermático, pois a drenagem das veias



testiculares é diferente no lado esquerdo e direito. As discussões estão centradas na tensão da via vascular, sendo que a termorregulação do testículo esquerdo gera uma maior tensão neste antímero, pela atração deste testículo em direção ao escroto, o que tem um efeito importante na compressão dos capilares *vasa vasorum* do plexo pampiniforme e artéria testicular, diminuindo também sua perfusão, conseqüentemente, diminuindo o suplemento nutricional, ilustrado em humanos na modificação funcional pela varicocele, mais comum neste antímero (MIHALACHE; INDREI; MIHALACHE, 1991).

### **5.5 Ducto Deferente**

Fixo à margem testicular medial, como continuação da porção terminal do ducto epididimário, o ducto deferente relaciona-se ao testículo no lobo-marinho-do-sul como ocorre na maioria das espécies domésticas. Glover & Nicander (1971), dividiram o ducto deferente em três regiões: proximal, porção localizada prioritariamente no escroto, região inguinal, a qual percorre o funículo espermático até o anel vaginal e porção terminal, na porção cranial da cavidade pélvica, até sua junção ao ducto ejaculatório, local onde se encontram as ampolas do ducto deferente, facilmente visíveis em eqüinos, bovinos e humanos e menos visíveis em cães.

Não foi identificada a ampola do ducto deferente, macroscópica nem tampouco microscopicamente, no Lobo-Marinho-do-Sul nos animais das duas idades estudadas. Em sua porção terminal, os ductos deferentes direito e esquerdo, estão

ligados pela prega genital, um espesso ligamento que se prolonga cranialmente até os ureteres e ligamentos redondos vesicais, determinando uma maior estabilidade e menor possibilidade de movimentação ao trato urinário inferior desta espécie. Não se visualizou a presença do útero masculino no Lobo-Marinheiro-do-Sul. O útero masculino, situado na prega genital, é rudimentar em cães, é maior e constante em eqüinos. Sua extremidade caudal pode abrir-se no colículo seminal (SCHALLER, 1994). A ampola está presente nos ductos deferentes do cão, mas, não são muito proeminentes (NICKEL, 1979).

A glândula ampolar é particularmente desenvolvida em garanhões, onde chega a medir 25cm de comprimento e 2 cm de diâmetro, em bovinos 10 x 1,5 cm, em ovinos 7 x 0,6 cm, no elefante 8 x 6 cm, e camelo 13 x 0,5 cm (SETCHEL; MADDOCKS; BROOKS, 1994).

As funções da ampola do ducto deferente ou glândula ampolar incluem desde a fagocitose de espermatozoides inviáveis até a suplementação espécie-específica de hormônios, enzimas, como as glutatona peroxidase e superóxido desmutase, substâncias antioxidantes e proteínas secretoras ricas em cisteínas. Nos eqüinos, a ausência desta região durante o processamento do sêmen aumenta o estresse oxidativo do espermatozoide (BAUMBER; BALL, 2005; SCHAMBONY et al., 1998). Em bovinos, a ampola do ducto deferente funciona como um órgão de atividade de enzimas hidrolíticas (glicosidases, exopeptidases, fosfolipases) que contribuem para a formação do plasma seminal (VANHA- PERTTULA;, 1990). Em cães, estudos de ultraestrutura demonstraram a presença de células epiteliais fagocíticas e substâncias de alta viscosidade nesta glândula (MURAKAMI et al.,

1986). Tal região, em cães, recebe inervação predominantemente alfa-adrenérgica, tendo a acetilcolina, efeitos perceptíveis apenas em animais jovens (ARVER; SJOSTRND, 1982). Em eqüinos foi demonstrado que o diâmetro da luz da glândula ampolar aumentou após a preparação sexual para a cópula e diminuiu significativamente após a ejaculação, o que comprova ser o esvaziamento de seu conteúdo, fundamental para o sucesso reprodutivo do garanhão (WEBER; GEARY; WOODS, 1990).

No homem, a porção inicial do ducto deferente possui distribuição assimétrica de camadas de músculos longitudinais, lúmen circular, não pregueado. Na porção inguinal, o ducto deferente apresenta-se circular devido à espessa camada muscular, porém, seu epitélio começa a apresentar pregueamento. Em sua região terminal, na porção cranial da cavidade pélvica, o ducto deferente apresenta grande número de dobras na sua mucosa, presença de glândulas adluminais, e confluência com o ducto da vesícula seminal, quando forma um pequeno ducto ejaculatório (SETCHEL; MADDOCKS; BROOKS, 1994).

A análise microscópica da porção final do ducto deferente do *Arctocephalus australis* demonstrou que estes penetram em separado na região compacta da glândula prostática e se unem na região central da crista uretral o que constitui apenas um óstio ejaculatório que se abre na luz uretral e se direciona caudalmente.

Em humanos uma formação caudal dos óstios dos ductos ejaculatórios dentro da zona central ocorre em 18 por cento dos casos, uma penetração posterior a zona central ocorre em 12 por cento dos casos enquanto em 6 por cento dos

casos, os ductos ejaculatórios desembocam na bainha do músculo uretral (VILLERS et al., 1990). Em cães os ductos deferentes atravessam a substância da glândula prostática e se abrem na parte pélvica da uretra em um indistinto colículo seminal (NICKEL, 1979).

## 5.6 Próstata

No *Arctocephalus australis* a próstata se apresenta como um único lobo, de coloração amarelo-pálido, externo a uretra pélvica, situada logo após o trígono vesical, facilmente identificável pela sua dilatação característica, mais perceptível dorsalmente. Seu diâmetro diminui a medida que avança lateroventralmente. Contudo seu diâmetro é 3 a 5 vezes menor que o da próstata dos caninos, sendo porém, menor nos animais pré-pubescentes. .

Aparentemente todos os animais apresentam glândula prostática, contudo, ocorre alta variação em sua morfologia (SETCHEL; MADDOCKS; BROOKS, 1994). A próstata canina tem dois lobos com vascularização independente: cada lobo é suprido pela artéria prostática direita ou esquerda. Cada artéria prostática é drenada por três pequenas veias (cranial, media e caudal). A próstata é composta por uma série de glândulas do tipo túbulo-alveolar e apresenta-se dividida em zonas: zona periférica, zona central e zona disseminada. O músculo uretral tem origem na parte uretral prostática e é composto em grande parte por fibras musculares brancas, o que sugere um metabolismo anaeróbico (STEFANOV, 2004).

Microscopicamente foram visualizadas 3 regiões desta glândula no *Arctocephalus australis*: a mais externa foi classificada como zona glandular compacta, uma zona intermediária, com número bastante reduzido de glândulas e caracterizada por um tecido muscular de sustentação, e uma região central, classificada como zona disseminada. Foram observados numerosos ductos glandulares chegando a luz uretral desta região que, em comparação com outras regiões, é reduzida. Apresenta um grande colículo seminal e uma luz uretral livre de pregueamentos.

McNeal (1981) descreveu 4 regiões anatômicas microscópicas para a próstata humana, sendo a relação com a uretra o ponto de referência desta divisão:

- 1- Zona periférica - constitui 70 por cento da glândula, apresenta forma de disco, com os ductos e irradia-se lateralmente para a uretra, laterodistalmente ao verumontanum (ou crista uretral). Muitos carcinomas são vistos neste local.
- 2- Zona central – constitui 25 por cento da glândula prostática, seus ductos originam-se próximos ao orifício dos ductos ejaculatórios, demarca a base da próstata.
- 3- Região Pré-prostática – segmento uretral proximal ao verumontanum possui ductos de pequeno calibre e comprimento, relaciona-se intimamente a região periuretral do esfíncter vesical existente proximal ao verumontanum. É nesta região que ocorre comumente a hiperplasia nodular benigna (BPH).
- 4 - Estroma fibro muscular – fina superfície não glandular fusionada e inseparável à glândula. O lúmen da região prostática da uretra canina possui um diâmetro menor em relação a outras porções. Durante uretografia retrógrada em cães o lúmen foi observado, com estrias de meio de

contraste nas dobras da mucosa e estreitamento em forma de espiral foi detectado no colículo seminal (POOGIRD; WOOD, 1986).

No Lobo-Marinheiro-do-Su, a próstata apresentou as mesmas regiões descritas para o homem, contudo, não classificou-se como fazendo parte desta glândula sexual acessória a região aqui chamada de pré-prostática, visto que há apenas um pequeno espaço entre o esfíncter vesical e esta glândula, não caracterizando uma região passível de classificação própria. Como no cão, o Lobo-Marinheiro-do-Sul, também diminui o lúmen uretral, acentuadamente, na região do colículo seminal e percebemos na região grande número de ductos prostáticos desembocando nesta porção da uretra.

O cão tem sido popularmente utilizado para estudos desta glândula, pois pode ser estimulada pela pilocarpina hidrocloreada a produzir grandes quantidades de pura secreção prostática, além de o fato da próstata canina ter uma tendência a hiperplasias, provendo um modelo de estudo para patologias prostáticas humanas (CHOWNING et al., 2006). O estrógeno possui um efeito direto na glândula prostática, responsável por muitos efeitos fisiológicos da reprodução; contudo, também está envolvido em diversas patologias, incluindo um grande número de cânceres prostáticos, além de, nos ovários, testículos e doenças cardiovasculares (DEROO; KORACH, 2006). A incidência de doenças prostáticas aumenta com a idade, quando o nível de andrógenos no plasma sanguíneo diminui. Os estrógenos são importantes para o funcionamento normal da próstata, mas, também apresentam-se como fator etiológico de doenças prostáticas. Existem os dois tipos de receptores para vários estrógenos na próstata, o ER $\alpha$  e o ER $\beta$  que demonstra

que a glândula responde diretamente a estrógenos. Estes receptores podem ser estimulados pela enzima aromatase, que pode auxiliar no estudo da evolução e desenvolvimento de doenças prostáticas (ELLEM; RISBRIDGER, 2006). Além disso, a presença ou ausência do fluido prostático afeta a motilidade e viabilidade acrossômica de espermatozóides nos diferentes sistemas de preservação espermática (SIRIVAIDYAPONG et al., 2001).

O fluido prostático possui fisiologicamente em sua constituição leucócitos, que aparecem aumentados nas injúrias desta glândula, e servem de meio diagnóstico para acompanhamento ou determinação da evolução da patologia. A adição de isoflavanóides ao fluido prostático reduz, significativamente, a possibilidade de aparecimento de câncer na próstata. Esta substância, ou seus múltiplos metabólitos, pode ser utilizada *in vivo* na prevenção de neoplasias prostáticas (HEDLUND et al., 2006).

## 5.7 Uretra

Composta por tecido muscular liso, músculo estriado esquelético, fibras colágenas, fibras elásticas, mucosas, serosas, glândulas, vasos e nervos, representa um complexo tubo com funções no aparelho genito-urinário, passagem excretora de urina e sêmem (SCHALLER, 1999) e que pela composição tecidual, desde sua porção cranial encontrada por este trabalho, representa-se importante na micção, ereção, cópula e ejaculação, com um grande grau de especialização e adaptação ao seu estilo de vida aquática, levando-se em conta que tem que realizar a cópula em terra. O caráter evolutivo na modificação da morfologia de um órgão esta embasada

em princípios de adaptação a uma seleção natural, possuindo valor e aplicações fisiológicas, que serão sentidas na descendência da espécie (DARWIN, 1872). No caso da uretra, adicionada a seleção natural também a uma seleção sexual, sendo as mudanças na fêmea mais comumente relacionadas a adaptação ao macho que a competição fêmea-fêmea, enquanto no macho as mudanças refletem mais fortemente um caráter de disputa entre membros do mesmo sexo (DIMIJIAN, 2005).

O tamanho da uretra pélvica no Lobo-Marinheiro-do-Sul é pequeno e proporcionalmente 1/3 menor em relação aos cães e eqüinos. O reduzido tamanho da sínfise e da cavidade pélvica, pela própria forma fusiforme do corpo, assim como a presença de apenas uma glândula sexual acessória, não faz necessária uma uretra pélvica maior. Contudo, o grande espaço cavernoso e as numerosas glândulas uretrais descritas, destacam o envolvimento desta região para o bom funcionamento de todo o sistema genital da espécie.

A uretra em todos os machos mamíferos tem origem no orifício uretral interno, após o trígono vesical e termina no orifício uretral externo, na coroa da glândula peniana (CHRISTENSEN, 1954). Em eqüinos a uretra tem cerca de 75 a 90 cm no macho. No garanhão a uretra pélvica, que tem 10 a 12 cm de comprimento, alarga-se em um padrão elíptico até atingir um diâmetro latero-lateral de 5 cm e dorso-ventral de 2 a 3 cm. Uma proeminência dorsal arredondada, o colículo seminal, situa-se imediatamente caudal ao orifício uretral e é o local das aberturas comuns do ducto deferente e dos ductos das vesículas seminais. As aberturas dos ductos prostáticos encontram-se sobre dois grupos de pequenas papilas laterais ao colículo seminal., os ductos das glândulas bulbouretrais abrem-se em linhas dorsais



pares entre 2 e 3 cm caudais ao colículo. As pequenas aberturas dos ductos das glândulas uretrais laterais abrem-se no mesmo nível na face lateral da uretra (SETCHEL; MADDOCKS; BROOKS, 1994).

Em cães a uretra sustenta apenas a glândula prostática, em gatos a próstata e as glândulas bulbouretrais estão presentes. A parte pélvica da uretra possui também estrato cavernoso e está envolvida pelo músculo estriado uretral. A parte pélvica da uretra de ruminantes é circundada por um estrato cavernoso que diminui em direção caudal (NICKEL, 1979).

A inervação uretral humana se faz pelo nervo dorsal do pênis, que suporta a via aferente uretral, cujos impulsos são componentes da atividade reflexa ejaculatória e identifica a glândula como um órgão sensorial para reflexos sexuais (YANG; BRADLEY, 1998). Estudos confirmaram algumas semelhanças no trato urinário baixo de cães com o do homem (músculo retrator vesical, próstata, uretra prostática e uretra membranosa). Assim como nos humanos os caninos possuem duas regiões no músculo esfíncter uretral, apresentando porém um arranjo e disposição diferente de suas fibras. Estas diferenças anatômicas sugerem que interpretações fisiológicas uretrais podem ser diferentes nas duas espécies, inviabilizando assim o uso indiscriminado de estudos de uma espécie para possíveis aplicações diretas em outra espécie (STOLZENBURG et al., 2002).

Durante a ejaculação ocorre o reflexo cavernoso-uretral, que promove em conjunto com a contração dos músculos cavernosos durante o ato sexual, a contração do músculo esfíncter uretral interno e externo o que impede uma ejaculação retrógrada para a bexiga e igualmente a projeção de urina, propagando o

ejaculado para a uretra peniana. A investigação do reflexo cavernoso-uretral auxilia no diagnóstico de desordens ejaculatórias (SHAFIK et al.,2005).

Pelo pronunciado tamanho do colículo seminal em relação a uretra prostática, e pelo posicionamento do óstio ejaculatório, encontrado no *Arctocephalus australis* acreditamos que o reflexo cavernoso uretral ocorra no Lobo-Marinho-do-Sul, e associado ao posicionamento do óstio ejaculatório, auxilia no direcionamento do ejaculado em direção ao óstio uretral externo.

## 5.8 Pênis

O tamanho do pênis do Lobo-Marinho-do-Sul, é proporcionalmente semelhante ao do cão e do equino, que possuem as mesmas estratégias evolutivas em relação ao tamanho deste órgão copulador. Jeremy (1994) comparou características reprodutivas no contexto darwinista e concluiu que o orangotango (*Pongo pygmeus*) e gorila (*Gorilla*) têm pênis pequeno (comprimento de 4 e 3 cm respectivamente), em comparação ao chimpanzé (Genus *Pan*) (8cm de comprimento) ou humanos (*Homo sapiens*) (13cm de comprimento). Esta diferença entre tais primatas é associada às suas estratégias reprodutivas de acasalamento e à probabilidade da forma peniana, acarretar uma perda da funcionalidade. Em espécies que possuem sistema de acasalamentos múltiplos (*multimales*) o pênis é mais longo, para garantir maior possibilidade de escolha, enquanto em sistemas de

acasalamentos monogâmicos (*one-male*) não se torna necessário a conquista de diferentes fêmeas.

O pênis do lobo-marinho-do-sul, assim como o do cão, descrito por Miller's, (1979) é composto por três divisões primárias: raiz, corpo e glândula, uma região diretamente contínua à outra. Juntas se subdividem em corpo cavernoso, corpo esponjoso e uretra peniana. O corpo cavernoso do pênis do cão é mais fibroso que vascular, em contraste com o homem e o cavalo. Sua ereção, manutenção da ereção e cópula é menos dependente das funções vasculares exclusivas, estando associados a estas o osso peniano, o grande bulbo da glândula entre demais características da reprodução canina (CHRISTENSEN, 1954). No pênis do *Arctocephalus australis* (Lobo-Marinho-do-Sul) entretanto, mesmo com a grande camada fibrosa que o compõe, fica evidente a grande necessidade de um suporte vascular para que ocorra a ereção e a viabilidade da cópula, sendo entretanto um pênis do tipo vascular, assim como o do homem e do equino. Seu osso peniano é localizado em uma região distinta da encontrada em cães, e o bulbo da glândula possui metade do volume, não ocorrendo na cópula o engatamento característico dos cães.

As formas estruturais e composição de cada região peniana se diferenciam consideravelmente entre uma espécie e outra. No cão, envolvendo o pênis, há uma camada de colágeno e fibras elásticas, a túnica albugínea do pênis (MILLER'S, 1979). No Lobo-Marinho-do-Sul, a túnica albugínea do pênis é constituída por grande quantidade de fibras colágenas e músculo liso, fibras elásticas só foram observadas nas trabéculas septo-marginais e artérias .

Segundo Kelly (2000), em ratos a túnica albugínea do pênis é rica em fibras colágenas e permite uma expansão durante a ereção. Entretanto, esta túnica regride bastante de tamanho após a ereção, diminuindo também sua área. O arranjo de fibras colágenas permite uma expansão de 25 por cento longitudinalmente e 15 por cento na circunferência. Ficando o tecido mais enrijecido 3 a 4 vezes. A expansão do corpo cavernoso é limitada pelas trabéculas septo- marginais.

#### 5.8.1 Raiz do Pênis

A raiz do pênis do Lobo-Marinheiro-do-Sul apresenta-se como o local da união dos pilares penianos, apresenta uma região alba colagenosa e espessa, transversal ao sentido do pênis, na qual se fixam seus pilares. Situa-se após a porção final da uretra pélvica, aderida às margens caudais das tábuas isquiáticas direita e esquerda, entre as tuberosidades isquiáticas. Os músculos isquiocavernosos recobrem dois pilares penianos, que formarão o corpo cavernoso do pênis e os músculos bulboesponjosos recobrem o bulbo peniano, posteriormente transformando-se em corpo esponjoso.

Em sua porção distal, ventral ao reto, ocorre a origem aparente do músculo retrator do pênis na fáscia externa do músculo esfíncter anal externo, que de acordo com a Nomenclatura Anatômica Veterinária (SCHALLER, 1999), tem origem entre a 1ª e 4ª vértebra caudais, dependendo da espécie (origem sacral em suínos) avançando ventralmente entre o reto e o músculo elevador do ânus (SCHALLER,1999). Porém esta descrição não foi encontrada no *Arctocephalus*

*australis* sendo apenas visualizada uma túnica fibrosa que se direcionava dorsalmente em direção as poucas vértebras caudais que possui esta espécie.

Assim como no Lobo-Marinheiro-do-Sul, no cão a inervação peniana e os principais vasos, encontram-se protegidos pelo ligamento suspensor do pênis que fixa a raiz peniana à borda ventro-caudal do arco esquiático, isto é, dorsalmente ao pênis. O bulbo da uretra canina é bilobado e está localizado entre a raiz do pênis e o arco isquiático (MILLER'S, 1979).

A região da raiz do pênis tem sido relacionada não só apenas como possuidora de funções físicas, mecânicas de fixação peniana ao arco e borda caudal da sínfise isquiática, como também, na indução e manutenção da ereção peniana (MERRICK et al., 2002).

#### 5.8.2 Bulbo do Pênis

O posicionamento do bulbo do pênis do Lobo-Marinheiro-do-Sul, é o diferente do que foi descrito para cães, por (CHRISTENSEN, 1954; MILLER'S, 1979), localizando-se ventralmente aos pilares penianos, porém, possuindo cobertura bilateral do músculo estriado bulbo esponjoso, que depois funde-se a suas fibras. A anatomia e histologia da irrigação sangüínea do bulbo do pênis revelaram a existência de esfínteres venosos e posicionamento variado das veias profundas do pênis em fibras musculares lisas de apresentação longitudinal (CASEY; WOODS, 1982). O envolvimento dos músculos bulbocavernosos e isquiouretral na ereção tem sido bastante estudado. O músculo bulbocavernoso se contrai ritmicamente durante

orgasmo, auxiliando na ejeção do sêmem do proximal para o distal da uretra. O músculo bulbocavernoso aparentemente não tem efeito na ereção. O músculo isquiocavernoso tem maior efeito na ereção e aumento da pressão intracavernosa, não interferindo na ejaculação. O músculo isquiouretral é fundamental na ereção (SHAFIK, 1995). A indução por substância análoga à serotonina, do músculo bulboesponjoso, resulta na contração rítmica deste músculo de fundamental importância para a expulsão do sêmem. Esta contração acontece sob a forma de ondas, evidenciadas pelo acompanhamento da atividade elétrica deste músculo (CLEMENT et al., 2006). O sistema genital masculino possui inervação oriunda de ambas as vias autônoma e somática, e são organizadas nos segmentos: toracolombar (simpático), lombosacral (somático) e sacral (parassimpático). Lesões na medula espinhal geralmente anulam a atividade sexual. Contudo, foram identificadas conexões entre células e motoneurônios do núcleo dorso medial e ambos os neurônios pré-ganglionares simpáticos e parassimpáticos, inervando o músculo bulboesponjoso e a próstata, respectivamente, o que resulta em aumento da duração e magnitude da pressão durante eventos eréteis além de aumento na micção. Estes dados anatômicos reforçam a idéia de que células lombares espinotalâmicas atuam na coordenação do controle espinhal da ejaculação (NOUT et al., 2006; XU et al., 2005).

A microscopia do músculo isquiocavernoso, do músculo bulboesponjoso, e da túnica albugínea, demonstram que estas estruturas interagem com fibras musculares lisas, elemento chave na composição dos sinusóides penianos. A túnica albugínea do corpo cavernoso pode ser dividida em uma camada circular interna e

uma camada longitudinal externa. No corpo cavernoso, o músculo esquelético contém e suporta o músculo liso, que é um elemento essencial para os capilares sinusóides. Este relacionamento é importante na habilidade dos vasos em fornecer o sangue para satisfazer as exigências da ereção, visto que no corpo esponjoso, o músculo esquelético se une parcialmente ao músculo liso para permitir a ejaculação. Na glândula do pênis, entretanto, o ligamento distal, uma continuação da camada longitudinal exterior da túnica albugínea, é arranjado centralmente e age como uma âncora da glândula. Sem este forte ligamento, a glândula seria demasiadamente fraca para suportar a pressão gerada durante o coito. Juntos, os relacionamentos anatômicos entre o músculo esquelético e o músculo liso dentro do pênis humano explicam muitos fenômenos fisiológicos, tais como a ereção, a ejaculação, o suporte de pressão intracavernosa durante a ejaculação, e a resistência da glândula peniana (HSU et al., 2004), no Lobo-Marinheiro-do-Sul, pela existência da borda petaliforme, o ligamento distal não foi observado na coroa da glândula.

### 5.8.3 Glândula do Pênis

A glândula do Lobo-Marinheiro-do-Sul apresenta-se arquitetonicamente adaptada para o sistema reprodutor das fêmeas da Superfamília *Focoidea* (KING, 1983). Os resultados, encontrados durante as dissecações dos animais aqui estudados e discutidos, mostraram que desde a infância o Lobo-Marinheiro-do-Sul apresenta, na porção mais distal de seu pênis, o osso peniano agindo como processo uretral e bordas livres petaliformes de tecido erétil que se originam

distalmente, logo após o bulbo da glânde e se projetam até a coroa. Anatomicamente tais estruturas compõem uma glânde perfeitamente adaptada ao fórnix da vagina e porção caudal da cérvix bastante projetado na fêmea *Actocephalus australis*. As bordas petaliformes se encaixam no fórnix vaginal enquanto o osso peniano projeta o óstio uretral externo do macho em direção ao óstio uterino externo da fêmea, o que resulta numa maior quantidade de ejaculado do macho despejado diretamente na região interna do órgão reprodutor feminino, o que implica numa maior possibilidade de concepção desta fêmea, e representa uma estratégia que pode ter sido fundamental para a manutenção de toda a espécie, levando-se em conta suas características reprodutivas sazonais e monoestrals, além de fatores do ambiente. A evolução da parte livre do pênis de modo a otimizar o coito e o ejaculado tem sido objeto de estudo para conclusão das relações anatômicas do sistema reprodutor em várias espécies. Tais adaptações ocorrem tanto macroscópica como microscopicamente (JEREMY, 1994). A competição espermática, definida como a competição entre espermatozoides de dois ou mais machos para a fertilização do mesmo óvulo (PARKER, 1970) pode também ocorrer no *Arctocephalus australis*, visto que ele, não impede que a fêmea saia de seu território (CASSINI, 1999) permitindo assim que seja visualizada uma possível “Seleção Sexual Pós-copulatória” (BIRKHEAD; MOLLER, 1998) nesta espécie. Embora Darwin (1872) identifique o significado evolucionário da competição entre machos no contexto da reprodução, somente há poucas décadas que começamos a apreciar a importância da competição no nível gametogênico. A competição espermática, é reconhecida agora como uma força seletiva chave que dá forma a anatomia, fisiologia e ao



comportamento reprodutivo masculino dos grupos animais diversos (STOCKLEY, 2004).

A grande profundidade, quantidade e formas das papilas epidérmicas encontradas na região distal do pênis e em toda a borda petaliforme do Lobo-Marinho-do-Sul, reflete o grau de preparação para o atrito fisiológico que tal região está preparada para suportar nesta espécie.

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma poderosa e fascinante técnica, para o estudo de estruturas superficiais em escalas anatômicas tridimensionais (BEERLAGE et al., 2006).

A MEV demonstrou que a coroa da glândula deste membro da Família *Otariidae*, possui deste antes da puberdade a forma de “Flor de Lírio” descrita por este trabalho, sendo definido o caráter adaptativo desta região peniana, tão importante para garantir a boa taxa de reprodução da espécie que segundo Vaz-Ferreira (1976), gira em torno de 82%. Em aumentos maiores, na MEV, percebe-se a presença de pregas teciduais na borda petaliforme da glândula, demonstrando a capacidade de resistência à ereção desta região que é formada por tecido esponjoso. Foi perceptível, através da MEV, o grande grau de reepitelização e descamação desta região, o que determina segundo Patel (2006), uma capacitação para suportar e resistir a atritos além da rápida cicatrização.

## 5.9 Osso Peniano

Encontrou-se no Lobo-Marinheiro-do-Sul uma localização do osso peniano, diferenciada em relação aos cães, como descrito por Nickel (1979). Este osso projeta-se distalmente no pênis e determina uma conformação peculiar a coroa da glândula destes animais. É um osso resultante de uma ossificação endocondral (GEORGE et al., 1998) possuindo uma região cortical e outra trabecular, envolvido em toda sua extensão por tecido esponjoso.

Mecanismos fenotípicos de diferenciação sexual na regulação androgênica da morfogênese do trato genito-urinário de ambos os sexos estão envolvidos no aparecimento do osso peniano. Possivelmente o desenvolvimento de certos polipeptídeos fatores de crescimento, ativados em conjunto com esteróides androgênicos e proteínas osso morfogênicas, poderiam determinar a formação do baculum em um restrito número de mamíferos eutherios (WILLIAMS-ASHMAN, 1991).

O osso peniano ou baculum faz parte do esqueleto visceral presente na glândula de mamíferos de cinco ordens. Sua função durante a cópula não é totalmente conhecida. No *Rattus norvegicus*, numa análise anatômica do baculum e corpo cavernoso, percebemos que as duas estruturas estão conectadas por uma camada de fibrocartilagem. Embasado na anatomia, foi proposto que o baculum aumenta a rigidez flexural total do pênis durante a cópula transferindo as dobras e forças compressivas da extremidade distal da glândula à parede erétil do corpo cavernoso (KELLY, 2000).

O baculum é relativamente compacto em Pinípedes com acasalamentos terrestres (otarídeos e elefantes marinhos), talvez reflexo de uma forma de minimizar fraturas deste osso. Podendo medir 50 a 60 cm e pesar até 1 quilo nas Morsas (KING, 1983), porém sua forma é mais complexa em *otarídeos* que em morsas ou focas (BRIGGS; MOREJOHN, 1975).

No Leão-Marinho-de-Steller (*Eumatopias jubatus*), o baculum aumentou em 3 vezes seu comprimento e em 30 vezes sua massa entre o 1 e 8 ano de vida. Em adultos, a baculum alcançou 18,1cm ( 6,2 por cento do comprimento corpório) (EDWARD; KENNETH; THOMAS, 2000).

No *Arctocephalus australis*, o baculum apresentou formato quase que triangular em toda sua extensão, sendo a base, de maior diâmetro localizada ventralmente, assim como também apresenta uma diminuição de sua espessura a medida que avança distalmente no pênis . É levemente achatado lateralmente e apresentou uma tênue concavidade ventral onde se visualiza-se a uretra peniana, sem porém caracterizar um sulco profundo neste osso protegendo a uretra como visto no cão, o que determinaria um menor comprometimento desta região no caso de uma fratura do osso peniano.

Há diferenças entre na forma e localização do osso peniano entre os *focídeos*, morsas e *otarídeos* , sendo a uretra localizada ventralmente a este em todas estas espécies. A forma do baculum do *Callorhinus* é similar ao do *Arctocephalus* e *Zolophus* no seu desenvolvimento, tendo no adulto uma forma peculiar de localização (KING, 1983).

Em um elefante-marinho-do-sul, medindo, 4,8 m de comprimento, o osso peniano teve forma cilíndrica, presença de achatamento na superfície ventral da região médio-cranial, estrias transversais no ápice e principalmente na base. Possuía comprimento de 30,6 cm e peso 68,549g. Comparou-se este osso com o de um cão de grande porte, mastim napolitano, macho, adulto, de 1,03 m de comprimento, apresentando o baculum com forma triangular, sulco profundo na superfície ventral, ápice afinado em comparação com o corpo e base, ranhuras desordenadas, principalmente na região médio-caudal, comprimento de 11,6 cm; e peso 4,642 g (MACHADO et al., 2006).

É possível se estimar o tamanho e peso de algumas espécies a partir de seu baculum (SCHEFER, 1969).

### **5.10 Prepúcio**

No Lobo-Marinho-do-Sul o prepúcio apresentou-se como um orifício constituído por uma pele queratinizada, pouco provida de pêlos, de coloração enegrecida, situada medianamente entre a cicatriz umbilical e o escroto. Possui além desta já descrita lâmina externa, uma lâmina interna, de coloração rosada, com manchas escuras melanocíticas e epitélio desprovido de camada córnea em contato constante com a parte longa e coroa da glande. Visualizou-se microscopicamente uma grande área muscular próximo ao orifício prepucial e quantidade expressiva de vascularização o que pode determinar a existência de um esfíncter nesta região.

Embriologicamente o prepúcio do macho é formado pela associação e colisão do ectoderma, neuroderma e mesoderma, resultando numa pentalaminar estrutura, composta de mucosa epitelial escamosa, lâmina própria, músculo Dartos, derme e pele (COLD; TAYLOR, 1999).

A cavidade prepucial possui uma flora bacteriana natural, idade dependente, similar aos olhos, boca, pele e órgãos genitais femininos. E o desequilíbrio desta flora saprófita através de lavagens excessivas, é o maior fator de crescimento de organismos patogênicos (FLEISS, 1998), o que justificaria a existência de um esfíncter prepucial no *Arctocephalus australis*, em constante contato com a água.

### **5.11 Determinação das Idades**

A determinação da idade dos animais estudados foi definitiva para a interpretação dos resultados conseguidos, sendo porém o uso de duas ou três técnicas associadas indicado para a maior segurança na definição da idade de cada animal (SCHILLER, 2000).

Sabendo-se do ciclo monoestral e da sincronização dos partos desta espécie, pode-se acurar que os cinco animais jovens dissecados no mês de julho de 2005, possuíam entre 7 a 8 meses, enquanto o adulto, embora classificado com um animal de cinco anos, já estava próximo de completar seis anos, possuindo em torno de 68 meses.

## **6 Conclusões**

---

## 6 CONCLUSÕES

- O sistema reprodutor masculino do *Arctocephalus australis* apresenta características particulares da espécie, sua Anatomia, Histologia e Fisiologia refletem o grau de adaptação evolutiva destes animais à sua biologia reprodutiva e ao sistema reprodutor de sua fêmea.
  
- A adaptação da porção distal do pênis do Lobo-Marinheiro-do-Sul ao sistema reprodutor da fêmea de sua espécie, já ocorre desde a fase pré-púbere, apenas diferenciando-se à medida que o animal amadurece sexualmente.
  
- A topografia visceral do *Arctocephalus australis* demonstrou que o sistema reprodutor masculino, possui grande restrição de movimentos pela cavidade pélvica e porção caudal da cavidade abdominal do animal, devido ao grande calibre e número de ligamentos que possui. Isto se relaciona ao nado e alternância do ambiente aquático e terrestre.
  
- Aos 8 meses, o Lobo-Marinheiro-do-Sul macho, não apresenta grau relevante de dimorfismo sexual, em comparação ao macho de 5 anos que encontra-se fisiologicamente em condições reprodutivas.
  
- É possível haver competição espermática e conseqüentemente Seleção Sexual Póscoulatória nesta espécie.

- É possível realizar-se trabalhos morfológicos e estudos microscópicos no *Arctocephalus australis*, sem que para isso seja necessário eutanásiar animais, visto que na grande colônia desta espécie encontrada na Republica Oriental do Uruguay, ocorrem freqüentes óbitos por causas naturais, bastando sua busca pelas praias do local.



## **Referências**

---

## REFERÊNCIAS

ABNEY, T. O. The potential roles of estrogens in regulating Leydig cell development and function: a review. **Steroids**, v. 64, n. 9, p. 610-617, 1999.

ALMAÇA, C. **Baleias, focas e Peixes-boi na história natural Portuguesa**, Lisboa, : Edit. Porto, 1998. p. 44-65.

ALMADHIDI, J.; SERALINI, G. E.; FRESNEL, J.; SILBERZAHN, P.; GAILLARD, J. L. Immunohistochemical localization of cytochrome P450 aromatase in equine gonads. **The journal of histochemistry and cytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 571-577, 1995.

ALVARENGA, F. S.; SANTOS, M. C. de O.; ZAMPIROLI, E.; VICENTE, A. F. C.; PEREIRA, T. M. A. Nota Sobre Ocorrências de Pinípedes no Litoral de Estado de São Paulo – Brasil. In: REUNIÃO DE TRABALHOS DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUÁTICOS DA AMÉRICA DO SUL, 8. 1998, Olinda, **Anais...**, p. 6.

ANDERSEN, H. T. **The biology of marine mammals**, London: Academic Press, 1969. p. 295-336.

ANDERSON, G. L.; ACLAND, R. D.; SIEMIONOW, M.; MCCABE, S. J. Vascular isolation of the rat cremaster muscle. **Microvascular research**, v.36, n. 1, p. 56-63, 1988.

ANIMAL DIVERSITY WEB. **Museum of Zoology** , University of Michigan, disponível em :  
<[http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Arctocephalus\\_australis.html](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Arctocephalus_australis.html)> Acessado em: 26/abril/2006.

ARVER, S.; SJOSTRAND, N. O. Functions of adrenergic and cholinergic nerves in canine effectors of seminal emission. **Acta physiologica Scandinavica**, v. 115, n. 1, p. 67-77, 1982.

ASALA, S.; CHAUDHARY, S. C.; MASUMBUKO-KAHAMBA, N.; BIDMOS, M. Anatomical variations in the human testicular blood vessels. **Annals of anatomy**, v. 183, n. 6, p.545-549, 2001.

ASHCHEPKOVA LIU, FEDOSEEV VIA. Development of male germ cells in the fur seal (*Callorhinus ursinus*). **Arkhiv anatomii, gistologii i émbriologii**, v. 95, n. 12, p. 59-66, 1988.

ATKINSON, S. Reproductive biology of seals. **Reviews of Reproduction**, v. 2, p.175–194, 1997.

ATKINSON, S.; GILMARTIN, W. G. Seasonal testosterone pattern in Hawaiian monk seals (*Monachus schauinslandi*). **Journal of reproduction and fertility**, v. 96, n.1, p. 35-39, 1992.

BANKS, J. W. **Histologia veterinária aplicada**. Manole, São Paulo, 1991, 629 p.

BASTIDA, R.; LOUREIRO, J.; QUSE, V.; BERNARDELLI, A.; RODRIGUEZ, D.; COSTA, E. Tuberculosis in a wild subantarctic fur seal from Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**, v.35, n. 4, p. 796-798, 1999.

BAUMBER, J.; BALL, B. A. Determination of glutathione peroxidase and superoxide dismutase-like activities in equine spermatozoa, seminal plasma, and reproductive tissues. **American journal of veterinary research**, v. 66, n. 8, p.1415-1419, 2005.

BAUMGARTEN, H. G.; HOLSTEIN, A. F.; ROSENGREN, E. Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man., **Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie**, v. 120, n.1, p. 37-79, 1971.

BEERLAGE, M. A. M., MEERTENS, R. M., MULDER, M. H. V., SMOLDERS, C. A., STRATHMANN, H. Hindered Diffusion of Flexible Polymers Through Polyimide Ultrafiltration Membranes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 75, p. 1180-1193, 2000.

BEILIS, A.; RAHN, I. M.; GONZALEZ, M. M. C.; LOUREIRO, J.; MERANI, M. S. Mitotic and meiotic analysis in *Arctocephalus australis* (Otariidae). **Hereditas**, v. 131, n. 1, p. 33-37, 1999.

BIRKHEAD, T. R.; MOLLER, A. P. **Sperm competition and sexual selection**, London; San Diego : Academic Press, 1998, 826 p.

BRAUNN, P. R.; FERIGOLO, J. Provável Tuberculose em Crânio de um Espécime de *Otaria flavescens* (Pinnipedia, Otariidae) encontrado na Costa do Rio Grande do Sul, Brasil. In: REUNIÃO DE TRABALHOS DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUATICOS DA AMÉRICA DO SUL, 8, 1998, Olinda- PE , **Anais...**, p. 32.

BRIGGS, K.; MOREJOHN, G.V. Sexual dimorphism in the mandibles and canine teeth of the northern elephant seal. **Journal of mammalogy**, v. 56, n. 1, p. 224-231, 1975.

BRITO, L. F.; SILVA, A. E.; BARBOSA, R. T.; KASTELIC, J. P. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. **Theriogenology**, v. 61, n. 2-3, p. 511-528, 2004.

BROWNE, P.; CONLEY, A. J.; SPRAKER, T.; REAM, R. R.; LASLEY, B. L. Sex steroid concentrations and localization of steroidogenic enzyme expression in free-ranging female northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). **General and comparative endocrinology**, v.10, epub ahead of print. 2006.

BUBENIK G. A; BUBENIK A. B. Seasonal variations in hair pigmentation of white-tailed deer and their relationship to sexual activity and plasma testosterone. **The Journal of experimental zoology**, v. 235. n.3, p. 387-395, 1985.

CAPPOZO, H. L.; PEREZ, F.; RAGA, J. A. Nematodos Parasitos del Lobo Marino de Dos Pelos, *Arctocephalis australis*. In: REUNIÃO DE TRABALHOS DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUATICOS DA AMÉRICA DO SUL, 8, 1998, Olinda- PE, **Anais...**, p. 39.

CASEY, W. C.; WOODS, R. W. Anatomy and histology of penile deep dorsal vein: venous cushions and proximal "sphincter". **The Journal of urology**, v. 19, n. 3 p.284-286, 1982.

CASSINI, M. H. The evolution of reproductive systems in pinnipeds. **Behavioral Ecology**, v. 10, n. 5, p. 612-616, 1999.

CHEN, L. E.; SEABER, A. V.; URBANIAK, J. R. Vasodilator action of prostaglandin E1 on microcirculation of rat cremaster muscle. **Microsurgery**, v. 11, n. 3, p. 204-208, 1990.

CHOWNING, S. L.; SUSIL, R. C.; KRIEGER, A.; FICHTINGER, G.; WHITCOMB, L. L.; ATALAR, E. A preliminary analysis and model of prostate injection distributions. **The Prostate**, v. 66, n. 4, p. 344-357, 2006.

CHRISTENSEN, G. C. Angioarchitecture of the canine penis and the process of erection. **The American journal of anatomy**, v. 95, n. 2, p. 227-261, 1954.

CLAVERT, A.; CRANZ, C.; BRUN, B. Study of the vascularization of the epididymis, **Bulletin de l'Association des anatomists**, v. 64, n.187, p. 539-546, 1980.

CLEMENT, P.; BERNABE, J.; KIA, H. K.; ALEXANDRE, L.; GIULIANO, F. D. 2-like receptors mediate the expulsion phase of ejaculation elicited by 8-hydroxy-2-(di-N-propylamino)tetralin in rats. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 316, n. 2, p. 830-834, 2006.

COLD, C. J.; TAYLOR, J. R. The prepuce. **BJU International**, v. 83, p. 34, 1999.

COLLINS, P. M.; TSANG, W. N.; LOFTS, B. Anatomy and function of the reproductive tract in the captive male shrew (*Tupaia belangeri*), **Biology Reproductive**, Biology. V. 26, n. 1, p.169–182, 1982.

CONLEY, A.; HINSHELWOOD, M. Mammalian aromatases. **Reproduction**, v. 121, n. 5, p. 685-695, 2001.

CRESPO, E. A. El Lobo Marino de Un Pelo, (*Otaria flavescens*) Conservacion X Exploracion. In: PRIMEIRA REUNION DE TRABAJO DE ENXERTOS EN MAMIFEROS AQUÁTICOS DE AMERICA DEL SUR; 1, Buenos Aires, 1985. **Anais...** p. 103-107.

DANILEWICZ, D. S.; OTT, P. H.; MORENO, I. B.; MARTINS, M. B.; OLIVEIRA, L. R.; CAON, G. Monitoramento de Praia no Litoral Norte do Rio Grande do Sul Uma Revisão dos Registros de Mamíferos Marinhos entre 1991 e 1998. In: REUNIÃO DE TRABALHOS DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUATICOS DA AMÉRICA DO SUL, 8, Olinda- PE, 1998. **Anais...**, p. 62.

DARWIN C. **The Origin of Species**. In: \_\_\_\_\_ Mutual affinities of organic beings: morphology -- embryology -- rudimentary organs. New York: New American Library, 2003, reimpressão do original de 1872. 496 p.

DEME'RE', T. A. ; BERTA , A.; ADAM , P. J. Pinnipedimorph Evolutionary Biogeography. In: **Bulletin American Museum of Natural History**, n. 279, p. 73, 2003.

DENDUCHIS, B.; LUSTIG, L.; GONZALEZ, N. N.; PUIG, R. P. Partial chemical and immunological characterization of pepsin-solubilized collagen from the tunica albuginea of rat testis. **Acta Europaea fertilitatis**, v. 8, n. 2, p. 133-141, 1977.

DEROO, B. J.; KORACH, K. S. Estrogen receptors and human disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 3, p. 561-570, 2006.

DIMIJIAN, G. G.; Evolution of sexuality: biology and behavior. **Proceedings (Baylor University. Medical Center)**, v. 18, n. 3, p. 244-258, 2005.

EDWARD, H. M.; KENNETH, W. P.; THOMAS, R. L. Bacular Size, Growth, and Allometry in the Largest Extant Otariid, The Steller Sea Lion (*Eumetopias Jubatus*). **Journal of Mammalogy**, v. 81, n. 1, p. 134–144, 2000.

EINER-JENSEN, N.; HUNTER, R. Counter-current transfer in reproductive biology. **Reproduction**, v. 129, n.1, p. 9-18, 2005.

EL-BAHANASAWY; DAWOOD; FAROUK, M. S.; DAWOOD, A.; FAROUK, A. Low-flow priapism: risk factors for erectile dysfunction. **BJU International**, v. 89, p. 285, 2002.

ELLEM, S. J.; RISBRIDGER, G. P. Aromatase and prostate cancer. **Minerva endocrinological**, v. 31, n. 1, p. 1-12, 2006.

ENCICLOPÉDIA. In: **ENCICLOPÉDIA da Natureza Planeta Vivo**, Grandes Mamíferos Marinhos, Rio de Janeiro: Editora Planeta, 1998. v. 9, p. 5-12.

FLEISS, P. M.; HODGES, F. M.; VAN HOWE, R. S. Immunological functions of the human prepuce. **Sexually transmitted infections**, v. 74, n. 5, p. 364-367, 1998.

FRANCISCO, E.; ALBAREDA, D.; MAS, M.; GONÇALEZ, M; AGUADO, G. Recuperacion de ejemplares de Lobos Marinos de Dos Pelos ( *Arctocephalus australis*) em Rio De La Plata , In: REUNIÃO DE TRABALHOS DE ESPECIALISTAS EM MAMÍFEROS AQUATICOS DA AMÉRICA DO SUL, 8; 1998, Olinda- PE. **Anais...** p. 72.

FRED, N. W.; DANIEL, K.; ODELL F. Thermoregulatory Behavior of the Northern Elephant Seal, *Mirounga angustirostris*. **Journal of Mammalogy**, v. 52, n. 4, p. 758-774, 1971.

GARDINER, K. J.; BOYD, I. L.; FOLLETT, B. K.; RACEY, P. A.; REIJNDERS, P. J. H. Changes in pituitary, ovarian, and testicular activity in harbour seals (*Phoca vitulina*) in relation to season and sexual maturity. **Canadian journal of zoology**, v. 77, n. 2, p. 211–221, 1999.

GEORGE, L. L. **Histologia comparada** / Luiz Ludovico George, Carlos Elvas Rodrigues Alves, Rodrigo Roque Lesqueves de Castro. São Paulo: Roca, 1998, 286 p.

GERPE, M.; MORENO, J.; PÉREZ, A.; BASTIDA, R.; RODRIGUEZ, D.; MARCOVECCHIO, J. Trace metals in the southamerican fur seal, *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783). International Conference, 4. 1990, Barcelona. **Anais...** p. 591.

GLAD, S. H.; LAMBRECHTSEN, J.; EINER-JENSEN, N. Efficiency of the countercurrent transfer of heat and <sup>133</sup>Xenon between the pampiniform plexus and testicular artery of the bull under in-vitro conditions. **International journal of andrology**, v.14, n. 3, p. 232-240, 1991.

GLOVER, T. D.; NICANDER, L. Some aspects of structure and function in the mammalian epididimo. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v. 13, p. 39-50, 1971. Suplemento n.13.

GRAMPONE, M. A.; SIENRA, B.;QUILEZ, J. L.. Fatty Acid Composition of Fats from Uruguayan Fur Seal ( *Arctocephalus australis*); **Marine Mammals Science**, v. 6; n. 1; p. 48-53; Montevideo, 1990.

HARCOURT, R. Factors affecting early mortality in the South American fur seal (*Arctocephalus australis* ) in Peru: Density-related effects and predation. **Journal of Zoology**. v. 226, n. 2, p. 259-270, 1992.

HARRISON, R. J. **Funcional anatomy of marine mammals**, London; New York : Academic Press, 1972, p. 24-40.

HEDLUND, T. E, VAN BOKHOVEN, A.; JOHANNES, W. U, NORDEEN, S. K, OGDEN, L. G. Prostatic fluid concentrations of isoflavonoids in soy consumers are sufficient to inhibit growth of benign and malignant prostatic epithelial cells in vitro. **The Prostate**, v. 66, n. 5, p. 557-66, 2006.

HEINZE, W.; PTAK, W. Comparative morphological studies on the vascular systems of testes in cattle, swine, horse and dog under functional conditions, **Archiv für experimentelle Veterinärmedizin**, v. 30, n. 5, p. 669-685, 1976.

HOELZE, A. R.; JOSE, V. L.; GABRIEL, A. D.; STEPHEN, J. O. Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. **Journal of Molecular Evolution**, v. 39, n. 2, p. 191 – 199, 1994.

HSU, G. L.; HSIEH, C. H.; WEN, H. S.; HSU, W. L.; WU, C. H.; FONG, T. H.; CHEN, S. C.; TSENG, G. F. Anatomy of the human penis: the relationship of the architecture between skeletal and smooth muscles. **Journal of andrology**, v. 25, n. 3, p. 426-431, 2004.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Mamíferos aquáticos do Brasil: Plano de Ação – Versão II**, Brasília: M.M.A, 2001.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, **Lista oficial de espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção** ; Portaria 1522 de 19 de dezembro de 1998. Brasília: D. O. U., 1998, p. 71.

IUCN. INTERNATIONAL UNION FOR THE CONSERVATION OF NATURE AND NATURE RESOURCES. **Red List de Theatned Spécies**. Gland: IUCN, 2000.

IUCN . INTERNATIONAL UNION FOR THE CONSERVATION OF NATURE AND NATURE RESOURCES. **Red List de Categoria**. Gland: IUCN, 1994.

ITIS-USDA, Integrated taxonomic information system – *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783). Disponível em: <<http://www.itis.usda.gov/>> acesso em 13 /jan/ 2006.

JABLONSKI, N. G.; CHAPLIN, G. The evolution of human skin coloration. . **Journal of human evolution**, v. 39, n. 1, p. 57-106, 2000.

JANULIS, L.; BAHR, J. M.; HESS, R. A.; BUNICK, D. P450 aromatase messenger ribonucleic acid expression in male rat germ cells: detection by reverse transcription-polymerase chain reaction amplification. **Archives of andrology**, v. 17, n. 6, p. 651-658, 1996.

JEREMY F. D. Size and form of the penis in orang-utans. **Journal of Mammalogy**, v. 75, n. 1, p. 1-9, 1994.

JOSHUA, I. G.; FLEMING, J. T.; DOWE, J. P. The influence of extracellular calcium on microvascular tone in the rat cremaster muscle. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 189, n. 3, p. 344-352, 1988.

KELLY, D. A. Anatomy of the baculum-corpora cavernosum interface in the Norway rat (*Rattus norvegicus*), and implications for force transfer during copulation. **Journal of morphology**, v. 244, p. 69-77, 2000.

KELLY, D. A. Expansion of the tunica albuginea during penile inflation in the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*), **American journal of veterinary research**, v. 202, p. 253-265, 1999.

KING, J. E. **Seals of the World**. British Museum (Natural History) 2. ed. London; Oxford: University Press, 1983, 240 p.

LARS, W. F.; ÅSA, N. The Evolution of the Scrotum and Testicular Descent in Mammals: a Phylogenetic View. **Journal of Theoretical Biology**, v. 196, n. 1, p. 61-72, 1999.

LAVEN, J. S.; HAVERKORN, M. J.; BOTS, R. S. Influence of occupation and living habits on semen quality in men (scrotal insulation and semen quality). **European journal of obstetrics, gynecology and reproductive**, v. 29, n. 2, p. 137-141, 1988.

LAVIGNE, D. M. Pinniped Thermoregulation: comments on the "effects of cold on the evolution of pinniped breeding systems" **Evolution**, v. 36, n. 2, p. 409-414, 1982.

LEHMANN, K. Ambulatory treatment of erectile dysfunction. **Therapeutische Umschau**. v. 55, n. 6, p. 365-371, 1998.

LONGUI, C. A. Cryptorchidism: diagnosis and treatment]. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 49, n. 1, p.165-171, 2006.



M.M.A. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Brasília : M.M.A/SFB, 2002. p. 26 – 327.

M.M.A. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE / IBAMA, **Portaria n. 98**, de 14 de Abril de 2000. Brasília: MMA, 2000. p. 71.

M.M.A. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Disponível em:<[HTTP://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna](http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna)>. Acessado em 25 abr. 2006.

MACHADO, A. S. D.; LE BAS, A.; SILVA, A. P.; MIRANDA, B. S.; ALVES, F. R.; ALOIA, T. P. A.; GARBELOTI, F.; GUERRA, R. R.; CAL, J. A.; COGLIATI, B.; HERNANDEZ-BLASQUEZ, F. J.; AMBRÓSIO, C. E; PAPA, P. C. Osso peniano (Baculum) no Elefante-Marinho-do-Sul (Mirounga leonina): relato e descrição comparativa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 26; 2006a, Londrina. **Anais...** cd-room: biologia marinha.

MACHADO, A. S. D; LE BAS, A.; SILVA, A. P.; MIRANDA, B. S.; ALVES, F. R.; ALOIA, T. P. A.; GARBELOTI, F.; GUERRA, R. R; CAL, J. A.; COGLIATI, B.; HERNANDEZ-BLASQUEZ, F. J.; PAPA, P. C. Ações Antrópicas no Leão –Marinho-do-Sul (Otária flavescens), In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 26; 2006b, Londrina, **Anais...** cd-room: biologia marinha.

MAKSIMOVA, I. G.; MAKSIMOV, V. V. Normal and abnormal testicular descent. **Oxford reviews of reproductive biology**, v. 8, p.130-164, 1986.

MERRICK, G. S.; BUTLE, W. M.; WALLNER, K. E.; LIEF, J. H.; ANDERSON, R. L.; SMEILES, B. J.; GALBREATH, R. W.; BENSON, M. L. The importance of radiation doses to the penile bulb vs. crura in the development of postbrachytherapy erectile dysfunction. **International journal of radiation oncology, biology, physics**, v. 54, n. 4, p. 1055-1062, 2002.

MESSINA, E. J.; KALEY, G. Microcirculatory responses to prostacyclin and PGE2 in the rat cremaster muscle. **Advances in prostaglandin and thromboxane research**, v. 7, p. 719-722, 1980.

MCKENNA, M.C.; S.K.BELL. **Classification of mammals above the species level**, New York: Columbia University Press, 1998.

MCNEAL, J. E. The zonal anatomy of the prostate. **The Prostate**, v. 2, n.1, p. 35-49, 1981.

MENDIS-HANDAGAMA, S. M.; SIRIL ARIYARATNE, H. B. Leydig cells, thyroid hormones and steroidogenesis. **Indian journal of experimental biology**, v. 43, n. 11, p. 939-962, 2005.

MIGLINO, M. A. Clonagem Animal e Placentação, **Ciência e cultura**, v. 56, n. 3, p. 22, 2005.

MIHALACHE, G.; INDREI, A.; MIHALACHE, G. D. The vasa vasorum in the veins of the spermatic cord. **Revista Medico-Chirurgicală a Societății de Medici și Naturaliști din Iași**, v. 100, n. 3 -4, p. 180-182, 1996.

MILLER'S. **Antomy of the dog**. HOWARD, E. E.; GEORGE, C. C. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1979, p. 568-578.

MILLS, T. M.; SPAZIANI, E. Hormonal control of melanin pigmentation in scrotal skin of the rat. **Experimental Cell Research**, v. 44, n. 1, p. 13-22, 1966.

MOSSMAN, H. W., **Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures**, Washington : Academic Press, 1937. p. 226; 284-285.

MURAKAMI, M.; NISHIDA, T.; SHIROMOTO, M.; INOKUCHI, T. Scanning and transmission electron microscopic study of the ampullary region of the dog vas deferens, with special reference to epithelial phagocytosis of spermatozoa and latex beads. **Anatomischer Anzeiger**, v. 162, n. 4, p. 289-296, 1986.

NEHRA, A.; BLUTE, M. L.; BARRETT, D. M.; MORELAND, R. B. Rationale for combination therapy of intraurethral prostaglandin E(1) and sildenafil in the salvage of erectile dysfunction patients desiring noninvasive therapy. **International journal of impotence research**. v. 14, p. 38-42, 2002. Suplemento 1.

NAYA, D. E.; ARIM, M.; VARGAS, R. Diet of South American Fur Seal (*Arctocephalus australis*) in isla de lobos, Uruguay. In: **Marine Mammals Science**, v.18, n. 3, p 734-7435, 2002.

NICKEL, R. **The viscera of domestic animals**. Parei: Berlin , Hamburg , 1979. 401 p.

NOGUEIRA, J. C.; GODINHO, H. P.; CARDOSO, F. M. Microscopic anatomy of the scrotum, testis with its excurrent duct system and spermatic cord of *Didelphis azarae*. **Acta anatomica**, v. 99, n. 2, p.209-219, 1977.

OUT, Y. S.; LEEDY, G. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. Alterations in eliminative and sexual reflexes after spinal cord injury: defecatory function and development of spasticity in pelvic floor musculature. **Progress in brain research**, v. 152, p. 359-372, 2006.

OLIVEIRA, L. R.; CAON, G.; DANILEWICZ, D. I.; MARTINS, M. B.; MORENO, I. M. B.; OTT, P. H. Patterns of occurrence of pinnipeds along the southern brazilian coast . In: BIENNIAL CONFERENCE ON THE BIOLOGY OF MARINE MAMMALS, 13; 1999. Hawaii, **Anais...** p. 139.

OLIVEIRA, L. R.; PEREIRA, A. Sobreviventes do El Niño. **Fapesp Pesquisa**, v. 112, P. 48-51, 2005.

O'SHAUGHNESSY, P. J.; BAKER, P. J.; JOHNSTON, H. Neuroendocrine regulation of leydig cell development. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1061, p.109-119, 2005.

PAEZ , E. M. L. Growth and Reproductive Patterns in the South American Fur Seal. **Journal of Mammalogy**, v. 76, n. 4, p. 1249-1255, 1995.

PALAZZO, JR.J.T.; BOTH, M.C. **Guia dos Mamíferos Marinhos**, Ed. Sagra, Porto Alegre - RS, p.. 11-15 e 109-126, 1988.

PARKER, G. A. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society** ,v. 45, p. 525–567, 1970.

PATEL, G. K.; WILSON, C. H.; HARDING, K. G.; FINLAY, A. Y.; BOWDEN, P. E. Numerous keratinocyte subtypes involved in wound re-epithelialization.. **The Journal of investigative dermatology**, v. 126, n. 2, p. 497-502, 2006.

PHILLIPS, A. V. Behavior cues used in reunions between mother an pup south american fur seals ( *Arctocephalus australis*). **Journal of Mammalogy**, v. 84, n. 2, p. 524-535, 2003.

PHILLIPS, A. V.; STIRLING, I. Vocal repertore of south american fur seal( *Arctocephalus australis*) : structure, function and context . **Canadian Journal Of Zoology**, v. 79, n. 3, p. 420-437, 2001.

PHILLIPS, A. V. STIRLING, I. Vocal individuality in mother and pup south american fur seal ( *Arctocephalus australis*). **Marine Mammal Science**, v. 16, n. 3, p. 592-616, 2000.

PINEDO, M. C.; ROSAS, F. C. W.; MARMONTEL, M. **Cetáceos e pinípedes do Brasil, uma revisão dos registros e guia para identificação das espécies**, Manaus UNEP/FUA, 1992. p.1-7; 158-183.

POOGIRD, W.; WOOD, A. K. Radiologic study of the canine urethra. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 12, p. 2491-2497, 1986.

QIN, D. N.; LUNG, M. A. Studies on relationship between testicular capsule and sperm transport in rat testis. **Asian Journal of Andrology**. v. 2, n. 3, p.191-198, 2000.

REY, R. Anti-Mullerian hormone in disorders of sex determination and differentiation. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 49, n. 1, p. 26-36, 2006.

RIGWAY, S. H.; HARRISON, R. J.F. R. S. **Hand book of marine mammals**, São Francisco; New York: Academic Press, 1993. vol. 1, p. 161- 208.

ROMANO, L. A. **Bioindicadores de contaminación acuática en peces**. **Revista AquaTIC**, n. 7, 1999. Disponível em: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=67> Acesso em: 03 abr. 2006

ROMMEL, S. A.; PABST, D. A.; MCLELLAN, W. A. Functional morphology of venous structures associated with the male and female reproductive systems in Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*). **The Anatomical record**, v. 264, n. 4, p. 339-347, 2001.

ROSELLI, C. E.; RESKO, J. A. Aromatase activity in the rat brain: hormonal regulation and sex differences. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 44, n. 4-6, p.499-508, 1993.

SANTOS, M. C. O. **Projeto atlantis educação & ciência**. Studying and protecting marine mammals in Brazil, Instituto de Biologia –IB- Universidade de São Paulo, 2003. Disponível em :< [www.projectaware.org/americas/english/grants/fund-2005.asp](http://www.projectaware.org/americas/english/grants/fund-2005.asp) - 25k>, acessado em: 01 abr. 2006.

SCHALLER, C. G. M.; RABEL, R. E.; SACK, W. O.; SIMOENS, P.; VOS, N. R. **Nomenclatura anatômica ilustrada**, Manole: São Paulo, 1999. p. 302.

SCHAMBONY, A.; GENTZEL, M.; WOLFES, H.; RAID, M.; NEUMANN, U.; TOPFER-PETERSEN, E. Equine CRISP-3: primary structure and expression in the male genital tract. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1387, n. 1-2, p. 206-216, 1998.

SCHEFER, V. B. , **Seals, sea lions and walruses a review of the pinnipedia**-California: Stanford, 1969. p. 3-150.

SCHILLER, D. M. M. M., **Idade e Desenvolvimento Craniano do Lobo-Marinheiro-Sul ( *Arctocephalus australis* ) ZIMMERMANN, 1783 (carnívora: otariidae), no Litoral do Rio Grande do Sul, Brasil**, 2000. p.1-7Dissertação (Mestrado), Fundação Universidade do Rio Grande - RS.

SHAFIK, A. Response of the urethral and intracorporeal pressures to cavernosus muscle stimulation: role of the muscles in erection and ejaculation. **The Journal of Urology**, v. 46, n.1, p. 85-88, 1995.

SHAFIK, A.; SHAFIK, A. A.; SHAFIK I.; EL-SIBAI, O. Urethral sphincters response to cavernosus muscles stimulation with identification of cavernoso-urethral reflex.

**Archives of Andrology**, v. 51, n. 5, p. 335-343, 2005.

SINGH, U. B.; BHARADWAJ, M. B. Histological and histochemical studies on the testis of camel (*Camelus dromedarius*) during the various seasons and ages. Part II.

**Acta Anatomica**, v. 101, n. 3, p. 280-288, 1978.

SIRIVAIDYAPONG, S.; URSEM, P.; BEVERS, M. M.; COLENBRANDER, B. Effect of prostatic fluid on motility, viability and acrosome integrity of chilled and frozen-thawed dog spermatozoa. **Journal of reproduction and fertility**. Supplement, v. 57, p. 383-386, 2001.

SIITERI, P. K. Review of studies on estrogen biosynthesis in the human. **Cancer Research**, v. 42, n. 8, p.3269s-3273s, 1982

SMILEY, A. K.; KLINGENBERG, J. M.; BOYCE, S. T.; SUPP, D. M. Keratin expression in cultured skin substitutes suggests that the hyperproliferative phenotype observed in vitro is normalized after grafting. **Burns : journal of the International Society for Burn**, v. 32, n. 2, p. 135-138, 2006.

SOSNIK, H. Studies on the participation of tunica albuginea and rete testis (TA and RT) in the quantitative structure of human testis. **Gegenbaurs morphologisches Jahrbuch**, v.131, n. 3, p. 347-356, 1985.

SETCHELL, B. P.; MADDOCKS, S.; BROOKS, D. E. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. In: **The physiology of reproduction**, v. 1, KNOOBIL, E.; NEILL, J. D. 2 ed. New York: Raven Press, 1994, p. 1063-1175.

STEFANOV, M. Extraglandular and intraglandular vascularization of canine prostate. **Microscopy Research and Technique**, v. 63, n. 4, p. 188 -197, 2004.

STEPHEN E. G. , ROGER V. S., MARILYN B. R. Sexual differentiation in three unconventional mammals: Spotted hyenas, elephants and tammar wallabies.

**Hormones and Behavior**, v. 48, n.4, p. 403-417, 2005.

STOCKLEY, P. Sperm competition in mammals. **Human Fertility**, v. 7, n. 2, p. 91-97, 2004.

STOLZENBURG, J. U.; SCHWALENBERG, T.; DO, M.; DORSCHNER, W.; SALOMON, F. V.; JURINA, K.; NEUHAUS, J. Is the male dog comparable to human? A histological study of the muscle systems of the lower urinary tract.

**Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 31, n. 4, p. 198-205, 2002.

STONE, B. A. Thermal characteristics of the testis and epididymis of the boar. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 63, n. 2, p. 551-557, 1981.

TANYEL, F. C.; ERDEM, S.; ALTUNAY, H.; ERGUN, L.; OZCAN, Z.; ALABAY, B.; BUYUKPAMUKCU, N.; TAN, E. Distribution and morphometry of fiber types in cremaster muscles of boys with inguinal hernia or undescended testis. **Pathology, Research and Practice**, v.196, n. 9, p. 613-617, 2000.

TIMM, K. I.; WATROUS, B. J. Urethral recess in two male llamas. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 7, p. 937-938, 1988.

TORRES, N. D. Presence of the Southern fur seal (*Arctocephalus australis*) in Northern Chile as a Consequence of El Nino 1982-1983. **Investigaciones Pesqueras**, n. 32, p. 225-233, 1985.

TRILLMICH, F.; MAJLUF, P. First Observations on Colony Structure, Behavior and Vocal Repertoire of the South American Fur Seal (*Arctocephalus australis* Zimmerman, 1783) in Peru. **Zeitschrift für Säugetierkunde**, v. 46, n. 5, p. 310-322, 1981.

TRITES, A. W. Thermal Budgets and Climate Spaces: The Impact of Weather on the Survival of Galapagos (*Arctocephalus galapagoensis* Heller) and Northern Fur Seal Pups (*Callorhinus ursinus* L.). **Functional Ecology**, v. 4, n. 6, p. 753-768, 1990.

TURNER, T. T.; CAPLIS, L. A.; BROWN, K. J. Vascular anatomy of experimentally induced left varicocele in the rat. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 46, n. 2, p. 206-210, 1996.

TURNER, T. T.; CAPLIS, L.; MILLER, D. W. Testicular microvascular blood flow: alteration after Leydig cell eradication and ischemia but not experimental varicocele. **Journal of Andrology**, v. 17, n. 3, p.239-248, 1996.

URUGUAY. Decreto 238/998- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Adóptanse las medidas pertinentes para reducir la mortalidad incidental y caza ilegal de pinnípedos y cetáceos. Montevideo, 2 de setembro de 1998. Disponível em: <http://www.inape.gub.uy/Resoluciones/Ley%201620211.htm> Acesso em : 01/04/2006.

VANHA-PERTTULA, T.; RONKKO, S.; LAHTINEN, R. Hydrolases from bovine seminal vesicle, prostate and Cowper's gland. **Andrologia**, v. 22 Suppl n. 1, p. 10-24, 1990.

VAZ-FERREIRA, R.; PONCE DE LEON, A. Survey on *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783) in Uruguay. **Contribucion departamento oceanográfico universidad republica**, v. 1, n. 18, p.18, 1984.

VAZ-FERREIRA, R. *Arctocephalus australis* (Zimmermann) South American Fur Seal. **Fao Scientific Consultation On Marine Mammals**, v. 49, p. 13, 1976.

VILLERS, A.; TERRIS, M. K.; MCNEAL, J. E.; STAMEY, T. A. Ultrasound anatomy of the prostate: the normal gland and anatomical variations. **The Journal of Urology**, v. 143, n. 4, p. 732-738, 1990.

VON-IHERING, R. **Dicionário dos animais do Brasil**, São Paulo: Ed. Universidade de Brasília, 1968, p. 416-417.

WEBER, J. A.; GEARY, R. T.; WOODS, G. L. Changes in accessory sex glands of stallions after sexual preparation and ejaculation. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 7, p. 1084-1089, 1990.

WENSING, C. J.; COLENBRANDER, B. Normal and abnormal testicular descent. **Oxford reviews of reproductive biology**, v. 8, p. 130-164, 1986.

WHITE, F. N.; ODELL, D. K. *Arctocephalus australis* avoids thermal overloading, while on land, by seeking shade or periodically submersing in water (Vas-Ferreira and Palerm, 1961). **Journal of Mammalogy**, v. 52, n. 4, p. 758 - 774, 1971.

WILLIAMS-ASHMAN, H. G.; REDDI, A. H. Differentiation of mesenchymal tissues during phallic morphogenesis with emphasis on the os penis: roles of androgens and other regulatory agents. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, p. 6, p. 873-881, 1991.

WILSON, M. J.; SPAZIANI, E. The melanogenic response to testosterone in scrotal epidermis: effects on tyrosinase activity and protein synthesis. **Acta endocrinológica**, v. 81, n. 2, p. 435-448, 1976.

WILSON, M. J.; SPAZIANI, E. Testosterone regulation of pigmentation in scrotal epidermis of the rat. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, v. 140, n. 4, p. 451-458, 1973.

WOODLEY, T. H.; DAVID, M. L. Incidental Capture of Pinnipeds in Commercial Fishing Gear. **IMMA-Technical Report**, p. 91-01, 1991.

XIMENES, M. L.; MALEKY, A.; BATALLÉS, L. M. Consideraciones Generales sobre el aprovechamiento de Lobos Marinos em el Uruguay. **Informative Unesco Science Marine**, v. 47, p. 176-179, 1988.

XU, C.; YAICI, E. D.; CONRATH, M.; BLANCHARD, P.; LECLERC, P.; BENOIT, G.; VERGE, D.; GIULIANO, F. Galanin and neurokinin-1 receptor immunoreactive [corrected] spinal neurons controlling the prostate and the bulbospongiosus muscle identified by transsynaptic labeling in the rat. **Neuroscience**, v. 137, n. 1, p. 363, 2006.

YANG, C. C.; BRADLEY, W. E. Peripheral distribution of the human dorsal nerve of the penis. **The Journal of Urology**, v. 159, n. 6, p.1912-1916, 1998.

YILMAZ, U; YANG, C. C; BERGER, R. E. Dartos reflex: a sympathetically mediated scrotal reflex. **Muscle & Nerve**, v. 33, n. 3, p. 363-368, 2006.