



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO  
AMAZONAS**

**CAMPUS MANAUS ZONA LESTE  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**KAROLINE ARAÚJO VIANA**

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO TESTÍCULO E VESÍCULA SEMINAL DE PEIXE-  
BOI DA AMAZÔNIA (*Trichechus inunguis*)**

**MANAUS - AM**

**2022**

**KAROLINE ARAÚJO VIANA**

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO TESTÍCULO E VESÍCULA SEMINAL DE PEIXE-BOI DA AMAZÔNIA (*Trichechus inunguis*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Manaus Zona Leste, como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Souza Amaral

**MANAUS – AM**

**2022**



**A Catalogação na Publicação (CIP) segue a Descrição Bibliográfica Internacional Normalizada (ISBD)**

V614a

Viana, Karoline Araújo

Avaliação histológica do testículo e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) / Karoline Araújo Viana. 2022

26 f.:est. il.; 30 cm.

Inclui CD-ROM

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC - Graduação – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – Campus Manaus Zona Leste, Curso de Medicina Veterinária, 2022.

Orientador: Prof. Rodrigo de Souza Amaral.

1. Reprodução 2. Histologia 3. Sirênios I. Amaral, Rodrigo de Souza. II. Título.

CDD – 636.082

**Elaborada por Valéria Ribeiro de Lima – CRB 11/960**

KAROLINE ARAÚJO VIANA

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO TESTÍCULO E VESÍCULA SEMINAL DE PEIXE-BOI DA AMAZÔNIA (*Trichechus inunguis*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Manaus Zona Leste, como requisito para obtenção do Título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Souza Amaral

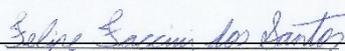
Aprovado em 14 de janeiro de 2022.

**BANCA EXAMINADORA**



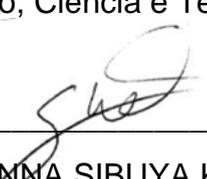
Prof. Dr. RODRIGO DE SOUZA AMARAL (Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)



Prof. Dr. FELIPE FACCHINI DOS SANTOS

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM)



M.V. HANNA SIBUYA KOKUBUN

Centro de Reabilitação de Animais Silvestres – Universidade do Vale do Paraíba (Univap)

MANAUS - AM

2022

## **AGRADECIMENTOS**

À minha irmã Rebeca, por ser minha família e por me apoiar sempre em todas as ideias doidas que eu inventava. Eu não tenho palavras para descrever o quanto tu és uma pessoa forte, obrigada pelo apoio incondicional!

À minha namorada, Giulia, pelo apoio e por todas as palavras de conforto e cuidado nesse processo. O amor me fez ver o universo todo como uma coisa só.

Aos meus amigos de curso e irmãos de coração, Vivi e Calleb. Só nós sabemos os obstáculos e dificuldades enfrentadas nesses seis anos, ter vocês ao meu lado foi o que me manteve forte e me fez continuar. Eu amo vocês!

A todos os professores do IFAM que me fizeram ver a medicina veterinária feita com excelência e maestria, que cada um de nós pode fazer a diferença no Amazonas. Especialmente ao professor Rodrigo, obrigada pela orientação constante, pela oportunidade de desenvolver este trabalho de pesquisa e por todas as conversas desde o começo da graduação.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para que eu pudesse ocupar esse lugar hoje, muito obrigada. Sejamos nós a mudança que queremos ver no mundo.

*"Durante toda a minha vida, as novas descobertas sobre a natureza me alegraram como uma criança."*

*(Marie Curie)*

**RESUMO:**

O peixe-boi da Amazônia (*Thichechus inunguis*) pertence à ordem Sirenia e é um mamífero aquático endêmico da bacia Amazônica. Vários estudos sobre a biologia desta espécie foram desenvolvidos, entretanto, os aspectos morfológicos do aparelho reprodutor masculino ainda não foram descritos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi descrever as características histológicas do testículo e da vesícula seminal dessa espécie. Foram utilizadas amostras do aparelho reprodutor de 11 peixes-bois da Amazônia de diferentes classes etárias, previamente fixados em formol 10% e depositados no Laboratório de Mamíferos Aquáticos do INPA. O material foi avaliado morfológicamente, os fragmentos foram processados por técnicas histológicas tradicionais, corados com hematoxilina e eosina e analisados por microscopia óptica. Os cortes foram fotografados e suas estruturas avaliadas quanto à morfologia e morfometria. De maneira geral, a morfologia do aparelho reprodutor do peixe-boi da Amazônia macho apresentou-se similar ao relatado para outras espécies de sirênios. Ademais, foi possível diferenciar os animais sexualmente maduros e imaturos a partir de seus aspectos morfológicos. Os dados obtidos também corroboram a estimativa de idade de maturidade sexual para a espécie. Este é o primeiro relato de avaliação histológica de testículo e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia e, com base nos resultados obtidos, mais estudos devem ser realizados a fim de compreender as variações morfológicas observadas nos indivíduos adultos analisados.

**Palavras-chave:** Reprodução. Histologia. Sirênios.

**ABSTRACT:**

The Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*) belongs to the order Sirenia and it is an endemic aquatic mammal of the Amazon basin. Several studies on the biology of this species have been developed, however, the morphological aspects of the male reproductive system are not described yet. Therefore, the aim of this study was to describe the histological characteristics of the testis and seminal vesicle of this species. Samples from the reproductive system of 11 Amazonian manatees of different age classes were used, previously fixed in 10% formalin and deposited at the Aquatic Mammals Laboratory/INPA. The material was morphologically evaluated, and fragments were processed by traditional histological techniques, stained with hematoxylin and eosin and analyzed by light microscopy. The sections were photographed and its structures evaluated for morphology and morphometry. In general, the morphology of the reproductive system of the male Amazonian manatee was similar to that reported for other sirenian species. Furthermore, it was possible to differentiate sexually mature and immature animals based on their morphological aspects. The data obtained also corroborate the estimated age of sexual maturity for the species. This is the first report of histological evaluation of testicle and seminal vesicle of Amazonian manatee and, based on the results obtained, further studies should be carried out in order to understand the morphological variations observed in the analyzed adult individuals.

**Keywords:** Reproduction. Histology. Sirenians.

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Peixe-boi da Amazônia ( <i>Trichechus inunguis</i> ) .....	11
Figura 2 - Aspecto morfológico do aparelho reprodutor de <i>Trichechus inunguis</i> macho adulto .....	17
Figura 3 - Fotomicrografias do parênquima testicular e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia reprodutivamente imaturo.....	19
Figura 4 - Fotomicrografias do parênquima testicular e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia reprodutivamente maduro .....	20
Tabela 1 - Dimensões dos testículos e vesículas seminais de peixes-bois da Amazônia de acordo com a faixa etária. ....	18
Tabela 2 - Diâmetro dos túbulos seminíferos de peixe-boi da Amazônia de acordo com a idade .....	21

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
2.1 PEIXE-BOI DA AMAZÔNIA .....	11
2.2 MORFOLOGIA REPRODUTIVA DOS SIRÊNIOS MACHOS .....	13
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	15
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	16
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	17
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	23
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	24

## 1. INTRODUÇÃO

O peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) é um mamífero aquático pertencente a ordem Sirenia, sendo a única espécie da família Trichechidae restrita a água doce. Possui hábito alimentar exclusivamente herbívoro, não-ruminante, de ocorrência em rios e lagos calmos ao longo da bacia Amazônica, incluindo o Peru, a Colômbia, o Equador e o Brasil (BEST, 1984; ROSAS, 1994).

No Brasil, os estudos sobre o peixe-boi da Amazônia tiveram início na década de 1970, e esse talvez esse seja o sirênio bem mais estudado depois do peixe-boi da Flórida (*Trichechus manatus latirostris*) (LAZZARINI; VERGARA-PARENTE; RIBEIRO, 2014).

O peixe-boi da Amazônia é um mamífero aquático que foi historicamente caçado em larga escala e hoje encontra-se ameaçado de extinção, sendo classificado como uma espécie “vulnerável” (IUCN, 2021).

O número de estudos sobre a biologia reprodutiva do peixe-boi da Amazônia tem crescido nas últimas décadas, principalmente nos aspectos reprodutivos das fêmeas. Entretanto, os estudos acerca da morfologia do aparelho reprodutor masculino desse mamífero aquático ainda são inexistentes.

Assim, considerando os riscos de extinção que o peixe-boi da Amazônia sofre, e a importância dos estudos sobre a biologia reprodutiva como auxílio para a conservação, este estudo propõe preencher uma das lacunas existentes no conhecimento sobre os aspectos morfológicos do peixe-boi da Amazônia.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PEIXE-BOI DA AMAZÔNIA

O peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis* Natterer, 1883) é um mamífero aquático de ocorrência exclusiva em água doce (Figura 1). É a menor espécie de sirênio existente e tem distribuição por toda a bacia Amazônica. Ocorre em rios e águas calmas ao longo do Peru, Colômbia, Equador, Bolívia e grande parte da região norte do Brasil (ROSAS, 1994).



**Figura 1.** Peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*).

Fonte: Anselmo D’Affonseca.

O peixe-boi da Amazônia adulto pode chegar a 275cm de comprimento e 420kg de peso vivo (AMARAL; DA SILVA; ROSAS, 2010). Possui coloração que varia de preto a acinzentado e pode ter manchas despigmentadas ou áreas mais claras na região ventral (ROSAS, 1994).

*T. inunguis* possui hábitos alimentares exclusivamente herbívoro, alimentando-se de uma grande variedade de plantas aquáticas e semiaquáticas, especialmente gramíneas. São mamíferos não ruminantes, com fermentação intestinal especializada

que ocorre em um longo ceco disposto na junção dos intestinos delgado e grosso (BEST, 1984).

O ciclo de vida dos peixes-bois é profundamente influenciado pelas cheias e vazantes da bacia Amazônica. Quando o nível das águas sobe, de dezembro a junho, há um aumento na produção de plantas aquáticas em áreas de várzea e igapós, o que leva os animais a essas regiões em busca de alimento. Durante o período de seca, de julho a novembro, os peixes-bois migram para as águas profundas e lagos, onde podem passar o período de seca longe do risco de encalhe (BEST, 1984).

Segundo Best (1982), a variação na produção de plantas aquáticas também parece ter um efeito sincronizador no ciclo reprodutivo dos peixes-bois. Os nascimentos dos filhotes ocorrem entre dezembro e julho, época que coincide com o período de cheia dos rios e maior disponibilidade de alimento. O período de gestação dura cerca de 11 a 12 meses (NASCIMENTO *et al.*, 2002) e a cada gestação nasce um filhote (BEST, 1984).

O peixe-boi da Amazônia foi historicamente explorado e caçado em larga escala desde o século XVI, com sua carne e couro como principais produtos para fins comerciais. A exploração comercial, combinada às baixas taxas reprodutivas, foi responsável por reduzir drasticamente as populações da espécie (ROSAS, 1994).

Atualmente, as principais ameaças à conservação do peixe-boi da Amazônia são a perda de habitat, poluição das águas por resíduos industriais, agrícolas e domésticos, mudanças climáticas, captura acidental por redes de pesca e a caça (BRUM *et al.*, 2021).

## 2.2 MORFOLOGIA REPRODUTIVA DOS SIRÊNIOS MACHOS

Os testículos são órgãos pares pertencentes ao aparelho reprodutor animal, responsáveis pela gametogênese e pela produção dos esteroides reprodutivos, sendo o mais importante nos machos a testosterona. Nos testículos ocorre toda as etapas da espermatogênese, onde os espermatozoides, após serem formados, são transportados dos túbulos seminíferos para o epidídimo para sofrerem maturação e posteriormente serem ejaculados. Já a testosterona, é produzida nas células de Leydig e atua no estímulo da espermatogênese, além de cair na corrente sanguínea para atuar em outras partes do corpo do organismo (HAFEZ, 2004).

Os níveis de testosterona em uma espécie, bem como as células presentes nos túbulos seminíferos, podem variar fisiologicamente de acordo com a idade do animal, indicando maturidade sexual ou senescência reprodutiva, ou com a época do ano, indicando sazonalidade reprodutiva (HAFEZ, 2004).

As glândulas sexuais acessórias nos machos são quatro: próstata, vesícula seminal, glândula bulbouretral e glândula ampular. A presença ou ausência de cada glândula, bem como as dimensões de cada uma variam entre as espécies animais, estando elas relacionadas com os aspectos comportamentais e estratégias reprodutivas de cada espécie. As glândulas sexuais acessórias apresentam a função de dar volume ao ejaculado, fornecer nutrientes aos espermatozoides e facilitar seu transporte dentro do trato reprodutivo feminino (HAFEZ, 2004).

Os sirênios possuem pênis vascular, permanecendo retraído quando não ingurgitado, e apresentam testículos intracavitários, com localização ventrolateral aos rins (PERRIN, WURSIG; THEWISSEN, 2002). No peixe-boi da Flórida (*Trichechus manatus latirostris*) é descrito um sistema de adaptação termovascular dos testículos com a função de evitar hipertermia, devido a localização intracavitária (ROMMEL; PABST; MCLELLAN, 2001).

Em *T. manatus latirostris* foi descrita a presença de vesícula seminal e próstata. As vesículas seminais são estruturas bilaterais, dorsais à vesícula urinária, e a próstata é relatada tanto como uma estrutura única, quanto em forma disseminada. O aparelho reprodutor do peixe-boi da Flórida apresenta semelhanças histológicas e anatômicas ao dugongo (*Dugong dugon*), outra espécie de sirênio (PEREZ, 2015).

No dugongo, é relatada a presença de vesícula seminal (HARRISON, 1969; MARMONTEL; ODELL; REYNOLDS, 1992). Entretanto, não foi descrita a presença de uma estrutura discreta correspondente a próstata, mas o tecido prostático dos dugongos parece ser disseminado nas paredes da uretra pélvica (MARSH; HEINSOHN; GLOVER, 1984). Posteriormente, foi relatada a presença de tecido glandular bulbouretral na base do pênis desta espécie (BERTA; SUMICH; KOVACS, 2015).

Quanto ao peixe-boi da Amazônia, a morfologia reprodutiva dos machos somente foi abordada com a descrição morfológica dos espermatozoides (AMARAL *et al.*, 2010). Dessa forma, dentre os dados morfofisiológicos já descritos sobre *T. inunguis*, majoritariamente a respeito das fêmeas da espécie, os estudos acerca da morfologia do aparelho reprodutor masculino ainda são inexistentes.

### 3. OBJETIVOS

i. Analisar os aspectos morfológicos e morfométricos dos testículos e vesícula seminal do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*).

ii. Avaliar os aspectos histológicos dos testículos e vesícula seminal do peixe-boi da Amazônia (*T. inunguis*).

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras coletadas de 11 peixes-bois da Amazônia de diferentes classes etárias. O material encontrava-se previamente fixado em formol 10% e depositados na Coleção Úmida do Laboratório de Mamíferos Aquáticos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – LMA/INPA. Alguns dos exemplares tinham todo o aparelho reprodutor fixado, dessa forma, fez-se necessário que o material fosse dissecado para identificação dos testículos e vesículas seminais. Nestes exemplares, as dimensões dos órgãos foram obtidas com o auxílio de um paquímetro.

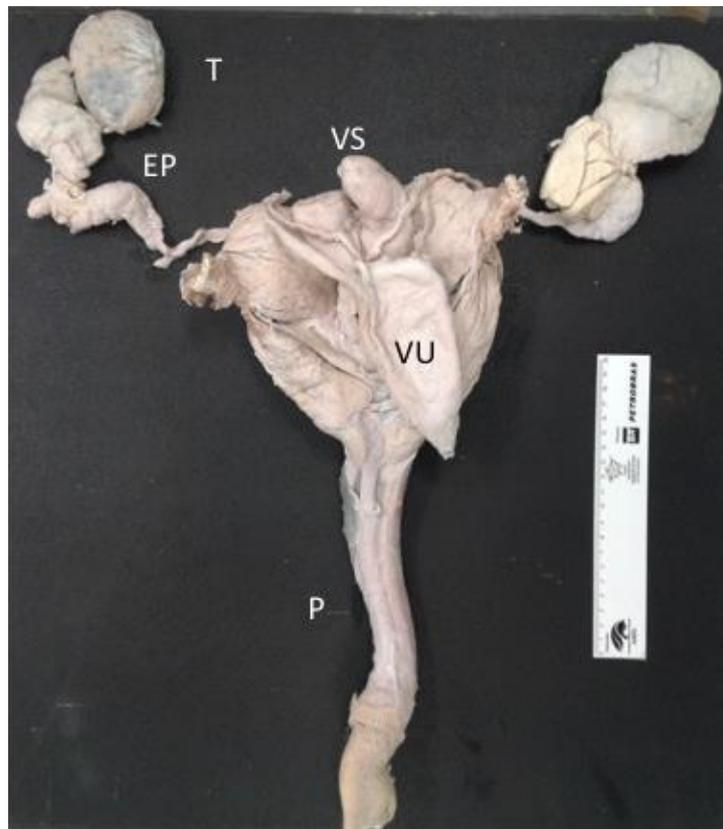
Os fragmentos de testículos e vesículas seminais foram processados por técnicas histológicas tradicionais. As amostras foram lavadas em água corrente e depois desidratadas em uma bateria crescente de álcool (70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 100%, 100%), posteriormente, diafanizado em duas etapas de xilol (xilol I, xilol II). As amostras processadas foram incluídas em parafina, emblocadas e foram realizados cortes de 5µm de espessura para a montagem das lâminas.

As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina e analisadas em microscópio óptico Opticom®. O tecido foi fotografado e suas estruturas foram avaliadas quanto a morfologia e morfometria no software ImageJ®.

Os indivíduos foram classificados como reprodutivamente imaturos ou reprodutivamente maduros de acordo com a dimensão dos órgãos e o desenvolvimento do epitélio dos túbulos seminíferos. Após isso, as estruturas morfológicas foram descritivamente comparadas entre os grupos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Anatomicamente, o aparelho reprodutor dos animais avaliados apresentou testículos de forma ovoide, achatada, com epidídimo longo. Das glândulas sexuais acessórias macroscopicamente visíveis, somente a vesícula seminal foi observada, sendo um órgão bilobular localizado dorsalmente à vesícula urinária (Figura 2). As observações macroscópicas foram semelhantes ao observado em *T. manatus* (PEREZ, 2015) e *D. dugon* (MARSH; HEINSOHN; GLOVER, 1984).



**Figura 2.** Aspecto morfológico do aparelho reprodutor de *Trichechus inunguis* macho adulto.

T: testículo; EP: epidídimo; VS: vesícula seminal; VU: vesícula urinária; P: pênis.

Nove indivíduos, com idade entre um a cinco anos e 75 a 171 cm de comprimento total, apresentaram testículos com dimensões médias de  $25,5 \pm 5,4$  mm ( $19,0$ - $35,0$  mm) de comprimento,  $15,0 \pm 4,9$  mm ( $9,0$ - $26$  mm) de largura, e  $7,4 \pm 1,2$  mm ( $6,0$ - $11,0$  mm) de espessura, e vesículas seminais com lobos de dimensões médias de  $24 \pm 9,5$  mm ( $15$ - $36$  mm) de comprimento,  $4,6 \pm 0,5$  mm ( $4,0$ - $6,0$  mm) de largura, e  $3,2 \pm 0,4$  mm ( $3,0$ - $4,0$  mm) de espessura (Tabela 1).

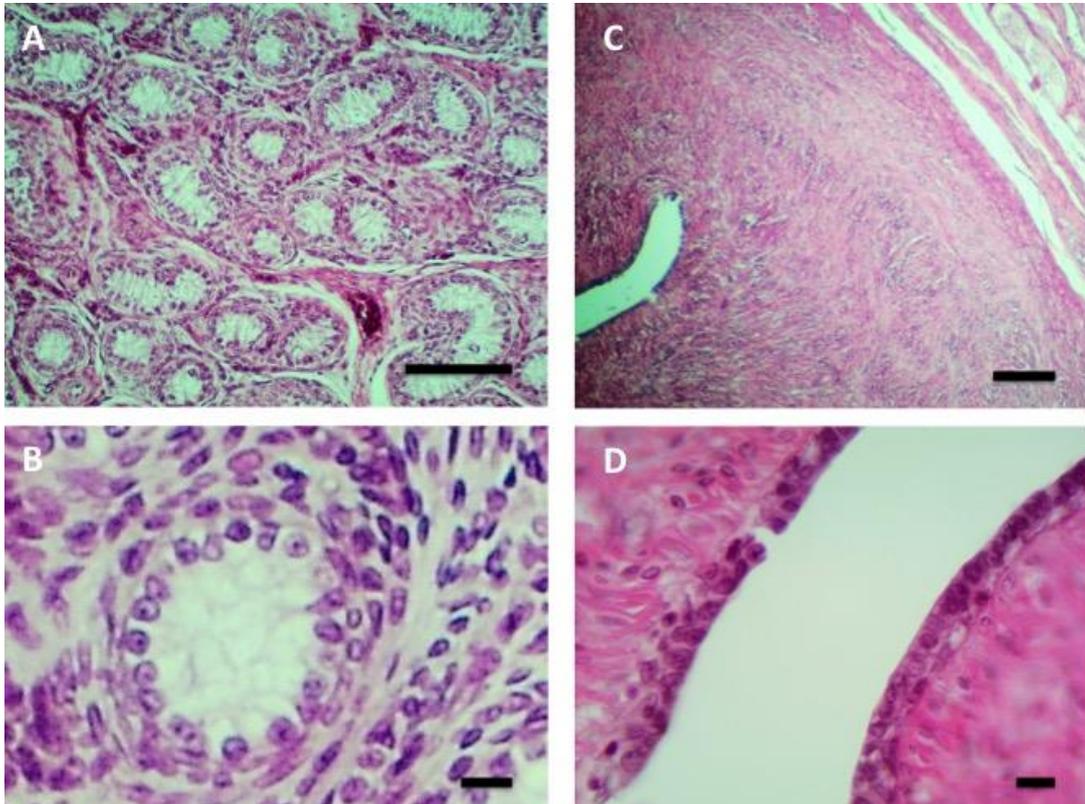
**Tabela 1.** Dimensões dos testículos e vesículas seminais de peixes-bois da Amazônia de acordo com a faixa etária.

<b>Idade (anos)</b>	<b>Dimensão dos testículos</b>	<b>Vesícula seminal</b>
1-5	25,5±5,4mm (comprimento)	24±9,5mm (comprimento)
	15,0±4,9mm (largura)	4,6±0,5mm (largura)
	7,4±1,2mm (espessura)	3,2±0,4mm (espessura)
21	77 e 79mm (comprimento)	94mm (comprimento)
	56 e 51mm (largura)	31mm (largura)
	27 e 26mm (espessura)	23mm (espessura)
>10	71 e 69mm (comprimento)	64mm (comprimento)
	47 e 51mm (largura)	22mm (largura)
	14mm (espessura)	18mm (espessura)

Histologicamente, estes nove indivíduos apresentaram túbulos seminíferos com poucas espermatogônias dispostas na periferia, sem lúmen aparente e sem espermatogênese ativa (Figura 3A-B). O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi de  $41,10 \pm 10,88 \mu\text{m}$  (variando de  $29,98 \pm 3,07 \mu\text{m}$  a  $50,39 \pm 4,66 \mu\text{m}$ ) (Tabela 2). A vesícula seminal era constituída pelas camadas mucosa, musculatura lisa, diferenciando-se em músculo transversal e circular e uma túnica adventícia rica em fibras elásticas e apresentava um epitélio secretor do tipo cúbico simples (Figura 3C-D). Os aspectos morfológicos observados indicam que estes eram animais reprodutivamente imaturos.

O diâmetro dos túbulos seminíferos dos animais caracterizados como imaturos foi próximo ao observado em outras espécies de sirênios, como o *T. manatus* (26 a  $64 \mu\text{m}$ ; BEZERRA *et al.*, 2018; HERNANDEZ *et al.*, 1995) e o *D. dugon* (36 a  $66 \mu\text{m}$ ; MARSH; HEINSOHN; GLOVER, 1984). Os dados obtidos também corroboram Amaral

*et al.* (2018), que verificaram a maturidade sexual dos machos de *T. inunguis* em média aos seis anos de idade, de acordo com os níveis de esteroides reprodutivos séricos de animais mantidos em cativeiro.



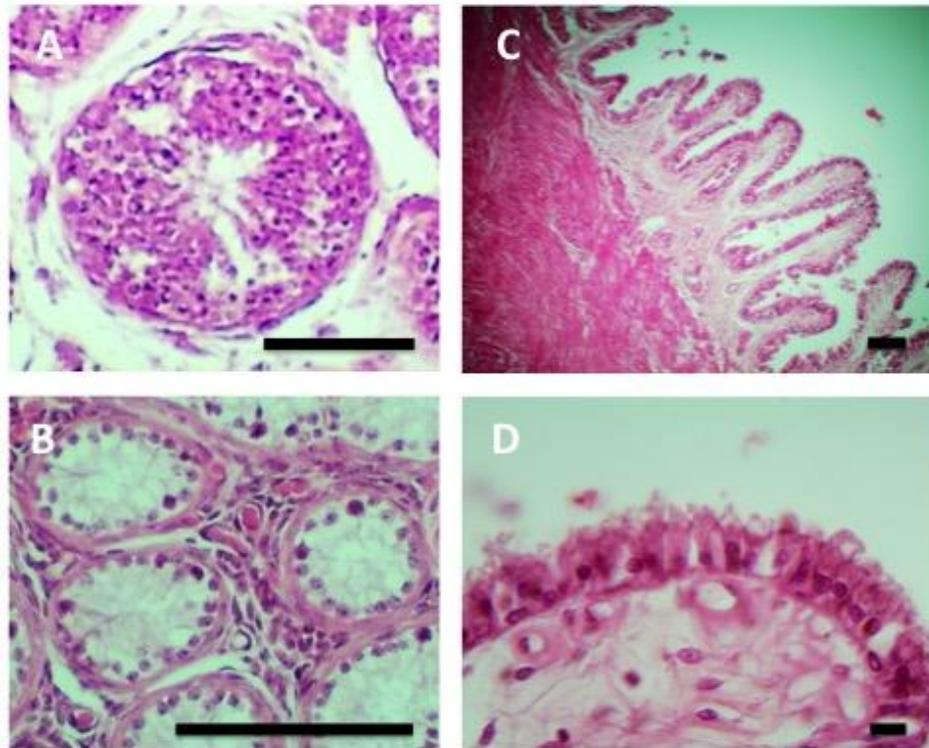
**Figura 3.** Fotomicrografias do parênquima testicular e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia reprodutivamente imaturo.

A – Parênquima testicular. B – Túbulo seminífero sem espermatogênese ativa. C – Parênquima muscular da vesícula seminal. D – Endotélio do tipo cúbico simples da vesícula seminal. Barras: A, C: 100 $\mu$ m; B, D: 10 $\mu$ m.

Um indivíduo (PB6; 21 anos de idade; 220cm de comprimento) apresentou testículos com as dimensões de 77 e 79mm de comprimento, 56 e 51mm de largura, e 27 e 26mm de espessura, e os lobos da vesícula seminal apresentaram 94mm de comprimento, 31mm de largura e 23mm de espessura (Tabela 1). Histologicamente, os testículos apresentaram espermatogênese ativa, com a observação de espermatogônias, espermatócitos I e II, espermátides, além de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos (Figura 4A), com diâmetro médio dos túbulos de  $173,63 \pm 23,73 \mu\text{m}$  (Tabela 2), achados que indicam a maturidade reprodutiva deste indivíduo.

Neste indivíduo maduro com espermatogênese completa, o diâmetro médio dos túbulos foi próximo ao relatado para *T. manatus* (71 a 195 $\mu$ m; BEZERRA *et al.*, 2018; HERNANDEZ *et al.*, 1995) e *D. dugon* (68 a 195 $\mu$ m; MARSH; HEINSOHN; GLOVER, 1984).

A vesícula seminal do indivíduo maduro reprodutivamente (PB6) apresentou modificação no epitélio secretor quando comparado aos animais reprodutivamente imaturos, com a presença de vilosidades na mucosa e células colunares (Figuras 4C-D). Esta morfologia corrobora a já descrita para peixe-boi da Flórida (*T. manatus latirostris*) (PEREZ, 2015).



**Figura 4.** Fotomicrografias do parênquima testicular e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia reprodutivamente maduro.

A – Túbulo seminífero com espermatogênese ativa; indivíduo PB6. B – Túbulo seminífero sem espermatogênese ativa; indivíduo PB13. C – Epitélio secretor desenvolvido da vesícula seminal, com a presença de vilosidades na mucosa. D – Endotélio do tipo colunar da vesícula seminal. Barras: A, B, C: 100 $\mu$ m; D: 10 $\mu$ m.

**Tabela 2.** Diâmetro dos túbulos seminíferos de peixe-boi da Amazônia de acordo com a idade.

<b>Animal</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Tamanho (cm)</b>	<b>Média±DP (µm)</b>	<b>Maturidade reprodutiva</b>
PB1	5	149	31,08µm±4,40	Imaturo
PB3	1	89	30,86µm±5,63	Imaturo
PB6	21	220	173,63µm±23,73	Maduro
PB8	2	125	36,21µm±4,12	Imaturo
PB9	1	106	38,61µm±4,07	Imaturo
PB10	2	117	29,97µm±3,07	Imaturo
PB12	1	131,5	46,04µm±5,25	Imaturo
PB13	>10	190	57,27µm±7,83	-
PB14	1	104	32,78µm±4,17	Imaturo
PB16	4	160	43,77µm±4,77	Imaturo
PB19	1	96	50,38µm±4,66	Imaturo

As dimensões da vesícula seminal observadas sugerem uma grande contribuição desta glândula no volume do ejaculado. Em sirênios, o volume do ejaculado somente foi descrito para *T. manatus latirostris*, o qual apresenta um volume aproximado de 37mL sob estimulação manual (COWART *et al.*, 2020). Considerando as similaridades morfológicas do aparelho reprodutor observadas no presente estudo, é possível sugerir que o peixe-boi da Amazônia também apresente um volume de ejaculado próximo a este relatado. Os sirênios apresentam uma estratégia reprodutiva do tipo promíscua, sugerindo que haja uma competição espermática durante a época reprodutiva (REYNOLDS; ROMMEL; PITCHFORD, 2004). Desta forma, o volume do ejaculado é importante para facilitar o processo de deslocamento dos espermatozoides pelo trato reprodutivo feminino.

Por outro lado, o indivíduo PB13 com idade desconhecida (acima de 10 anos de idade) e 190 cm de comprimento total, possuía testículos com as dimensões de 71 e 69mm de comprimento, 47 e 51mm de largura e 14mm de espessura, e os lobos da vesícula seminal apresentaram 64mm de comprimento, 22mm de largura e 18mm de espessura (Tabela 1). Entretanto, diferente do indivíduo PB6, na avaliação histológica os túbulos seminíferos apresentaram diâmetro médio de 57,28±7,83µm (Tabela 2), espermátogônias dispostas na periferia dos túbulos, porém sem presença de demais

células espermatogênicas (Figura 4B). A vesícula seminal também apresentou vilosidades epiteliais com células colunares na análise histológica, semelhante ao indivíduo classificado como maduro reprodutivamente. Portanto, considerando as observações morfológicas, com dimensões próximas às do indivíduo sexualmente maduro, porém com ausência de espermatogênese ativa, uma das sugestões é que este indivíduo poderia apresentar testículos regredidos devido a sazonalidade reprodutiva.

Em sirênios, a modificação celular dos túbulos seminíferos em decorrência da sazonalidade reprodutiva já foi relatada em *T. manatus latirostris* e em *D. dugon* (MARSH; HEINSOHN; GLOVER, 1984; HERNANDEZ *et al.*, 1995; COWART, 2019). Segundo estes autores, durante a época não-reprodutiva os testículos destas espécies sofrem uma grande redução no diâmetro dos túbulos seminíferos e inexistência de outras células espermatogênicas, além das espermatogônias. Estes relatos corroboram os achados histológicos observados no indivíduo PB13. A sazonalidade reprodutiva já foi relatada em fêmeas de peixe-boi da Amazônia tanto em animais de vida-livre quanto animais em cativeiro (BEST, 1982; AMARAL *et al.*, 2015), com atividade reprodutiva correspondendo às estações de enchente e cheia dos rios da Amazônia (dezembro a julho).

O indivíduo PB6 veio a óbito no mês de dezembro, que seria o início da época reprodutiva, e apresentava grande diâmetro dos túbulos seminíferos e atividade espermatogênica. Já o indivíduo PB13 veio a óbito em junho, correspondente ao final da época reprodutiva, corroborando a regressão testicular.

Adicionalmente, apesar de trabalhos realizados previamente não terem confirmado a existência de sazonalidade reprodutiva em machos (PIMENTEL, 1998; AMARAL *et al.*, 2015), faz-se necessário a avaliação de um maior número de indivíduos, principalmente em idade reprodutiva, a fim de confirmar a hipótese levantada e avaliar a estimativa de maturidade reprodutiva.

## **6. CONCLUSÃO**

Com base nos dados obtidos neste trabalho, é possível constatar que a morfologia do aparelho reprodutor do peixe-boi da Amazônia macho é semelhante ao relatado nas demais espécies de sirênios. Também foi possível demonstrar a caracterização de maturidade sexual nesta espécie a partir dos aspectos morfológicos do aparelho reprodutor masculino.

Este é o primeiro trabalho descrevendo os aspectos histológicos do testículo e vesícula seminal de peixe-boi da Amazônia. Novos estudos devem ser realizados a fim de avaliar um maior número de indivíduos, principalmente em idade reprodutiva. Dessa forma, seria possível verificar por meio dos aspectos histológicos do aparelho reprodutor a existência de variação sazonal no parênquima testicular e vesícula seminal da espécie.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, R. S.; DA SILVA, V. M. F.; LAZZARINI, S. M.; D'AFFONSECA NETO, J.A.; RIBEIRO, D.; ROSAS, F. C. W. Assessment of sexual maturity in captive Amazonian manatees (*Trichechus inunguis*). **Marine Mammal Science**, v. 34, n. 1. 2018.

AMARAL, R. S.; DA SILVA, V. M. F.; ROSAS, F. C. W. Body weight/length relationship and mass estimation using morphometric measurements in Amazonian manatees *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). **Marine Biodiversity Records**, v. 3, n. 105. 2010.

AMARAL, R. S.; LUCCI, C. M.; ROSAS, F. C. W.; DA SILVA, V. M. F.; BÃO, S. N. Morphology, morphometry and ultrastructure of the Amazonian manatee (Sirenia: Trichechidae) spermatozoa. **Zoologia (Curitiba, Impresso)**, v. 27, n. 6. 2010.

AMARAL, R. S.; ROSAS, F. C. W.; DA SILVA, V. M. F.; GRAHAM, L. H.; VIAU, P.; NICHI, M.; OLIVEIRA, C. A. Seasonal variation in urinary and salivary reproductive hormone levels in Amazonian manatees (*Trichechus inunguis*). **Reproduction, Fertility and Development**, v. 27, n. 7. 2015.

BERTA, A.; SUMICH, J. L.; KOVACS, K. M. **Marine mammals: evolutionary biology** (3 ed.). Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2015.

BEST, R. C. Seasonal breeding in the Amazonian manatee, *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). **Biotropica**, v. 14, n. 1. 1982.

BEST, R. C. The aquatic mammals and reptiles of the Amazon. In: SIOLI, H (Org.). **The amazon, limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin**. Dordrecht: Dr. W Junk Publishers, 1984.

BEZERRA, A. R.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B.; BERSANO, P. R. O.; CARVALHO, V. L.; MEIRELLES, A. C. O.; ATTADEMO, F. L. N.; LUNA, F. O.; SILVA, L. D. M. Histological characterization of reproductive tract and fetal annexes of the West Indian Manatee (*Trichechus manatus*) from Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 11. 2018.

BRUM, S.; ROSAS-RIBEIRO, P.; AMARAL, R. S.; DE SOUZA, D. A.; CASTELLO, L.; DA SILVA, V. M. F. Conservation of Amazonian aquatic mammals. **Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems**, v. 31, n. 3. 2021.

COWART, J. R. **Gonadal function, semen characterization, and morphometry of the spermatozoa in the florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*)**. 148 f. Dissertation (Doctor of Philosophy) - University of Florida, Gainesville, 2019.

COWART, J. R.; COLLINS, D. M.; MIGNUCCI-GIANNONI, A. A.; ALEJANDRO-ZAYAS, T.; RIVERA-GUZMAN, A. L.; LARKIN, I. V. Manual Collection and Semen Characterization in a West Indian Manatee (*Trichechus manatus*). **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 569993. 2020.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7a Ed. São Paulo, SP: Manole, 2004.

HARRISON, R. J. Reproduction and Reproductive Organs. In: ANDERSON, H. T. **The biology of Marine Mammals**. New York: Academic Press, 1969.

HERNANDEZ, P.; REYNOLDS, J. E., III; MARSH, H.; MARMONTEL, M. Age and seasonality in spermatogenesis of Florida manatees. In: O' SHEA, T. J.; ACKERMAN, B. B.; PERCIVAL, H. F. **Population biology of the Florida manatee**. 1. ed. Gainesville: National Biological Service Information and Technology Report 1, 1995.

IUCN. **IUCN Red List of Threatened Species**. Gland: The World Conservation Union, 2021. Disponível em: < <http://www.iucn.org> >. Acesso em: 15 dez. 2021.

LAZZARINI, S. M.; VERGARA-PARENTE, J. E.; RIBEIRO, D. C. Sirenia (Peixe-boi-da-Amazônia e Peixe-boi-marinho). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L (Org.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2014.

MARMONTEL, M.; ODELL, D. K.; REYNOLDS, J. E., III. Reproductive Biology of South American Manatees. In: HAMLETT, W. C. (Ed.), **Reproductive Biology of South American Vertebrates**. New York: Springer, 1992.

MARSH, H.; HEINSOHN, G. E.; GLOVER, T. D. Changes in the male reproductive organs of the dugong, *Dugong dugon* (Sirenia: Dugondidae) with age and reproductive activity. **Australian Journal of Zoology**, v. 32, n. 6. 1984.

NASCIMENTO, C. C.; OLIVEIRA, C. A.; DA SILVA, V. M. F.; D’AFFONSECA NETO, J. A. **Estimativa do período de gestação em fêmeas de peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*), mantidas em cativeiro, com base nos níveis plasmáticos de progesterona.** In: Reunión de Trabajo de Especialistas en Mamíferos Acuáticos de América del Sur, 10; Congresso SOLAMAC, 10. Libro de Resúmenes... Valdivia: Sociedad Latinoamericana de Especialistas en Mamíferos Acuáticos – SOLAMAC. 2002.

PEREZ, H. I. C. **Reproductive anatomy and histology of the male florida manatee (*Trichechus manatus latirostis*).** Thesis (Master of Science) - University of Florida, Gainesville, 2015.

PERRIN, W.F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. **Encyclopedia of Marine Mammals.** England: Academic Press. An Imprint of Elsevier, 2002.

PIMENTEL, G. P. **Determinação da testosterona presente nas fezes do peixe-boi da Amazônia *Trichechus inunguis* (Sirenia: Trichechidae), utilizando a técnica de radioimunoensaio.** Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) - Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1998.

REYNOLDS, J. E., III; ROMMEL, S. A.; PITCHFORD, M. E. The likelihood of sperm competition in manatees - Explaining an apparent paradox. **Marine Mammal Science**, v. 20, n. 3. 2004.

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. 2001.

ROSAS, F. C. W. Biology, conservation and status of the Amazonian manatee *Trichechus inunguis*. **Mammal Review**, v. 24, n. 2. 1994.