UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA CLOACA E DO FALO DOS GÊNEROS *Crocodylus, Paleosuchus, Caiman* **E** *Melanosuchus* **(CROCODYLIA) COM IMPLICAÇÕES EVOLUTIVAS**

Gustavo Leite Gonçalves

Belo Horizonte

2019

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA CLOACA E DO FALO DOS GÊNEROS *Crocodylus, Paleosuchus, Caiman* **E** *Melanosuchus* **(CROCODYLIA) COM IMPLICAÇÕES EVOLUTIVAS**

Gustavo Leite Gonçalves

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para a obtenção do título de doutor em Zoologia

Área de concentração: Zoologia Sistemática

Orientador: Dr. Germán Arturo Bohórquez Mahecha

Belo Horizonte
2019

ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Gustavo Leite Gonçalves

Ao vigésimo dia do mês de março do ano de dois mil e dezenove, às quatorze horas, na Sala 407 do Centro de Atividades Didáticas I (CAD1) da Universidade Federal de Minas Gerais, teve lugar a defesa de Doutorado da Pós-Graduação em Zoologia, de autoria do Doutorando Gustavo Leite Gonçalves intitulada: **"Aspectos morfológicos da cloaca e do falo dos gêneros *Crocodylus*, *Paleosuchus*, *Caiman* e *Melanosuchus* (Crocodylia) com implicações evolutivas"**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Dr. German Arturo Bohorquez Mahecha, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para o candidato para apresentação de seu trabalho.

Esteve presente a Banca Examinadora composta pelos membros: Daniel Ambrózio da Rocha Vilela, Laércio dos Anjos Benjamin, Mario Alberto Cozzuol, Samyra Maria dos Santos Nassif Lacerda, e demais convidados. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato.

Após a argüição, apenas os Srs. Examinadores permaneceram na sala para avaliação e deliberação acerca do resultado final, a saber: o trabalho foi:

- [x] Aprovado sem alterações
- [ ] Aprovado com alterações (observações em anexo)
- [ ] Reprovado

Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Comisão encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 20 de março de 2019.

Comissão Examinadora	Assinatura
Prof. Dr. Daniel Ambrózio da Rocha Vilela	
Prof. Dr. German Arturo Bohorquez Mahecha (orientador)	
Prof. Dr. Laércio dos Anjos Benjamin	
Prof. Dr. Mario Alberto Cozzuol	
Profa. Dra. Samyra Maria dos Santos Nassif Lacerda	

`A Lilian, Isabela e Clara com amor e gratidão por compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer ao Dr. Germán Arturo Bohórquez Mahecha, por ter me orientado no decorrer do presente estudo. Mesmo reconhecendo o grande desafio, apostou suas fichas e possibilitou que eu conseguisse um "indulto" acadêmico do então quartel em BQ... Obrigado, Germán, pela tranquilidade, apoio e por dividir comigo seu imenso conhecimento, não apenas zoológicos, mas sobre os mais variados assuntos, das experiências na Colômbia aos dias atuais. Trabalhar com ele durante estes anos foi muito prazeroso e bastante instrutivo.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos aos membros da banca examinadora pelas importantes contribuições a este trabalho.

Sou especialmente grato às instituições que forneceram os materiais biológicos para a realização deste estudo: Mr. Cayman, TAMAR/ICMBio, Laboratório da Vida Selvagem e Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres da Universidade Federal de Uberlândia, Museu de Ciências Naturais da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais e Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios.

Ao IBAMA que emitiu licenças para a coleta e transporte de material biológico.

Agradeço carinhosamente à minha esposa, Lilian Gomes Afonso, que sempre esteve ao meu lado, pela tranquilidade e apoio incondicional. Não poderia ter escolhido melhor pessoa para dividir a vida comigo. Agradeço às minhas filhas Isabela e Clara por iluminarem minha vida e deixa-lá mais leve. Afinal de contas, "você já acabou?", "vamos brincar?".

Agradeço à minha mãe, Leda, de quem tenho muito orgulho de ser filho. Agradeço aos meus irmãos e tia pelo apoio e por entender as minhas ausências.

Ronaldo e Ana, obrigado pelo apoio principalmente nos momentos mais necessários. O carinho com Clara e Bela foi essencial quando eu estava ausente.

Agradeço à professora Cleida e aos colegas do LABRE, em especial aos colegas Diego e Marcela, pelos conselhos.

Luis Basseti e Luciano Verdade, dois grandes pesquisadores, que contribuíram com importantes informações sobre a biologia dos crocodilianos.

Victor Hugo que realizou uma criteriosa revisão do português desta tese, lhe sou especialmente grato pelas sugestões e pela prontidão em me ajudar.

Myrian Morato Duarte contribuiu com as ilustrações e Maristane Freire Jardim de Paula contribuiu com o suporte técnico e preparação das lâminas.

Também gostaria de agradecer aos companheiros do CMBH pelo apoio e, em especial, aos alunos do 8 Ano – 2018, vocês são demais!

RESUMO

Este estudo apresenta características da cloaca e do órgão copulador dos gêneros *Crocodylus*, *Paleosuchus*, *Caiman* e *Melanosuchus*. A cloaca dos Amniotas apresenta uma ampla variação morfológica e é geralmente descrita como tendo três compartimentos: o coprodeo é o compartimento mais cranial e comunica com a parte final do intestino, o urodeo é o compartimento médio e recebe a urina e sêmen, e o proctodeo aloja as estruturas copulatórias. Foram analisadas cloacas de espécies de Testudines e Crocodylia e falo de espécies de Crocodylia com o objetivo de descrever a morfologia e investigar sua possível relação com as demais estruturas cloacais. Os estudos foram conduzidos a partir de dissecações e técnicas histológicas de rotina. A cloaca encontra-se localizada dentro do canal pélvico e apresenta características diferentes entre Testudines e Crocodylia. Em Testudines, a cloaca apresenta dividida em três compartimentos, coprodeo, seio urogenital e proctodeo, sem apresentar pregas que os separem. A abertura cranial do canal peritoneal está localizada lateralmente ao seio urogenital e o canal se estende caudalmente até a extremidade distal do falo. Em Crocodylia, a cloaca apresenta coprodeo, urodeo e proctodeo, o último separado pela prega uroproctodeal. A cloaca apresenta semelhanças histológicas entre o reto e o coprodeo e entre o urodeo e o proctodeo. Na região do urodeo encontra-se o seio genital, uma característica da cloaca de Crocodylia. A abertura cranial do canal peritoneal está localizada lateralmente ao coprodeo e o canal se estende caudalmente até se desembocar em uma papila, de diferentes formatos e localização, no corpo do falo. O falo das espécies de Crocodylia apresenta corpo vascular, corpo fibroelástico e tecido erétil. O falo é protraído pela ação da musculatura cloacal e retraído a partir da ação do ligamento elástico que se encontra inserido no processo ventral do corpo do falo e no ísquio. O canal peritoneal é um caráter compartilhado por Testudines e Crocodylia. A papila do canal peritoneal é uma sinapomorfia de Crocodylia e o ligamento elástico é um caráter compartilhado por Crocodylia e Aves Paleognathae que possuem falo eversível.

Palavras-chave: anatomia, canal peritoneal, crocodilianos, histologia, órgão copulador.

ABSTRACT

This study presents characteristics of the cloaca and the copulatory organ of the genera *Crocodylus*, *Paleosuchus*, *Caiman* and *Melanosuchus*. The amniotes cloaca exhibits a large morphological variation and is generally described as having three compartments: coprodeum is the most cranial compartment and communicates with the final part of the intestine, urodeum is the middle compartment and receives urine and semen, and the proctodeum. The cloacas of the species of Testudines and Crocodylia and the copulatory organ of Crocodylia were analyzed with the purpose of describing the morphology and investigating its possible relationship with the other cloacal structures. The studies were made from dissections and routine histological preparations. The cloaca is located in the pelvic cavity with different characteristics between Testudines and Crocodylia. In the former, the cloaca is divided in three compartments, coprodeum, urogenital sinus and proctodeum, without presenting folds that separate them. The cranial opening of the peritoneal canal is located laterally to the urogenital sinus and the canal are caudally projected into the phallus, until the caudal end of the organ. In Crocodylia, the cloaca presents coprodeum, urodeum and proctodeum the last separated by uroproctodeal fold. The cloaca presents histological similarities between the rectum and the coprodeum and between the urodeum and proctodeum. In the region of the urodeum is the genital sinus, a characteristic of the Crocodylia cloaca. The cranial opening of the peritoneal canal is located laterally to the coprodeum and the canal extends caudally until it ends in a papilla, of different formats and location, in the body of the phallus. The phallus of Crocodylia species has a vascular body, a fibroelastic body and an erectile tissue. The phallus is protracted by the action of the cloacal muscles and retracted from the action of the elastic ligament that is inserted in the ventral process of the body of the phallus and in the ischium. The papilla with the peritoneal canal is a synapomorphy of Crocodylia and the elastic ligament is a character shared by Crocodylia and Paleognathae birds that have an eversible phallus.

Keywords: anatomy, peritoneal canal, crocodilians, histology, copulatory organ.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Ilustração das formas de locomoção de Crocodylia. 16

Figura 1.2 – Topologia simplificada do clado Crocodylomorpha. 18

Figura 1.3 – Ilustração das radiações atuais de Crocodylia. 19

Figura 1.4 – Ilustração das relações de articulações presentes no palato, em diferentes grupos de Crocodyliformes. 20

Figura 1.5 – Consenso estrito de 18 árvores mais parcimoniosas. Adaptada de Pol *et al*. (2009). 21

Figura 1.6 – Sinapomorfia de Alligatoridae. 22

Figura 1.7 – Série de transformações da oclusão dental em crocodilianos. 23

Figura 1.8 Sinapomorfia de Crocodylidae. 24

Figura 1.9 – Topologias e tempos de divergência conflitantes entre crocodilianos atuais. 27

Figura 1.10 – Desenho esquemático do desenvolvimento embrionário da cloaca e inchaços genitais externos de um Amniota. 29

Figura 1.11 – Hipóteses alternativas para a evolução do órgão copulador em Amniotas. Relações filogenéticas adaptadas de Janke *et al.* (2001). 32

Figura 1.12– Órgãos copuladores de Placodermi, Chondrichthyes e Actinopterygii. ... 35

Figura 1.13 – Órgão copulador de Lissamphibia. 36

Figura 1.14 – Desenvolvimento embriológico dos brotamentos genitais pares (*****) que formam o tubérculo genital de Amniotas. 37

Figura 1.15 – Órgão copulador de Monotremata e Squamata. 38

Figura 1.16 – Órgão copulador de Testudines e Archosauria. 40

Figura 2.1 – Desenhos esquemáticos dos cortes sagital e transversais da cloaca de Testudines. 57

Figura 2.2 – Aspectos anatômicos do falo e canais peritoneais de Testudines. 58

Figura 2.3 – Vista cranial dos componentes anatômicos da parede caudal da cavidade corporal de Testudines. 60

Figura 2.4 – Desenhos esquemáticos dos cortes sagital e transversais da cloaca e do falo de jacaré. 61

Figura 2.5 – Aspectos anatômicos do canal peritoneal de Crocodylia..... 62

Figura 2.6 – Aspectos anatômicos do falo e canal peritoneal de Crocodylia. 63

Figura 2.7 – Desenhos esquemáticos dos cortes sagital e transversais da cloaca de aves 64

Figura 2.8 – Aspectos anatômicos da cavidade corporal caudal, da cloaca e do falo de Aves. 65

Figura 2.9 – Aspectos histológicos do canal peritoneal de Testudines..... 66

Figura 2.10 – Aspectos histológicos do seio urogenital de Testudines, seio genital de Crocodylia e aspectos histológicos e ultra estruturais da fossa ejaculatória de Aves... 67

Figura 2.11 – Aspectos microscópicos do canal peritoneal de Crocodylia..... 68

Figura 2.12 – Aspectos histológicos do canal peritoneal de Crocodylia. 69

Figura 2.13 – Aspectos histológicos da papila do canal peritoneal de Crocodylia. 70

Figura 2.14 – Padrão eletroforético das proteínas do líquido cloacal e peritoneal de *C. carbonaria* (**A)** e *T. dorbigni* (**B**)..... 71

Figura 2.15 – Padrão eletroforético e cromatográfico das proteínas do líquido cloacal e peritoneal de *P. palpebrosus.* 72

Figura 2.16 – Reconstrução do estado ancestral. 73

Figura 3.1 – Aspectos anatômicos da cloaca e do falo das espécies de Crocodylia. 93

Figura 3.2 – Vista dorsal (**A**) e cortes transversais (**B** – **H**) do falo de *M. niger*, vistas lateral e dorsal da pseudoglande (**I** – **J**) e aspectos anatômicos da glândula cloacal (**K** – **L**) de *C. yacare*. 95

Figura 3.3 – Relações topográficas do ligamento elástico das espécies de Crocodylia. 97

Figura 3.4 – Aspectos anatômicos da porção cranial do falo de *P. palpebrosus*..... 98

Figura 3.5 – Aspectos anatômicos do corpo do falo de *P. palpebrosus*..... 99

Figura 3.6 – Corpo fibroelástico do falo de *C. crocodilus* e *C. latirrostris*. 100

Figura 3.7 – Aspectos histológicos dos compartimentos cloacais e da glândula paracloacal de *C. yacare*.**.** 101

Figura 3.8 – Aspectos histológicos do corpo vascular do falo de Crocodylia.. 103

Figura 3.9 – Aspectos histológicos do músculo liso e do ligamento elástico do falo das espécies de Crocodylia. 105

Figura 3.10 – Aspectos histológicos do seio genital das espécies de Crocodylia. 106

Figura 3.11 – Aspectos histológicos do falo de Crocodylia..... 108

Figura 3.12 – Aspectos histológicos do sulco ejaculatório de Crocodylia. 110

Figura 3.13 – Aspectos histológicos do canal peritoneal e da pseudoglande de Crocodylia. 111

Figura 3.14 – Reconstrução do estado ancestral. 113

Figura 3.15 – Reconstrução do estado ancestral. 114

LISTA DE ABREVIATURA

A, ápice;

AC, abertura caudal;

ACr, abertura cranial;

BF, base do falo;

BU, bexiga urinária;

C, coprodeu;

CBU, canal da bexiga urinária;

CC, cavidade corporal;

CF, corpo do falo;

CFE, corpo fibroelástico do falo;

CFF, corpo fibroso do falo;

ch, coana;

CP, canal peritoneal;

Cr, direção cranial;

CV, corpo vascular;

CVP, corpo vascular paracloacal;

DD, ducto deferente;

EF, extremidade distal do falo;

EV, espaço vascular;

Eo, eoceno;

F, falo;

f, frontal;

FE, fossa ejaculatória;

FP, fossa da pseudoglande;

G, glândula;

GC, glândula cloacal;

HE, hematoxilina-eosina;

j, jugal;

k, cretáceo;

LC, líquido cloacal;

LE, ligamento elástico;

LP, líquido peritoneal;

LPP, lâmina parietal peritônio;

LU, lamela uroretal;

LuP, lúmen do proctodeo;

LVP, lâmina visceral do peritônio;

Mc, mesocoprodeo;

MC, musculatura cloacal;

Mio, mioceno;

ML, músculo liso;

MP, mucosa do proctodeo;

Ms, mesorreto;

mx, maxila;

Oligo, oligoceno;

P, proctodeo;

p, parietal;

Pa, padrão;

PaL, parede lateral;

Pal, paleoceno;

PaM, parede medial;

PCP, papila do canal peritoneal;

PCU, prega coprourodeal;

PDD, papila do ducto deferente;

PG, pseudoglande;

pl, palatino;

Plio/Quat, Plioceno/Quaternário;

po, pós orbital;

pt, pterigoide;

PUP, prega uroproctodeal;

q, quadrado;

qj, quadrado jugal;

R, reto;

RCF, ramo do corpo fibroelástico;

RD, rim direito;

RE, rim esquerdo;

RF, ramo da base do falo;

Ri, rim;

RRu, recesso retourogenital;

RVu, recesso vesicourogenital;

SE, sulco ejaculatório;

Se, sêmen;

SG, seio genital;

sq, escamosal;

SU, seio urogenital;

T, testículo;

TD, testículo direito;

TE, testículo esquerdo;

U urodeo;

Ur, ureter;

V, vent /abertura cloacal;

VL, vaso linfático;

VS, vaso sanguíneo.

Sumário

LISTA DE FIGURAS VIII

LISTA DE ABREVIATURA XI

1 CAPÍTULO I – CARACTERÍSTICAS GERAIS DE CROCODYLIA, CLOACA E ÓRGÃO COPULADOR.....15

INTRODUÇÃO.....15
CARACTERÍSTICAS GERAIS DE CROCODYLIA.....15
SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DE CROCODYLIA.....17
CONSIDERAÇÕES SOBRE A CLOACA.....29
CONSIDERAÇÕES SOBRE O ÓRGÃO COPULADOR.....31

2 CAPÍTULO II – RELAÇÕES TOPOGRÁFICAS DO CANAL PERITONEAL DE TESTUDINES E CROCODYLIA COM IMPLICAÇOES EVOLUTIVAS. 41

INTRODUÇÃO.....41
MATERIAL E MÉTODOS.....43
RESULTADOS.....45
DISCUSSÃO 52
FIGURAS DO CAPÍTULO II 57

3 CAPÍTULO III – ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA CLOACA E DO FALO DOS GÊNEROS *Crocodylus*, *Paleosuchus*, *Caiman* E *Melanosuchus* 74

INTRODUÇÃO.....74
MATERIAL E MÉTODOS.....76
RESULTADOS.....78
DISCUSSÃO 84
CONCLUSÃO 92
FIGURAS DO CAPÍTULO III 93

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS 115

5 LISTA DE CARACTERES UTILIZADOS NA RECONSTRUÇÃO DO ESTADO ANCESTRAL.....116

6 REFERÊNCIAS 117

1 CAPÍTULO I – CARACTERÍSTICAS GERAIS DE CROCODYLIA, CLOACA E ÓRGÃO COPULADOR

INTRODUÇÃO

O presente estudo apresenta uma síntese sobre a cloaca e o órgão copulador das espécies neotropicais de Crocodylia, comentando as relações topográficas das estruturas cloacais, os caracteres morfológicos do órgão copulador e as implicações evolutivas dessas estruturas.

A cloaca e o órgão copulador das espécies neotropicais de Crocodylia nunca foram bem estudados por naturalistas do passado e pesquisadores atuais. Isto é, de certa forma, surpreendente, já que as essas espécies pertencem a um dos grupos faunísticos de maior valor econômico mundial e estão tradicionalmente sujeitos às mais variadas formas de manejo, legais ou ilegais.

Este estudo é iniciado apresentando as características gerais sobre Crocodylia, seguido de uma breve revisão sobre a cloaca e órgão copuladores.

CARACTERÍSTICAS GERAIS DE CROCODYLIA

Os crocodilianos e as aves são os únicos descendentes do grupo ancestral Archosauria, clado monofilético que inclui os Thecodontia, Pterosauria e Dinosauria, répteis que existiram durante o período Triássico, há 240 milhões de anos (BENTON; CLARCK, 1998). Os crocodilianos são predadores de grande porte, que variam de 1,5 a 7 metros de comprimento total quando adultos e se alimentam de diferentes presas que variam de pequenos insetos e outros invertebrados até vertebrados de grande porte.

Diferentes de algumas espécies mesozóicas mais terrestres, os crocodilianos atuais são predadores aquáticos, apresentam cauda comprimida lateralmente, patas traseiras palmadas, e as narinas, olhos e orelhas estão localizados no alto da cabeça e do focinho. Nos crocodilianos, o palato secundário fecha a porção caudal da cavidade oral permitindo a ventilação desde a narina até a traqueia (GRIGG; GANS, 1993). Apresentam, também, localizados na maxila superior e inferior receptores de pressão capazes de identificar a energia dissipada na coluna d`água (SOARES, 2002). Embora, possuam hábitos aquáticos, algumas espécies realizam extensas caminhadas sobre a

terra, podendo galopar movendo os membros de sua posição lateral para uma posição aproximadamente vertical (Fig. 1.1) (POUGH; JANIS; HEISER, 2006).

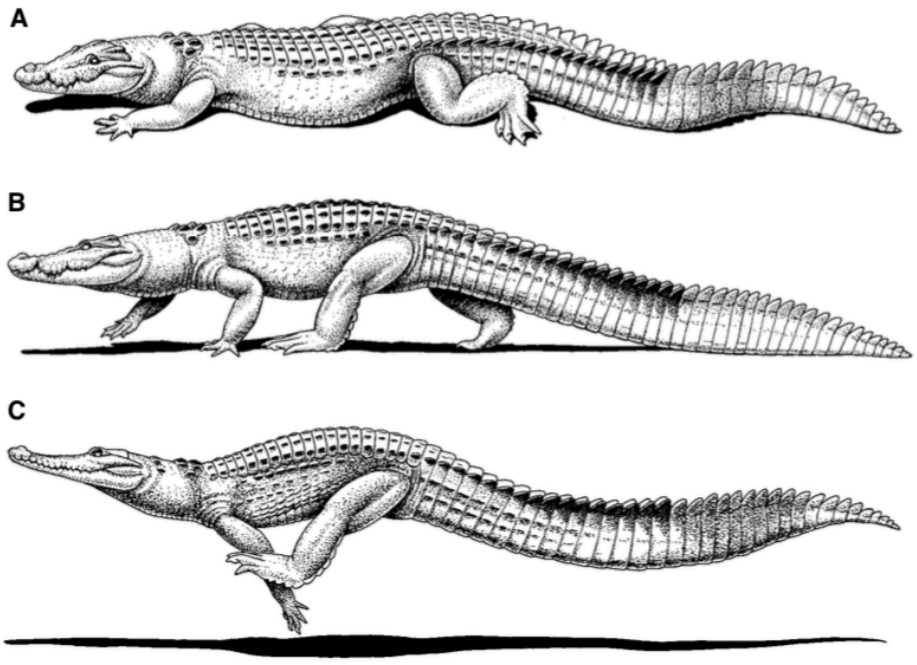


Figura 1.1 – Ilustração das formas de locomoção de Crocodylia. A – Locomoção por rastejamento em *C. porosus*; B – *C. porosus* andando com os membros flexionados lateralmente; C – Galope de *C. johnstoni,* com membros posicionados verticalmente. Adaptado de Grigg; Gans (1993).

Os crocodilianos são animais ectotérmicos e apresentam alterações morfológicas e comportamentais influenciadas diretamente pela temperatura ambiental. O estilo de vida anfíbio resulta em distintos padrões no comportamento de termorregulação que estão relacionados diretamente ao estoque de energia térmica guardada por unidade de massa corporal. Três fatores participam ativamente na termorregulação dos animais: o comportamental, em que o animal desloca-se na tentativa de controlar sua temperatura interna; o autônomo, que envolve variações orgânicas como a mudança de fluxo sanguíneo; e o adaptativo, que envolve mudanças a médio e longo prazo como alterações nos níveis hormonais e metabólicos (BASSETTI; VERDADE, 2014).

Os crocodilianos não apresentam cromossomos sexuais heteromórficos, o sexo é determinado pela temperatura de incubação dos ovos e o período sensível à

temperatura para determinação do sexo ocorre entre o sétimo e o vigésimo primeiro dia de incubação. Verifica-se o nascimento de fêmeas em temperaturas que variam de 28º a 31ºC e de 33º a 34ºC, valores entre 31º a 33ºC proporciona o nascimento de machos. Esse padrão é conhecido como fêmea – macho – fêmea. A temperatura ambiente afeta também a duração do período de incubação dos ovos, o grau de pigmentação dos embriões e suas taxas de desenvolvimento ontogenético (PIÑA *et al.*, 2007).

A primeira reprodução do indivíduo é determinada pelo tamanho corpóreo e pela idade; os crocodilianos apresentam ciclo reprodutivo complexo e sazonal, com desenvolvimento e retração das gônadas por ação hormonal, relacionado fortemente à temperatura ambiente. A disputa por locais de termorregulação durante o período que antecede a estação reprodutiva pode afetar o desenvolvimento gonadal, de modo a impedir que fêmeas entre em estro ou consigam apresentar desenvolvimento folicular (BASSETTI; VERDADE, 2014).

Na natureza, os crocodilianos são encontrados formando pequenos ou grandes agregados populacionais em rios, lagos, estuários e pântanos. As espécies sofrem grande pressão antrópica sobre seus habitats e também pela caça predatória para o comércio ilegal de carne e pele, e muitas espécies são incluídas no status de Apêndices I e II da Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Flora e da Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES) (BASSETTI; VERDADE, 2014).

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA DE CROCODYLIA

As informações disponíveis na literatura sobre a nomenclatura dos clados dos crocodilomorfas são conflitantes. O termo Crocodylia, que foi inicialmente proposto por Owen (1860), foi usado para designar os crocodilianos viventes e abrange todos os arcossauros da linhagem mais próxima dos crocodilos. Posteriormente, o termo foi utilizado para definir apenas crocodilianos viventes e suas linhagens fósseis (BENTON; CLARK, 1988). Posteriormente, o termo Crocodyliformes foi utilizado para o clado formado por Protosuchia + Mesoeucrocodylia e o termo Crocodylomorpha para o clado formado por “Sphenosuchia” + Crocodyliformes. Assim, Crocodyliformes pode ser considerado um sinônimo júnior de Crocodylia, portanto, Crocodylia deveria ser usado

para o grupo formado por Protosuchia, Mesosuchia e Eusuchia (Fig. 1.2) (MARTIN; BENTON, 2008).

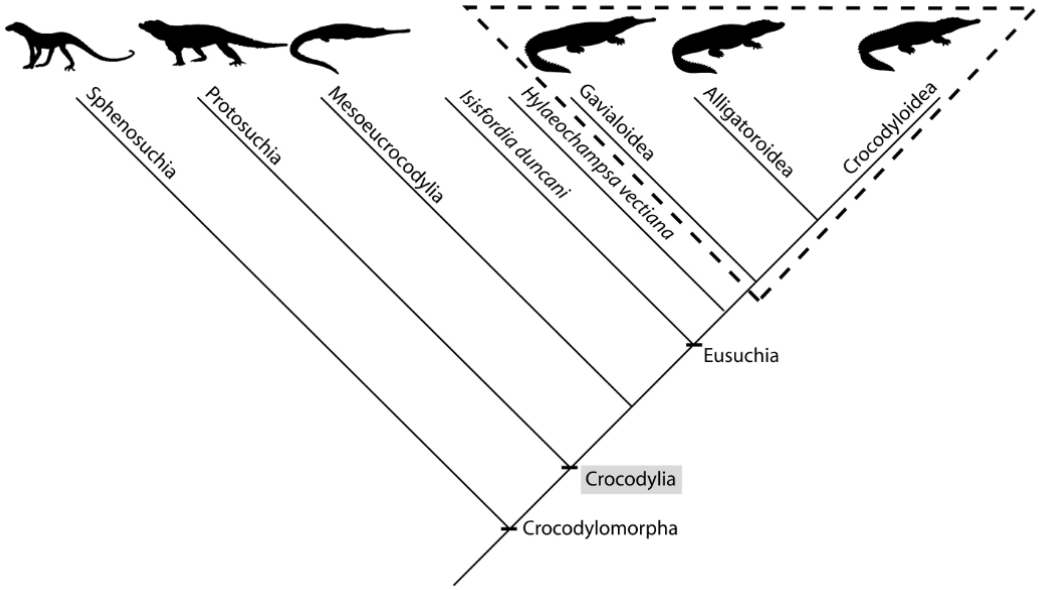


Figura 1.2 – Topologia simplificada do clado Crocodylomorpha. Crocodyla é definido como clado que inclui *Protosuchus richardsoni*, *Crocodylus niloticus* e todos os descendentes e ancestrais comuns. Linha tracejada: grupo coroa de Crocodylia. Adaptada de Martin; Benton (2008).

No entanto, o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica não determina regras para denominações acima do nível taxonômico Família e o termo Crocodylia é utilizado por diferentes autores (BROCHU, 1997, 1999, 2003; NORELL; CLARK; HUTCHISON, 1994; SALISBURY; WILLIS, 1996) seguindo a definição de Benton; Clarck (1988), que definem o termo Crocodylia para o clado formado pelo ancestral comum mais recente de *Gavialis*, *Alligator*, *Paleosuchus*, *Caiman*, *Melanosuchus*, *Tomistoma*, *Osteolaemus* e *Crocodylus*; e todos os seus descendentes. Essa definição é a mais aceita e também um consenso entre diferentes autores e, portanto, utilizada também neste trabalho.

Dessa forma, o termo Crocodylia será usado para o clado que compreende a maior diversidade dentro de Eusuchia, incluindo todas as formas atuais e também diversos táxons fósseis (BROCHU, 1997; SALISBURY, STEVEN W *et al.*, 2006). O clado inclui as três radiações mais abrangentes das formas modernas: Alligatoroidea,

Crocodyloidea e Gavialoidea, que incorporam, respectivamente, as atuais famílias Alligatoridae, Crocodylidae e Gavialidae (Fig. 1.3) (BROCHU, 2009).

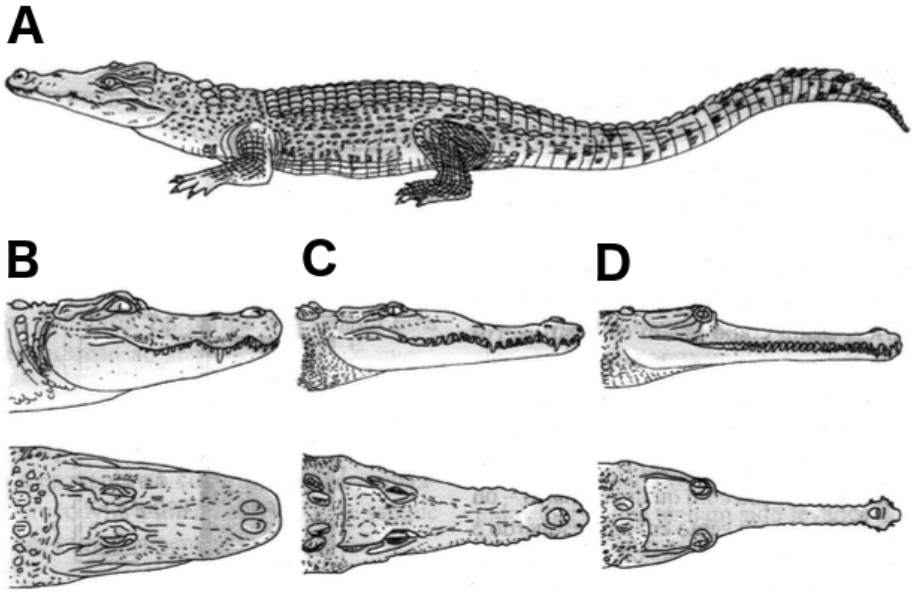


Figura 1.3 – Ilustração das radiações atuais de Crocodylia. A – *Crocodylus rhombifer* (Cuvier, 1807) (crocodilo cubano). B – Ilustração da cabeça e focinho de Alligatoridae - *Alligator sinensis* (aligator chinês). C – Ilustração da cabeça e focinho de Crocodylidae – *Crocodylus acutus* (crocodilo americano). D – Ilustração da cabeça e focinho de Gavialidae – *Gavialis gangeticus* (gavial). Adaptado de Pough (2006).

A diversidade taxonômica, morfológica e ecológica dos crocodilomorfas já foi muito maior no passado (BROCHU, 2003). Atualmente, são reconhecidas apenas 23 espécies, distribuídas em nove gêneros e três famílias (BROCHU, 2003; MCALILEY *et al.*, 2006). Todas as espécies apresentam adaptações morfológicas e fisiológicas semelhantes, tanto para alimentação carnívora, como para hábitos de vida semi-aquáticos (LANG, 1976).

As relações filogenéticas dos crocodilianos atuais com outros crocodiliformes estão bem elucidadas e diferentes estudos corroboram a hipótese de monofiletismo de Crocodylia, incluindo-os dentro de Eusuchia. Os Eusuchia são definidos pela presença de uma coana interna totalmente limitada pelos pterigóides posteriores às fenestras suborbitais e a redução da fossa anteromedial da fenestra supratemporal (Fig. 1.4) (POL;

TURNER; NORELL, 2009). O clado inclui também espécies fósseis como *Hylaeochampsa vectiana* (BENTON; CLARK, 1988; NORELL; CLARK, 1990; POL; TURNER; NORELL, 2009; SERENO *et al.*, 2003) (Fig. 1.5).

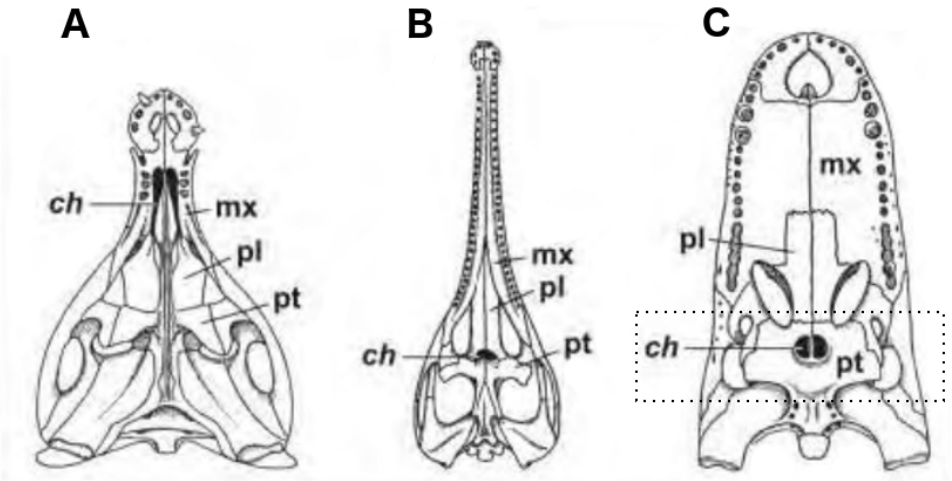


Figura 1.4 – Ilustração das relações de articulações presentes no palato, em diferentes grupos de Crocodyliformes. **A** – *Ornithosuchus* (Protosuchia): abertura das coanas na região anterior do focinho. **B** – *Steneosaurus* (Thallatosuchia): abertura das coanas mais próxima da faringe, típico de Metasuchia e Neosuchia não Eusuchia. **C** – *Albertochampsa* (Eusuchia), presença de palato secundário completo, abertura das coanas nos pterigoides (**linha tracejada**). Abreviações: **ch**, coana; **mx**, maxila; **pl**, palatino; **pt**, pterigoide. Adaptado de Buffetaut (1979).

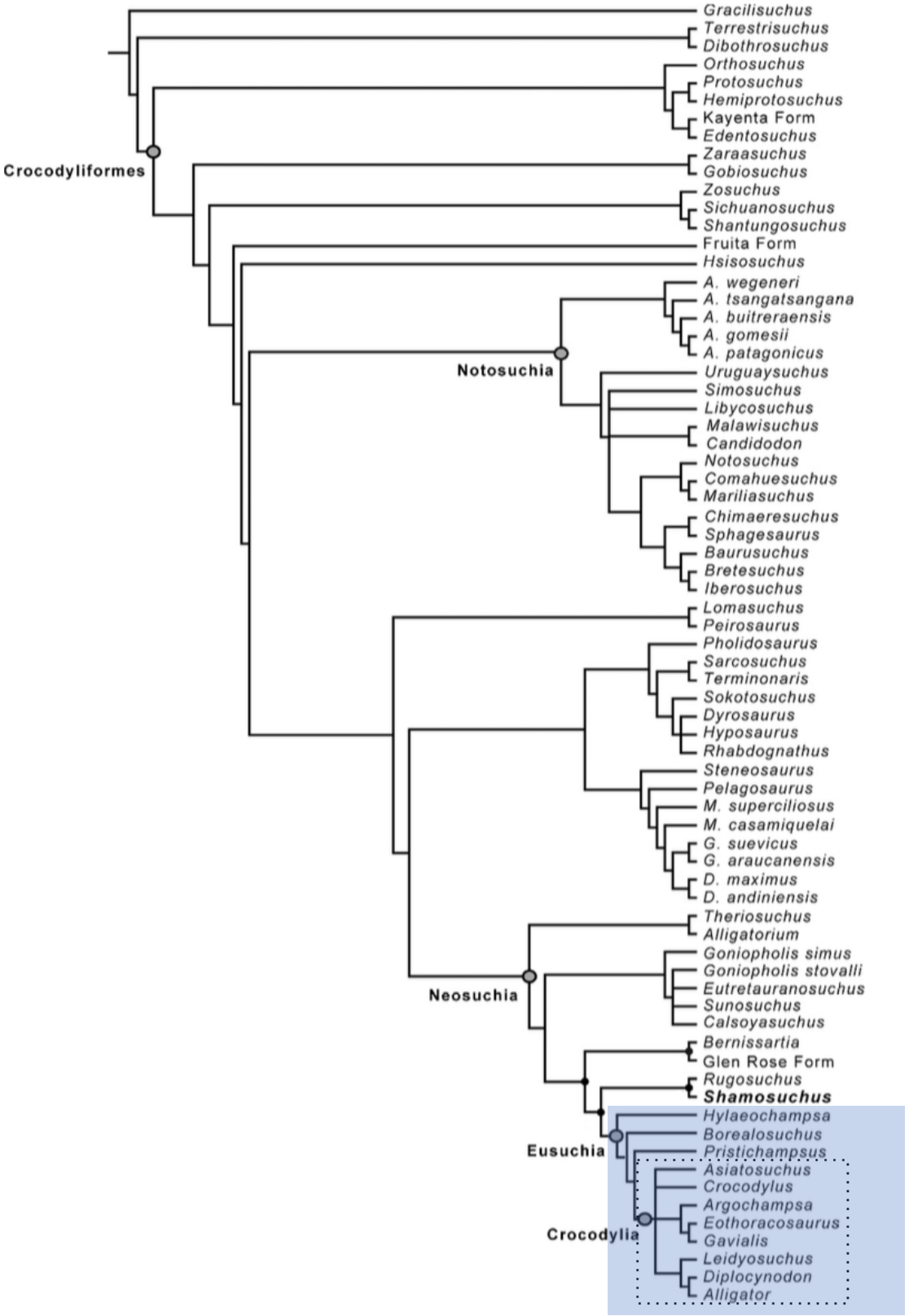


Figura 1.5 – Consenso estrito de 18 árvores mais parcimoniosas. Adaptada de Pol *et al*. (2009). Hipótese filogenética da relação de Crocodylia (**linha tracejada**), um clado de Eusuchia (**destaque**) com os demais Crocodyliformes.

A família Alligatoridae é definida por Brochu (1999) como o clado que compreende o ancestral comum mais recente de *Alligator mississippiensis* e *Caiman crocodilus* e todos os descendentes. São definidas três sinapormofias morfológicas para a família, a sutura frontoparietal localizada inteiramente no teto craniano, a sutura pós-orbital/esquamosal ultrapassa a região ventral e medial do teto do crânio (Fig. 1.6) e a maxila que apresenta um processo posterior que articula com o lacrimal. Tradicionalmente, a família é ainda diferenciada dos demais crocodilianos pela oclusão dentária (Fig. 1.7). Os jacarés possuem uma sobremordida e os dentes no osso dentário na mandíbula têm uma oclusão com os dentes na maxila e premaxila.

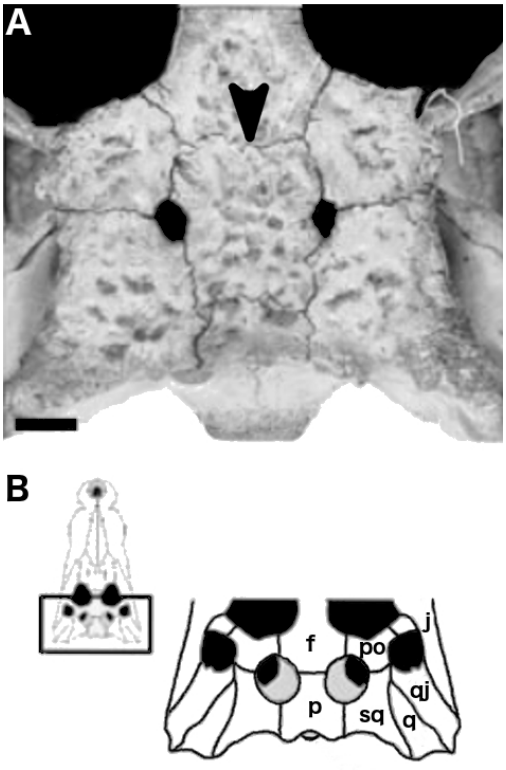


Figura 1.6 – Sinapomorfia de Alligatoridae. **A** – Vista dorsal da região caudal do crânio de *Melanosuchus niger* (jacaré-açú). Articulação entre os ossos frontal e parietal localizada inteiramente no teto craniano (**cabeça de seta**). Escala 1 cm. **B** – Ilustração da vista dorsal e no detalhe região caudal do crânio de *Leidyosuchus canadenses.* Adaptada de Brochu (1999). Abreviações: **f**, frontal; **j**, jugal; **p**, parietal; **po**, pós-orbital, **q**, quadrado; **qj**, quadrado jugal; e **sq**, esquamosal.

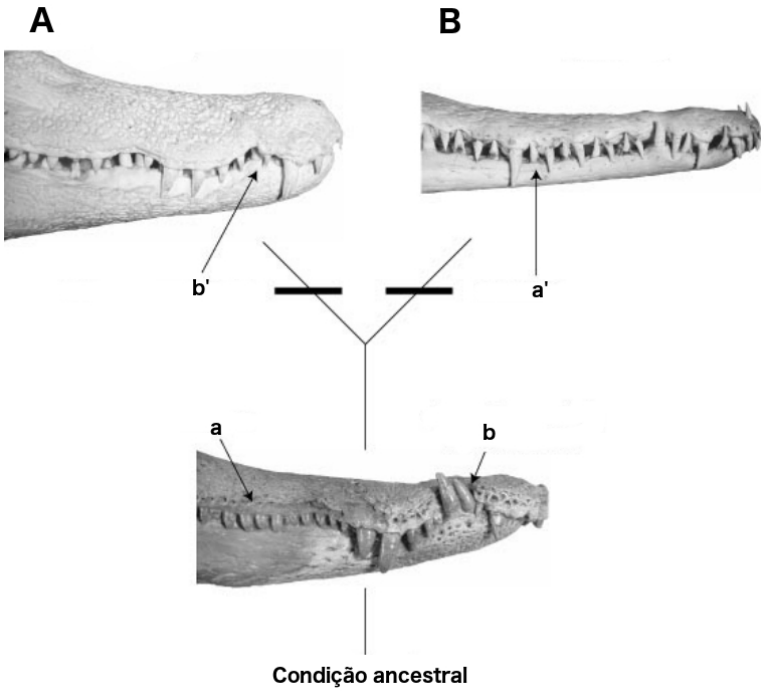


Figura 1.7 – Série de transformações da oclusão dental em crocodilianos. Condição ancestral *Leidyosuchus canadensis*, **A** – *Paleosuchus trigonatus* (jacaré-coroa) e **B** – *Crocodylus intermedius* (crocodilo-do-Orinoco). **a** – estado ancestral (plesiomórfico) os dentes no osso dentário da mandíbula inferior têm uma oclusão com os dentes da maxila e pré-maxila. **a'** – estado derivado (apomórfico) perda da oclusão dental. **b** – estado ancestral (plesiomórfico) presença de um entalhe entre a pré-maxila e a maxila. **b'** – estado derivado (apomórfico) perda do entalhe entre a pré-maxila e a maxila. Adaptado de Brochu (2003).

Os representantes da família apresentam-se distyribuídos em zonas úmidas intertropicais do Neotrópico, com exceção das duas espécies de jacaré tolerantes a temperaturas mais frias, o *Alligator mississipiensis* endêmica do sudeste dos Estados Unidos e *A. sinensis* que ocorre na Ásia. *A. sinensis* é a única espécie da família classificada como criticamente ameaçada de extinção (IUCN, 2017). O gênero *Caiman* inclui três espécies (*C. latirostris*, *C. crocodilus* e *C. yacare*) e é encontrado ao longo da América do Sul e parte da América Central (BROCHU, 1999; MONTEIRO; SOARES, 1997). A família possui ainda os gêneros *Melanosuchus* com uma espécie (*M. niger*) e *Paleosuchus* com duas espécies (*P. palpebrosus* e *P. trigonatus*) (MAGNUSSON; SILVA; LIMA, 1987).

A espécie *M. niger* é a maior espécie de Alligatoridae, podendo atingir até 5 metros de comprimento (THOISY *et al.*, 2006), enquanto *P. palpebrosus* é o menor membro do grupo, atingindo o comprimento de 1,5m (CAMPOS; SANAIOTTI; MAGNUSSON, 2010).

O Brasil possui atualmente o maior número de espécies de crocodilianos do mundo, todas da família Alligatoridae: *C. latirostris* (jacaré-do-papo-amarelo), *C. crocodilus* (jacaré-tinga), *C. yacare* (jacaré-do-pantanal), *M. niger* (jacaré-açú), *P. trigonatus* (jacaré-coroa) e *P. palpebrosus* (jacaré-paguá). O jacaré-do-pantanal, até pouco tempo atrás, era considerado subespécie de *C. crocodilus* (*C. c. yacare*); no entanto, atualmente há suporte suficiente para classificá-lo em nível de espécie (*C. yacare*) e essa é a classificação adotada pela autoridade ambiental brasileira (IBAMA) (CAMPOS; SANAIOTTI; MAGNUSSON, 2010).

A família Crocodylidae é definida por NORELL (1989) como o clado que compreende os gêneros *Crocodylus*, *Osteolaemus* e *Tomistoma*, excluindo *Gavialis*. Nos crocodilos, está presente um entalhe entre a maxila e a pré-maxila que recebe o quarto dente (BROCHU, 2003), não ocorrendo uma sobremordida típica da família Alligatoridae (Fig. 1.7). Existem ainda outros caracteres morfológicos usados como diagnósticos para a família Crocodylidae como o osso jugal formando o ângulo posterior e dorsal à fenestra infratemporal (Fig. 1.8), a ausência do processo pós-orbital e presença de hipoapófise cervical. Os caracteres relacionados à oclusão dentária e o entalhe na maxila e pré-maxila são derivados de uma condição ancestral comum (BROCHU, 1999).



Figura 1.8 – Sinapomorfia de Crocodylidae. Vista ventral e média da fenestra infra temporal de *Crocodylus acutus* (crocodilo-americano). O osso jugal forma o ângulo posterior e dorsal da fenestra. Abreviações: **j**, jugal; **q**, quadrado e **qj**, quadrado jugal. Adaptado de Norell (1989).

As espécies da família Crocodylidae são tradicionalmente associadas a um antigo grupo de espécies morfologicamente conservadas originado na África durante o Cretáceo; no entanto, essa hipótese não é suportada por dados morfológicos e moleculares (BROCHU, 1997, 2000; DENSMORE; WHITE, 1991; SALISBURY; WILLIS, 1996). Atualmente, as espécies da família Crocodylidae são encontradas na América, África, Ásia e Austrália (BROCHU, 2003).

A ampla distribuição biogeográfica das espécies da família pode ser explicada pela hipótese transoceânica (BROCHU, 2001). Características anatômicas e fisiológicas de *Crocodylus* como corpo grande, metabolismo relativamente baixo e glândulas de sal dão suporte para a hipótese de uma viagem pelos oceanos. Existem estudos com registros de indivíduos de *Crocodylus porosus* viajando até 590 km em 25 dias, através de correntes oceânicas (CAMPBELL *et al.*, 2010). Dessa forma, um cruzamento transatlântico relativamente recente de *C. niloticus* para o Novo Mundo, com uma diversificação posterior para as espécies americanas *C. acutus, C. rhombifer, C. intermedius* e *C. moreletii* é considerado uma explicação mais parcimoniosa para a ocorrência de *Crocodylus* na região neotropical (MEREDITH *et al.*, 2011).

Atualmente, são reconhecidas 14 espécies incluídas na família Crocodylidae, sendo três de ocorrência africana (*C. niloticus, Mecistops cataphractus* e *Osteolaemus tetraspis*, sete asiáticas, *C. johnstoni, C. mindorensis, C. novaeguineae, C. palustris, C. porosus, C. siamensis* e *Tomistoma schlegelii*)e quatro espécies neotropicais (*C. acutus, C. intermedius C. moreletii* e *C. rhombifer*)(BROCHU, 2000). Ao contrário da família Alligatoridae que possui somente uma espécie classificada em uma das categorias de ameaça de extinção pela IUCN, em Crocodylidae quatro espécies estão classificadas na categoria de baixo risco de extinção pela IUCN (*C. niloticus, C. johnstoni, C. novaeguineae* e *C. porosus*) (IUCN, 2017).

A família Gavialidae contém apenas uma espécie, o gavial *G. gangeticus*, endêmico de áreas alagadas do subcontinente indiano. A espécie é reconhecida por possuir um focinho longo e estreito, que está relacionado a muitas das características e do desenvolvimento do crânio, como a separação dos ossos nasais, uma longa sínfise esplênica e uma disposição dentária linear. A espécie apresenta ainda tubérculos alargados no côndilo basioccipital ventral ao côndilo occipital, separação das premaxilas

e nasais na superfície dorsal do rostro e a bula nasal formada exclusivamente pelo osso pterigoide (BROCHU, 2003).

As inferências filogenéticas, ou seja, as hipóteses para reconstrução das histórias evolutivas dos organismos, foram inicialmente baseadas em dados morfológicos. Assim, os caracteres morfológicos foram extremamente úteis para o reconhecimento de grandes grupos, bem como para a descrição de famílias, gêneros e espécies, constituindo a base das primeiras classificações dos seres vivos (FARRIS, 1983).

Tradicionalmente, os resultados das análises filogenéticas utilizando somente caracteres morfológicos recuperam *G. gangeticus* como um grupo irmão de todos os demais crocodilianos viventes. BROCHU (1997) analisou 164 caracteres morfológicos, considerando-os não ordenados e sem atribuir pesos diferentes. Nesse estudo, o autor recupera uma topologia mais parcimoniosa, na qual a monofilia de Crocodylidae, incluindo *Tomistoma*, é suportada em árvores com até seis passos a mais do que a árvore mais parcimoniosa e a monofilia de um grupo incluindo todos os crocodilianos, exceto o *Gavialis*, é suportado em árvores com até 11 passos a mais. O conjunto de dados analisado pelo autor corrobora outros resultados de estudos com dados morfológicos (NORELL, 1989; SALISBURY; WILLIS, 1996) e considera a hipótese de *Gavialis* como táxon irmão de todos os outros crocodilianos.

Assim, acreditava-se que as hipóteses filogenéticas para os principais clados de Crocodylia estavam resolvidas. No entanto, com os avanços da biologia molecular, inúmeras técnicas de acesso ao material genético foram desenvolvidas, e mais recentemente, o sequenciamento de regiões específicas de DNA indicaram inconsistências entre os dados morfológicos e moleculares.

Contrariando os resultados das análises morfológicas, os estudos utilizando dados moleculares recuperam uma hipótese filogenética diferente para *G. gangeticus*. A hipótese filogenética considerando *G. gangeticus* como grupo irmão de *Tomistoma* foi proposta por Densmore (1983) em um extenso estudo imunológico que incluiu todas as espécies atuais de crocodilianos. Em outros estudos utilizando diferentes caracteres moleculares, dados de polimorfismo do comprimento de fragmento de restrição (RFLP) do DNA (DENSMORE; WHITE, 1991), e análises 12S rRNA (GATESY; DESALLE; WHEELER, 1993) também recuperaram topologias semelhantes, corroborando os resultados de Densmore (1983) (Fig. 1.9).

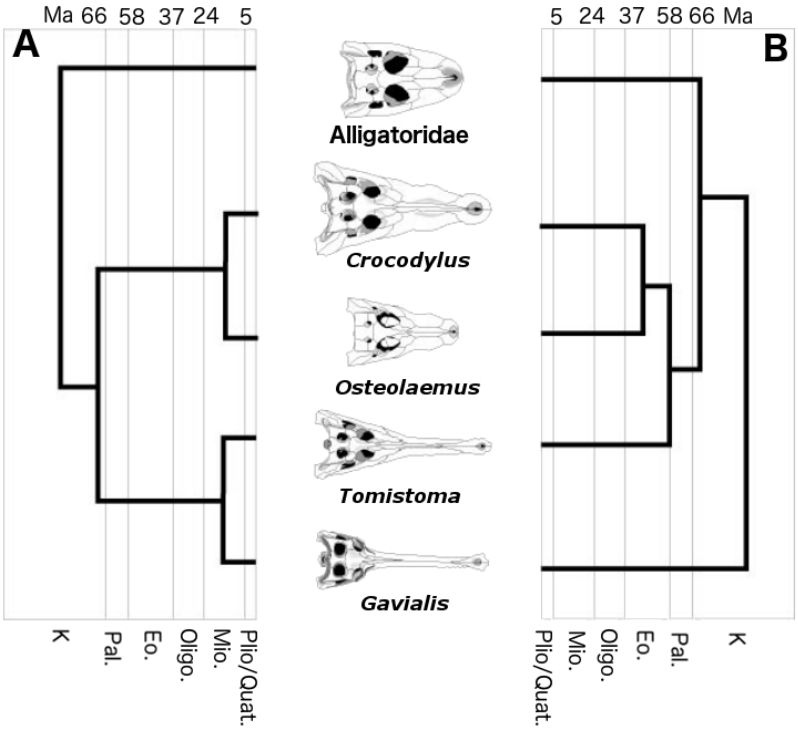


Figura 1.9 – Topologias e tempos de divergência conflitantes entre crocodilianos atuais. A – Hipótese filogenética utilizando caracteres morfológicos. B – Hipótese filogenética utilizando caracteres moleculares. Abreviações: **K**, Cretáceo; **Pal,** Paleoceno; **Eo**, Eoceno; **Oligo**, Oligoceno; **Ma** milhões de anos; **Mio**, Mioceno; **Plio/Quat**, Plioceno/Quaternário. Adaptado Brochu (2003).

Dessa forma, as hipóteses morfológicas e moleculares quanto à posição filogenética de *G. gangeticus* são conflitantes e, historicamente, as semelhanças morfológicas relativas ao focinho longo e estreito de *G. gangeticus* e *T. schlegelii* foram interpretadas por morfologistas como exemplos de convergência adaptativa, portanto uma homoplasia e, em geral, descartadas como evidência filogenética. No entanto, a partir de uma perspectiva molecular, o focinho longo e estreito das duas espécies é melhor interpretado como um carácter homólogo.

As hipóteses filogenéticas são proposições sobre as relações de parentesco entre os grupos biológicos, e estão relacionadas às informações das evidências disponíveis. Portanto, sujeitas a testes e confrontos a partir de novas evidências (KLUGE, 1997; SIDDALL; KLUGE, 1997).

A incongruência quanto à posição filogenética de *Gavialis* parece ser melhor esclarecida a partir de uma análise de evidência total, ou seja, de uma matriz combinada

de dados morfológicos e moleculares. Dessa forma, um número maior de caracteres informativos é analisado.

No estudo de Gatesy *et al.* (2003), a matriz de 164 caracteres morfológicos analisada por Brochu (1997) foi reanalisada, incluindo 14 táxons atuais e 54 fósseis. A matriz de caracteres morfológicos foi combinada com uma matriz de dados moleculares obtidos de quatro genes, sendo três mitocondriais (12S rDNA, 16S rDNA, citocromo b) e um nuclear (proteína ativadora de recombinação 1 - RAG1), obtendo uma matriz com 68 táxons e 3104 caracteres. Os autores codificaram como ausentes os caracteres moleculares dos 54 táxons extintos. Nesse estudo, são discutidas as hipóteses filogenéticas obtidas após análise dos dados moleculares mitocondriais e nucleares separados e agrupados. Discutem também as hipóteses filogenéticas obtidas após a análise dos dados morfológicos e da análise de evidência total.

A topologia obtida, quando somente os dados moleculares são analisados, é semelhante aos resultados de outros estudos com dados moleculares. Resultado similar também é obtido quando apenas os dados morfológicos são analisados. Portanto, a análise separada do conjunto de dados não fornece suporte suficiente para esclarecer as incongruências relativas à posição de *G. gangeticus*.

No entanto, quando os dados morfológicos e moleculares são analisados conjuntamente, os autores recuperam uma topologia na qual *G. gangeticus* é grupo irmão de *T. schlegelli*, formando um clado irmão de Crocodylinae. Os autores ainda afirmam que a abordagem da evidência total produziu uma hipótese filogenética robusta e bem resolvida para Crocodylia.

Assim, se essa hipótese para Crocodylia for, realmente, confirmada, o estabelecimento das relações evolutivas entre os representantes de Crocodylia e a taxonomia do grupo deve ser revisada para reconhecer apenas duas famílias de crocodilianos recentes, Alligatoridae e Crocodylidae.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A CLOACA

A cloaca dos Amniotas é uma câmara integrativa que recebe produto dos rins, dos intestinos e, frequentemente, das gônadas. É constituída por três compartimentos: o coprodeo, que se continua cranialmente com o reto; o urodeo, uma câmara intermédia; e o proctodeo, câmara cloacal que abriga o órgão copulador. Os compartimentos cloacais são separados, respectivamente, pelas pregas rectocoprodeal, coprourodeal e uroproctodeal (GADOW, 1887; GREDLER, 2016; GREDLER *et al.*, 2014; KING, 1981). Nos Amniotas, a cloaca está presente em Monotremata, Squamata, Testudines e Archosauria (KARDOONG, 2012); uma cloaca reduzida persiste em marsupiais (NOGUEIRA *et al.*, 2004).

Os Amniotas apresentam uma ampla variação morfológica da cloaca, e isso está relacionado com o desenvolvimento embrionário da membrana urorretal, do seio urogenital, do órgão copulador e da membrana cloacal (Fig. 1.10) (DYCE; SACK; WESTING, 2004; KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973).

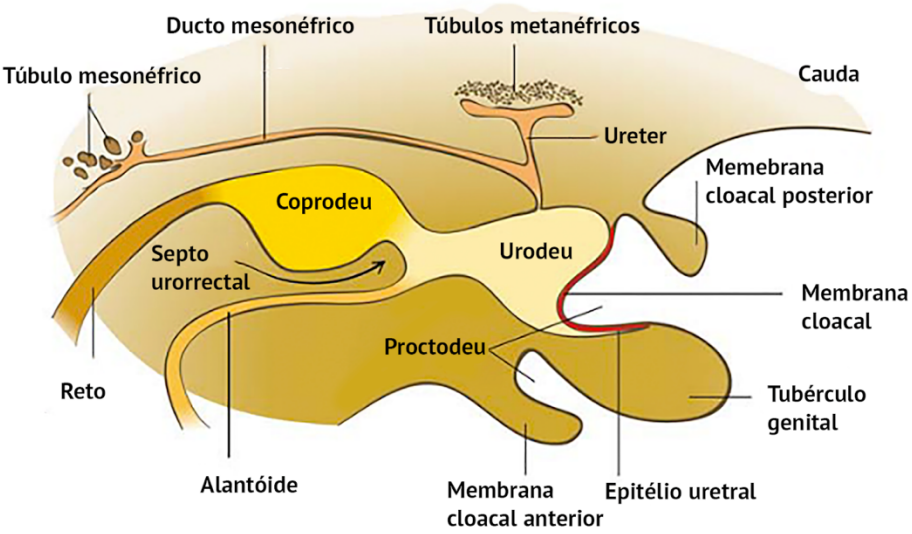


Figura 1.10 – Desenho esquemático do desenvolvimento embrionário da cloaca e inchaços genitais externos de um Amniota. O intestino grosso se conecta ao coprodeo. O urodeo está conectado ao alantoide e o ducto mesonéfrico liga os túbulos mesonéfricos e o ureter ao urodeo. O movimento do septo urorretal é indicado pela seta curva entre o alantoide e o coprodeo. A membrana cloacal, indicada em vermelho, é formada pela fusão do endoderma cloacal e do ectoderma superficial. A extensão da membrana cloacal na base do tubérculo genital forma o sulco espermático em Testudines e Archosauria e a uretra em Mammalia. Adaptada de Gredler *et al.* (2014).

Em monotremados, a cloaca apresenta os compartimentos, coprodeo, urodeo e proctodeo separados pelas pregas coprourodeal e uroproctodeal. O ureter e o ducto deferente se abrem no seio urogenital, o qual conecta a bexiga urinária ao urodeo. Nos mamíferos placentários, a cloaca se divide no estágio sexualmente indiferenciado e forma orifícios separados do coprodeo e urodeo. Nos machos, o seio urogenital se torna a uretra que transporta esperma e produtos urinários. Nas fêmeas, o seio urogenital se divide novamente para produzir uma abertura uretral para o sistema urinário e uma abertura vaginal para o sistema reprodutivo (KARDOONG, 2012).

Em Squamatas, a cloaca apresenta todos os elementos típicos de uma cloaca, coprodeo, urodeo e proctodeo, separados respectivamente pelas pregas coprourodeal e uroproctodeal. O reto é separado do coprodeo pela prega rectocoprodeal. O urodeo recebe os ductos urogenitais dorsalmente, em uma região denominada papila urogenital (GADOW, 1887; KING, 1981).

Em Testudines, a delimitação cranial da cloaca é observada pela presença da prega retocoprodeal que separa o reto do coprodeo. As pregas coprourodeal e uroproctodeal são pouco evidentes, não apresentando delimitação entre as três câmaras cloacais. Os ductos deferentes e os ureteres desembocam no seio urogenital que se abre dorsalmente no urodeo. O proctodeo segue como câmara caudal onde está localizado o órgão copulador (KING, 1981).

Nas Aves, semelhante aos Squamatas, a cloaca apresenta os três compartimentos (coprodeo, urodeo e proctodeo) separados pelas pregas coprourodeal e uroproctodeal. No urodeo, uma estrutura denominada fossa ejaculatória, recebe a desembocadura dos ductos deferentes, no ápice de duas papilas cônicas, e dos ureteres. Possivelmente, a fossa ejaculatória seja um remanescente da membrana urogenital e, assim, uma característica comum ao seio urogenital encontrado nos Testudines (GADOW, 1887; KING, 1981; OLIVEIRA; MAHECHA, 1996, 2000; SANTOS *et al.*, 2011).

Em Crocodylia, o coprodeo e o urodeo se fusionam e formam a câmara coprourodeal, que é separada do reto pela prega retocoprodeal. A câmara coprourodeal é separada do proctodeo pela prega uroproctodeal. Os ureteres, de maneira ainda não descrita, se abrem dorsolateralmente na câmara coprourodeal e os dutos deferentes desembocam no proctodeo (GADOW, 1887; KING, 1981).

CONSIDERAÇÕES SOBRE O ÓRGÃO COPULADOR

A reprodução é uma parte importante na história de vida dos organismos e a compreensão desse evento e das estruturas associadas a ele tem sido o objeto de vários estudos de muitos pesquisadores. Com isso, o conhecimento relacionado às características reprodutivas dos animais tem crescido gradualmente nos últimos anos (KÜHNEL; REINHARD; KUPFER, 2010; LEONARD; CORDOBA-AGUILAR, 2008).

Uma das características relacionadas à reprodução são os mecanismos de fertilização, que pode ser externa, na qual gametas femininos e masculinos são liberados do corpo para o meio, onde ocorre a fecundação, ou interna na qual o esperma é depositado no trato genital feminino para fertilizar o óvulo (KARDOONG, 2012).

A reprodução por fertilização interna ocorre em muitos táxons de vertebrados e está associada a diferentes estratégias para transferência de gametas (KÜHNEL; REINHARD; KUPFER, 2010). Uma das estratégias para a maioria dos táxons com fertilização interna, é o uso de um órgão copulador como ferramenta para auxiliar essa transferência (GADOW, 1887).

Os órgãos copuladores são extremamente diversos, podendo ser cartilaginosos derivados da nadadeira pélvica em Chondrichthyes (LAMARCA, 1964), compridos e ósseo derivados da nadadeira anal em Osteichthyes Poecilidae (MEYER; LYDEARD, 1993), com a extremidade distal bifurcada em Didelphimorphia (NOGUEIRA *et al.*, 2004), hemipênis bifurcado em Squamata (KING, 1981; PORTO *et al.*, 2013), órgãos copuladores longos e espiralados em Aves Anseriformes (BRENNAN, 2013) e não espiralados em avestruz (BRENNAN; PRUM, 2011; KING, 1981) e crocodilianos (KELLY, 2013). As diferenças morfológicas fazem desse órgão uma ferramenta valiosa para inferências filogenéticas e identificação de espécies (EBERHARD, 1985). Essas diferenças também contribuem, ainda, para as frequentes discussões sobre a possibilidade do órgão ter evoluído independentemente em cada grupo, ou se nele existem estruturas homólogas derivadas do órgão copulador de um ancestral comum (KELLY, 2004) (Fig. 1.11).

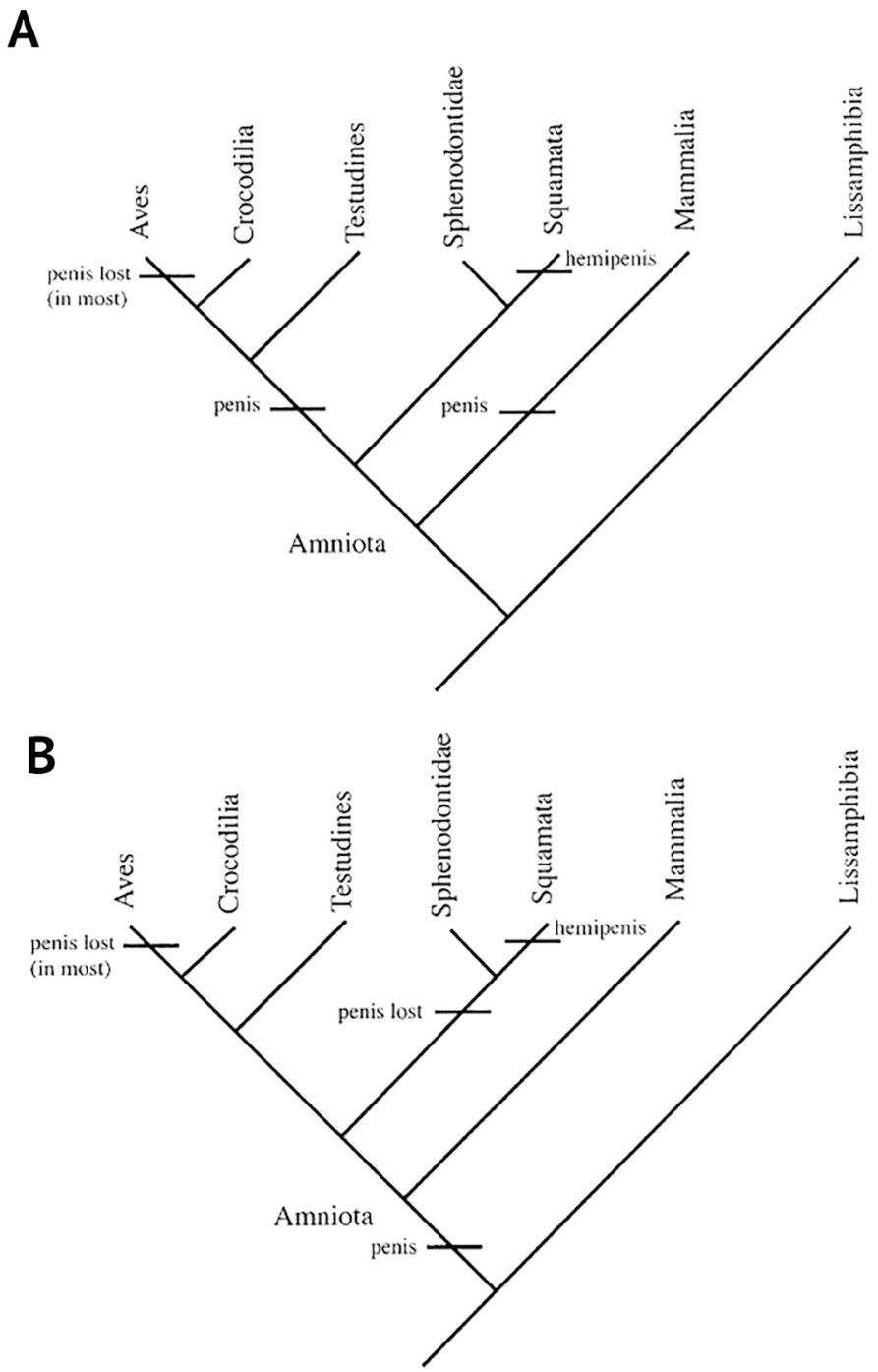


Figura 1.11 – Hipóteses alternativas para a evolução do órgão copulador em Amniotas. Relações filogenéticas adaptadas de Janke *et al.* (2001). **A** – O pênis é um caráter homoplástico em Amniotas. **B** – O pênis é uma sinapomorfia dos Amniotas. Adaptado de Kelly (2002).

Os estudos morfológicos do órgão copulador têm contribuído para detalhar os aspectos funcionais dessa estrutura em diferentes grupos de vertebrados (ANAYA-LÓPEZ; RAMÍREZ-PINILLA, 2017; BRENNAN; PRUM, 2012; OLIVEIRA; MAHECHA, 2000) e também para elucidar como essa estrutura evoluiu (BRENNAN *et al.*, 2008; GREDLER *et al.*, 2014; MONTGOMERIE; BRISKIE, 2007).

Entre os vertebrados, o órgão copulador é registrado nos placodermes, grupo irmão dos demais vertebrados mandibulados, e que viveram desde o Siluriano primitivo até o fim do Devoniano (ZHANG *et al.*, 2010). Em estudos sobre as relações filogenéticas de Placodermi, o órgão copulador, denominado clásper, é considerado homólogo ao órgão copulador dos Chondrichthyes e, assim, são reconhecidos dois estados para o caráter clásper: ósseo e cartilaginoso (DUPRET *et al.*, 2014). Entretanto, Trinajstic *et al.*(2014) descrevem o órgão copulador em placodermes como sendo derivado de uma placa óssea dérmica e não apresenta articulação com elementos da cintura pélvica. Em Antiarchi, o órgão copulador é descrito como uma estrutura óssea dérmica, curvado lateralmente e com um profundo sulco, formando um canal ejaculatório. São descritas ornamentações dérmicas ventrais e, em alguns grupos, a região distal do órgão copulador é ornamentada, apresentando número variável de forames, os quais formam um tubo (LONG *et al.*, 2015) (Fig. 1.12 A).

Em Chondrichthyes, o órgão copulador é uma extensão tubular das extremidades das nadadeiras pélvicas sendo constituído por três elementos (o propterígio, o basipterígio e os radiais). Durante o desenvolvimento embrionário, um fator de transcrição condrogênico promove uma condensação da cartilagem posterior ao basipterígio, formando assim, os principais componentes do esqueleto do órgão copulador dos Chondrichthyes (O'SHAUGHNESSY; DAHN; COHN, 2015). Esse órgão apresenta um sulco ventral denominado como hipopólio, que comunica cranialmente com as glândulas do clásper (LAMARCA, 1964). Essas glândulas secretam um líquido composto de lipídeos, carboidratos e glicoproteínas, que se misturam ao sêmen (LAMARCA, 1964; PIERCY; GELSLEICHTER; SNELSON JR, 2006). A secreção funciona como um fluido lubrificante e um meio de transporte e fornecimento de nutrientes para o esperma (LAMARCA, 1964; PIERCY; GELSLEICHTER; SNELSON JR, 2006) (Fig. 1.12 B).

Como o órgão copulador em Placodermi não tem relação com a nadadeira pélvica, esse órgão não pode ser considerado homólogo ao órgão copulador de

Chondrichthyes, sendo um caráter homoplástico e, portanto, resultado provável de uma evolução convergente e deve ser tratado como um caráter diferente nos estudos filogenéticos (TRINAJSTIC *et al.*, 2014).

A fertilização externa é uma estratégia reprodutiva adotada pela maioria dos Actinopterygios, entretanto nas famílias Anablepidae, Goodeidae e Poeciliidae da ordem Cyprinodontiformes e na família Phallostethidae a estratégia reprodutiva adotada é a fertilização interna (COSTA; AMORIM; MATTOS, 2016; MEYER; LYDEARD, 1993; PARENTI, 1981).

Em Cyprinodontiformes, o órgão copulador é descrito como uma modificação da região anterior da nadadeira anal é denominado gonopódio. Em espécies da família Phallostethidae, o órgão copulador é uma estrutura localizada anterior e ventral à base da nadadeira peitoral e, portanto, não homólogo ao gonopódio (SHIBUKAWA; TRAN; TRAN, 2012). O órgão copulador surgiu independentemente nas famílias Anablepidae, Goodeidae e Poeciliidae e em dois gêneros da tribo Cynopoecilini (*Campellolebias* e *Cynopoecilus*) e os caracteres do órgão copulador têm sido amplamente utilizados em estudos sobre as relações filogenéticas desses grupos (COSTA; AMORIM; MATTOS, 2016). Em Phalostethidae, os caracteres relacionados ao órgão copulador sustentam a monofilia do grupo (PARENTI, 1996) (Fig. 1.12 C – E).

Mesmo o órgão copulador apresentando uma importante função na evolução da fertilização interna, os órgãos copuladores encontrados em Placodermi, Chondrichthyes e Actinopterygii não são considerados órgão genitais verdadeiros, sendo modificações de estruturas não derivadas do sistema genital (OGINO; KATOH; YAMADA, 2004).

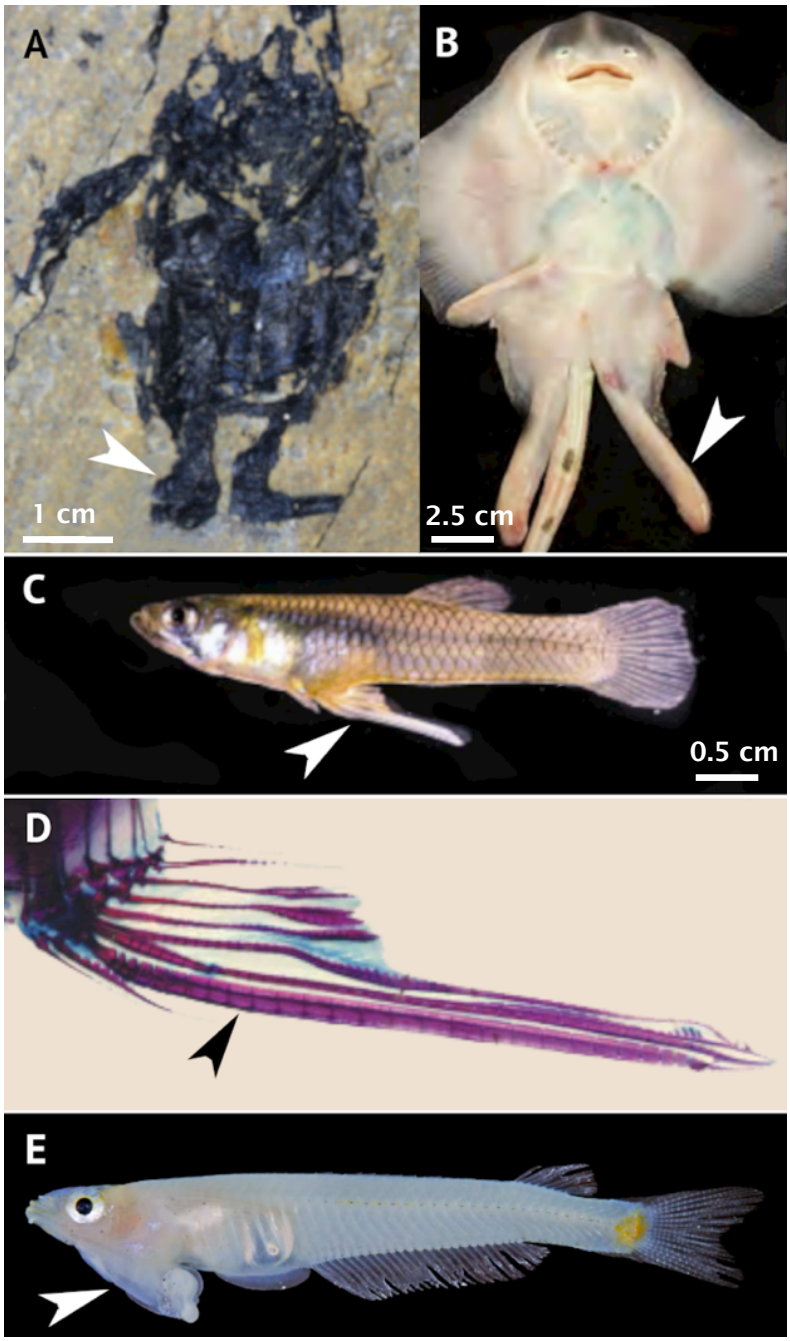


Figura 1.12 – Órgãos copuladores de Placodermi, Chondrichthyes e Actinopterygii. **A** – Órgão copulador de *Microbrachius dicki* (**cabeça de seta**). **B** – Órgão copulador de *Leucoraja erinacea* (**cabeça de seta**). **C** – Órgão copulador de *Gambusia affinis* (**cabeça de seta**). **D** – Nadadeira anal de *Gambusia affinis* diafanizada, 3º raio da nadadeira anal (**cabeça de seta**). **E** – Órgão copulador de *Phallostethus cuulong* (macho 22.5mm) (**cabeça de seta**). Adaptado (LONG *et al.*, 2015) **A**; (O'SHAUGHNESSY; DAHN; COHN, 2015) **B**; (OGINO; KATOH; YAMADA, 2004) **C** e **D**; (SHIBUKAWA; TRAN; TRAN, 2012) **E**.

Nos Lissamphibia, os órgãos copuladores são descritos em Gymnophiona e em *Ascaphus*, um gênero de Anura. Em Gymnophiona, o órgão copulador é uma porção eversível da cloaca, denominada falodeu. O falodeu apresenta ductos mullerianos, que se tornam glandulares durante a atividade reprodutiva e secretam um fluido contendo lipídios e açúcares necessários para a motilidade do esperma (WAKE, 1970) (Fig. 1.13 A).

Em *Ascaphus*, táxon considerado como grupo irmão dos demais anuros (CANNATELLA; HILLIS, 1993), o órgão copulador possui tecido cavernoso, suporte cartilaginoso e glândulas cloacais especializadas (SEVER *et al.*, 2001). Possui articulação com o ísquio que fornece suporte para o órgão copulador, dessa forma é considerada como uma estrutura análoga ao osso peniano encontrado em mamífero. O espaço vascular encontrado no órgão copulador de *Ascaphus* funciona como um esqueleto hidrostático e, portanto, participa da ereção do órgão (VAN DIJK, 1959) (Fig 1.13 B).

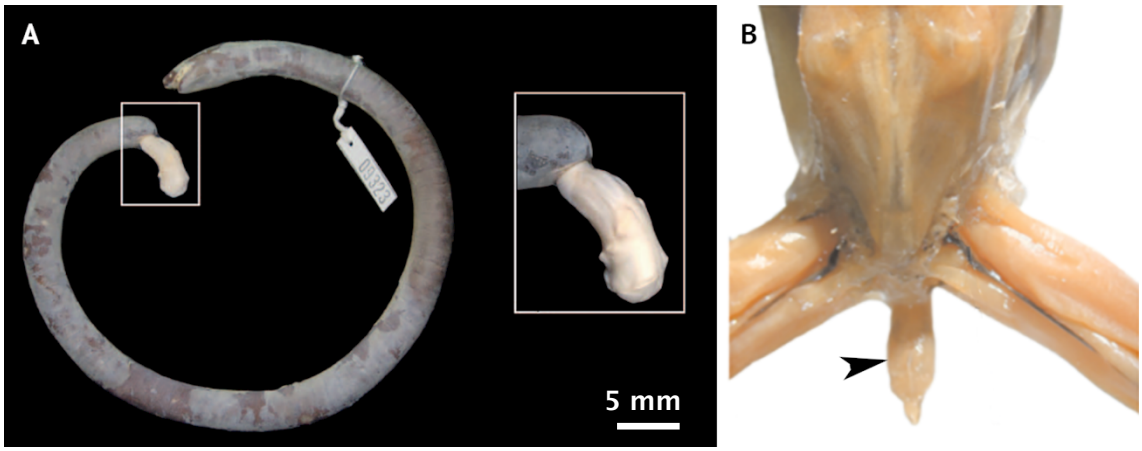


Figura 1.13 – Órgão copulador de Lissamphibia. **A** – Órgão copulador de *Chthonerpeton indistincum*, Gymnophiona. Encarte falodeu evertido. **B** – Vista dorsal do órgão copulador de *Ascaphus truei* (**cabeça de seta**). A pele foi removida. Adaptado (KÜHNEL; REINHARD; KUPFER, 2010) **A**; (PŘIKRYL *et al.*, 2009) **B**.

Em Amniotas, o órgão copulador é uma estrutura que se origina a partir dos brotamentos cloacais laterais pares, presentes na cloaca dos embriões em desenvolvimento, e que formam o tubérculo genital (GREDLER *et al.*, 2014; HERRERA; SHUSTER; PERRITON, 2013; SANGER *et al.*, 2015) (Fig. 1.14 A – F). Apesar de homólogos, os órgãos copuladores dos Amniotas apresentam diferentes caracteres e, por isso, são distinguidos três tipos: o pênis com uretra tubular, o hemipênis par e o falo com sulco

ejaculatório aberto (GERHARDT, 1933; GREDLER *et al.*, 2014; KING, 1981; MOORE; MATHAVAN; GUILLETTE, 2012).

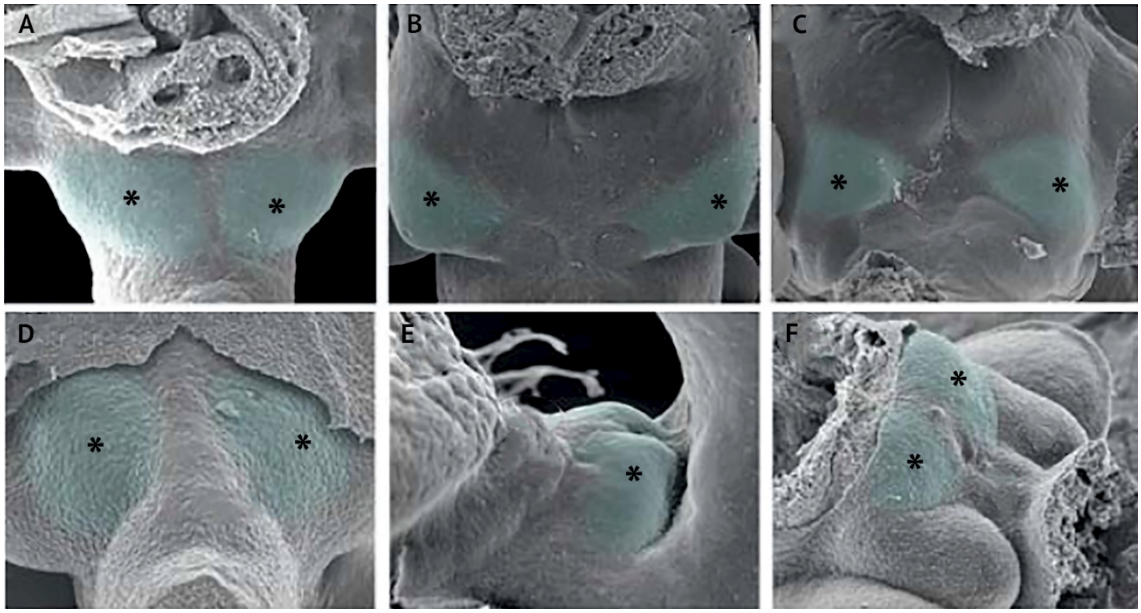


Figura 1.14 – Desenvolvimento embriológico dos brotamentos genitais pares (*****) que formam o tubérculo genital de Amniotas. **A** – *Mus musculus;* **B** – *Anolis carolinensis*; **C** – *Python regius*; **D** – *Trachemys scripta;* **E** – *Gallus gallus;* **F** – *Alligator mississippiensis.* Adaptada de Gredler *et al.*(2014).

O órgão copulador dos mamíferos, denominado pênis, é caracterizado por apresentar dois corpos cavernosos dorsolaterais, revestidos por uma camada de tecido conjuntivo não expansível denominada túnica albugínea, e um corpo esponjoso ventromedial, o qual circunda a uretra (DYCE; SACK; WESTING, 2004; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). Em sua porção distal, o corpo esponjoso se dilata para formar a glande, que é simples em eutérios, bifurcada em didelfimorfa (NOGUEIRA *et al.*, 2004) e dividida em quatro extremidades em monotremados (JOHNSTON *et al.*, 2007) (Fig. 1.15A).

Em Squamata, o órgão copulador se desenvolve a partir dos brotamentos genitais sem a participação do endoderma, tecido responsável pela fusão dos brotamentos laterais, dessa forma o órgão permanece par, e é denominado hemipênis (LEAL; COHN, 2014; PORTO *et al.*, 2013). O hemipênis é formado por um par de órgãos copuladores, situados no interior de longos sacos, que se abrem no exterior do corpo na porção lateral da abertura cloacal (GADOW, 1887). Cada hemipênis possuí um sulco espermático, derivado do ectoderma, aberto em sua porção dorsal, por onde é transferido o espermatozoide para a cloaca da fêmea (PORTO *et al.*, 2013) (Fig. 1.15B).

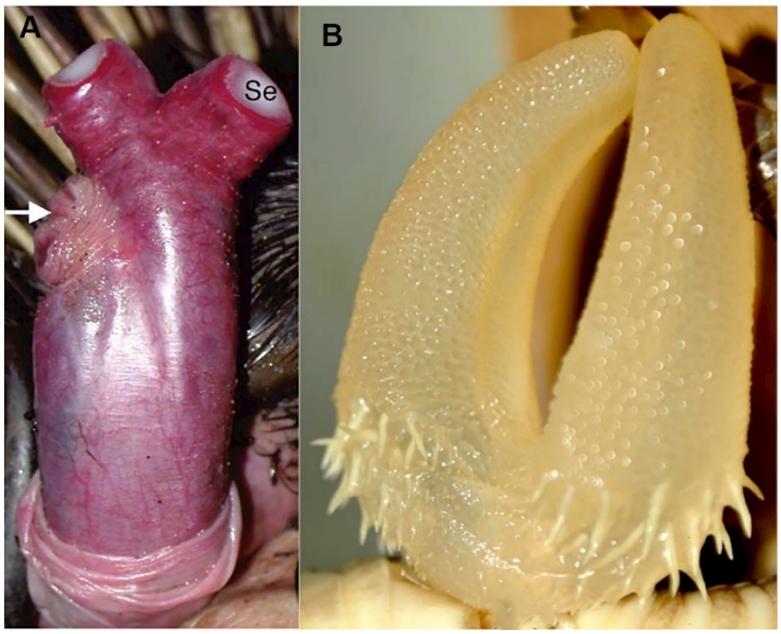


Figura 1.15 – Órgão copulador de Monotremata e Squamata. **A** – Órgão copulador de *Tachyglossus acelatus.* Retração da glande direita (**seta branca**) e glande esquerda com sêmen (**Se**). **B** – Órgão copulador de *Crotalus durissus* evertido. Adaptada de (JOHNSTON *et al.*, 2007) **A**; e (PORTO *et al.*, 2013) **B**.

Em Rhyncocephalia, durante o desenvolvimento embrionário, surgem os brotamentos laterais pares, precursores do tubérculo genital; no entanto os brotamentos não se desenvolvem e o adulto não possui o órgão copulador (SANGER *et al.*, 2015).

Os Testudines e os Archosauria possuem um órgão copulador formado por um único corpo erétil vascular com um sulco ejaculatório aberto que quando em estado de repouso, permanece internamente no assoalho da cloaca (KARDOONG, 2012; KING, 1981).

O órgão copulador em Testudines é formado pela base, corpo e pseudoglande. A base do falo é formada pelo corpo fibroso e pelos dois bulbos dos corpos vasculares. O corpo do falo é constituído pela porção caudal do corpo fibroso, pelo corpo esponjoso, pelos corpos cavernosos vascularizados e pelo sulco ejaculatório. A pseudoglande do falo é uma estrutura elástica e pregueada (GADOW; SELENKA, 1981; KELLY, 2004) (Fig. 1.16A)

Nas Aves, apenas 3% apresentam órgão copulador, (BRENNAN *et al.*, 2008; BRISKIE; MONTGOMERIE, 1997; HERRERA; SHUSTER; PERRITON, 2013; KING, 1981) que pode ser dividido em dois tipos, o falo intromitente, que se insere na cloaca da fêmea, e o falo não-intromitente, que não penetra na cloaca da fêmea (BRENNAN *et al.*, 2008; KING, 1981; OLIVEIRA; MAHECHA, 2000). O falo intromitente é o órgão copulador das aves ratitas, Anseriformes, Cracidae, Galliformes e da maioria dos Tinamiformes. Já o falo não-intromitente está presente nos Galliformes não cracídeos, Podicipediformes e no gênero *Crypturellus* (Tinamiformes) (BRENNAN *et al.*, 2008; MONTGOMERIE; BRISKIE, 2007). O falo intromitente é classificado de acordo com a presença ou ausência de cavidade tubular (MONTGOMERIE; BRISKIE, 2007) (Fig. 1.16B).

O falo intromitente das aves apresenta um corpo fibroso, tecido erétil, que se origina a partir da parede ventral do proctodeo, e um sulco ejaculatório dorsal. Quando o falo está ereto, os lábios do sulco ejaculatório se tornam intumescidos e impedem o desperdício de espermatozoides (KELLY, 2013; MONTGOMERIE; BRISKIE, 2007; OLIVEIRA; MAHECHA, 2000). O falo intromitente apresenta duas regiões distintas; a primeira é a base fixa, composta em sua maioria por tecido fibroso; a segunda é a porção tubular livre, constituída pela porção tubular do falo (OLIVEIRA; MAHECHA, 2000).

Em Crocodilya, o falo é simples, curvo, com forma cilíndrica e se ancora na parede ventral do proctodeo (MOORE; KELLY, 2015; ZIEGLER; OLBORT, 2007), sendo constituído principalmente por tecido conjuntivo denso e fibras colágenas. Sua protrusão ocorre por ação da musculatura cloacal. Apenas a extremidade distal e o sulco espermático possuem tecido vascular que possibilita o ingurgitamento e a intumescência (KELLY, 2013) (Fig. 1.16C).

Um aspecto ainda não elucidado sobre os órgãos copuladores são os sinônimos entre diferentes órgãos ou entre diferentes estruturas Muitas vezes as nomenclaturas utilizadas não consideram as estruturas homólogas. Assim, visando contribuir para uma

compreensão mais ampla da evolução e diversidade morfológica do órgão copulador masculino em vertebrados, serão apresentados aqui os aspectos morfológicos e discutidos aspectos evolutivos do órgão copulador de espécies de Crocodylia.

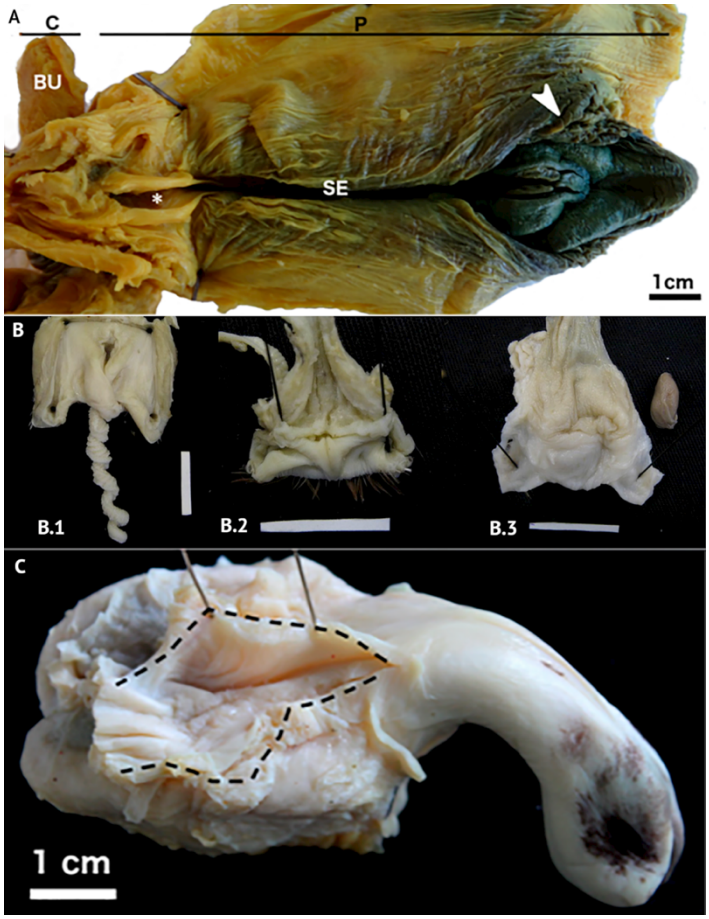


Figura 1.16 – Órgão copulador de Testudines e Archosauria. **A** – Vista dorsal da cloaca e órgão copulador de *Trachemys dorbigni.* A cloaca foi aberta lateralmente, a bexiga urinária (**BU**) está localizada cranialmente e foi deslocada para a esquerda. Seio urogenital (*****) e a abertura caudal do canal peritoneal esquerdo (**cabeça de seta**). **C**, coprodeo; **P**, proctodeo; **SE**, sulco ejaculatório. **B** – Órgão copulador de Aves: B.1 – Falo intromitente de *Rhynchotus sp*., B.2 – Falo não intromitente de *Crypturellus sp*., B.3 – Ausência de órgão copulador em *Leipoa*. Adaptado de Brennan (2013). Escala = 2 cm. **C** – Vista lateral direita do falo de *Caiman yacare,* incisão na parede dorsal do canal peritoneal desde a abertura cranial até a papila (**linha tracejada**).

2 CAPÍTULO II – RELAÇÕES TOPOGRÁFICAS DO CANAL PERITONEAL DE TESTUDINES E CROCODYLIA COM IMPLICAÇÕES EVOLUTIVAS

INTRODUÇÃO

A cavidade celômica, e em especial, as pregas peritoneais relacionadas com os tratos urogenitais e digestivo, têm despertado a atenção dos pesquisadores que estão cada vez mais intrigados e desafiados a entender a complexidade e o funcionamento dessas estruturas.

O celoma é formado dentro do hipômero durante o desenvolvimento embrionário inicial dos vertebrados, e é particionado durante o desenvolvimento embrionário final. A cavidade celômica é revestida por uma membrana derivada do mesoderma, o peritônio, que é formado pela lâmina parietal, uma túnica serosa com epitélio de revestimento simples pavimentoso chamada mesotélio, e uma camada subjacente de tecido conjuntivo, a lâmina própria (KÖNIG; LIEBICH, 2011; LIEM *et al.*, 2012).

A lâmina parietal reveste internamente a parede da cavidade corporal. Essa membrana se reflete, sem solução de continuidade, sobre as vísceras, e as reveste em variável extensão, formando o peritônio visceral (KING; MCLELLAND, 1979; KÖNIG; LIEBICH, 2011; SISSON; GROSSMAN, 1975).

Em Testudines, Crocodylia, Aves e Mammalia, a cavidade celômica é subdividida em cavidade pericárdica, onde está localizado o coração; cavidade pleural, onde estão localizados os pulmões; e cavidade abdominal, onde estão localizados o fígado, pâncreas, baço, parte do trato gastrointestinal e o trato urogenital (KARDOONG, 2012; ROMER; PARSONS, 1981). Há ainda, a cavidade pélvica, onde encontram-se os segmentos finais dos tratos digestivo e urogenital, formando a cloaca (KING, 1981).

A cloaca dos Amniotas é dividida internamente em sentido crâniocaudal em três câmaras distintas: o coprodeo, que se continua cranialmente com o reto; o urodeo, que é a câmara intermédia; e o proctodeo, câmara cloacal que abriga o falo em Testudines e Archosauria. Estas câmaras estão separadas respectivamente pelas pregas rectocoprodeal, coprourodeal e uroproctodeal (GADOW, 1887; GREDLER, 2016; GREDLER *et al.*, 2014; KING, 1981).

Estudos recentes destacam a importância da complexidade estrutural e funcional do peritônio, sugerindo uma reclassificação para a membrana e propondo que a estrutura seja considerada um órgão diferenciado (COFFEY; O'LEARY, 2016). Ele é capaz de excretar e reabsorver fluidos seroaquosos que contêm, além de um sistema de amortecimento fisiológico, células mesoteliais e células imunológicas não específicas (KÖNIG; LIEBICH, 2011).

O peritônio é, assim, a maior e mais complexa membrana serosa disposta no corpo dos Amniotas. As características morfológicas dessa membrana e da cavidade peritoneal têm sido objeto de estudo, principalmente, para mamíferos e animais domésticos (DYCE; SACK; WESTING, 2004; GOODRICH, 1986; KÖNIG; LIEBICH, 2011). Nos machos desses animais, a cavidade peritoneal é descrita como sendo formada por um extenso saco fechado sem comunicação direta com o exterior, enquanto na fêmea, existe uma comunicação potencial com o exterior na abertura abdominal de cada tuba uterina (DYCE; SACK; WESTING, 2004; HEALY; REZNEK, 1998; KÖNIG; LIEBICH, 2011).

Apesar das recentes e relevantes informações sobre o peritônio (BLACKBURN; STANTON, 2014; VAN DER WAL; JEEKEL, 2007), as características dessa membrana e da cavidade peritoneal em Crocodylia estão ainda pouco elucidadas. Os trabalhos sobre o tema se concentram em sucintas descrições anatômicas que relatam a presença de um canal peritoneal comunicando a cavidade peritoneal com a cloaca nos machos de *Crocodylus niloticus* (ANDERSON, 1876; GADOW, 1887; HEALY; REZNEK, 1998); no entanto, frequentemente são poucas as informações discutidas quanto ao nível de detalhes dessas estruturas morfológicas.

Diante do contexto de poucas informações sobre o peritônio, a cavidade peritoneal e suas relações com a cloaca em Crocodylia, o presente estudo propõe investigar os canais peritoneais de espécies de Crocodylia e Testudines, com o objetivo de identificar e descrever a morfologia e sua possível relação com as demais estruturas cloacais, além de discutir aspectos evolutivos desse caráter. Esta descrição básica será fundamental em estudos de anatomia comparativa e sistemática, além da possibilidade de contribuir com informações sobre o funcionamento dos canais peritoneais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 50 cloacas de machos adultos em idade reprodutiva compreendendo sete espécies de Testudines, seis espécies de Crocodylia e quatro espécies de Aves:

- *Caretta caretta* (n= 4). Espécimes encontrados mortos em rede de pesca. A cloaca foi retirada, fixada em formol 10% e cedida pelo projeto TAMAR/ICMBio;

- *Trachemys dorbigni* (n=6), *Chelonoidis carbonaria* (n=3), *Chelonoidis denticulata* (n=3), *Podocnemis unifilis* (n=3) e *Phrynops geoffroanus* (n=3). Todas estavam fixadas em formol 10% e foram cedidas pelo Laboratório da Vida Selvagem e Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS) da Universidade Federal de Uberlândia;

- *Mesoclemmys hogei* (n=1). Espécime encontrado morto na Reserva Ninho da Tartaruga. A cloaca foi retirada, fixada em formol 10% e doada pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios;

- *Crocodylus niloticus* (n=1). Espécime morto na Fundação ZooBotânica de Belo Horizonte e doado ao Museu de Ciências Naturais da PUC Minas, local onde foi retirada a cloaca, fixada em formol 10% e doada para este trabalho;

- *Paleosuchus palpebrosus* (n=1), *Caiman yacare* (n=5), *Caiman crocodilus* (n=5) e *Melanosuchus niger* (n=5). As cloacas pertenciam ao Laboratório da Vida Selvagem e Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS) da Universidade Federal de Uberlândia, estavam fixadas em formol 10% e foram cedidas para este trabalho;

- *Caiman latirrostris* (n=4). Os espécimes foram provenientes do criatório comercial Mr.Cayman. Após o abate dos animais, as cloacas foram retiradas, fixadas em formol 10% e doadas para este trabalho;

- *Rhynchotus rufescens* (n=3), *Struthio camelus* (n=1), *Chauna torquata* (n=1) e *Gallus gallus* (n=1). As cloacas pertenciam ao Laboratório de Biologia Reprodutiva (LABRE) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, estavam fixadas em formol 10% e foram cedidas para o estudo.

A coleta e transporte das amostras biológicas foram autorizadas pelo Sistema de Autorização e Informação sobre Biodiversidade, SISBIO, números 37278-1, 48044-5, 5393/91 e 38761-1.

Para os estudos macroscópicos, as cloacas foram isoladas e seccionadas ao longo da linha mediana dorsal a partir do reto até a abertura cloacal, para evidenciar os canais peritoneais e as estruturas do falo. Para destacar a comunicação dos canais peritoneais para o exterior, foi injetada solução salina 0,9% no recesso da cavidade peritoneal. As cloacas foram dissecadas sob microscópio estereoscópico.

Fragmentos craniais, médios e caudais do canal peritoneal de *T. dorbigni* (n=3), *C. carbonaria* (n=3), *M. hogei* (n=1), *P. geoffroanus* (n=3), *P. palpebrosus* (n=1), *C. yacare* (n=3), *C. crocodilus* (n=3), *M. niger* (n=3) e *C. latirrostris* (n=3) foram seccionados transversalmente (10 a 15 secções por região) e desidratados em série crescente de soluções de etanol (50%-100%). Posteriormente, os tecidos foram embebidos em resina de glicolmetacrilato Technovit 7100 ou parafina Histosec Merck, seccionados em micrótomo Micron GmbH, tipo HM 335 E, com três micrômetros de espessura para resina e seis micrômetros de espessura para parafina. Os tecidos foram corados com hematoxilina-eosina (HE), azul de toluidina borato de sódio ou tricrômico de Masson e coloração para fibras elásticas.

As lâminas foram observadas em microscópio de luz Nikon Eclipse E600, as imagens foram capturadas com câmera digital Axio Cam ERc5s Zeiss e digitalizadas utilizando o software Axio Cam ER ZEN lite 2012.

Para estudos ultraestruturais foram utilizados fragmentos de fossa ejaculatória de *R. rufescens* fixados em glutaraldeído 2,5%. Estes fragmentos foram pós fixados em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato, desidratados em séries crescentes de etanol e acetona e embebidos em resina Epon. Secções semifinas foram analisadas em microscópio de luz para seleção dos melhores campos a serem investigados. Secções ultrafinas (90 nm) obtidas dos campos previamente selecionados foram contrastadas com acetato de uranila 2% e de citrato de chumbo 2%. O material foi observado em microscópio eletrônico de transmissão Tecnai G2-20, no Centro de Microscopia da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Para complementar as informações, foram realizadas 24 horas de observações do comportamento reprodutivo de indivíduos, sendo utilizadas oito horas para

observação de indivíduos de *T. dorbigni* e de *C. carbonaria* no Centro de Triagem de Animais Silvestres – IBAMA, Belo Horizonte e oito horas de observação do comportamento reprodutivo de *C. yarace* em campo. As observações seguiram o método *ad libitum* (DEL-CLARO, 2004). Estas observações foram realizadas durante e fora do período reprodutivo.

Para determinar o perfil proteico do líquido peritoneal e cloacal, foi coletada uma amostra de 10 mL dos líquidos peritoneais e cloacais das espécies *T. dorbigni*, *C. carbonaria* e *P. palpebrosus* e empregada a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE 12%, para determinação dos pesos moleculares das proteínas dos líquidos peritoneais e cloacais seguindo o método de Laemmli (LAEMMLI, 1970).

O perfil cromatográfico do líquido cloacal e do líquido peritoneal de *P. palpebrosus* foi obtido em HPLC de fase reversa no sistema cromatográfico LC-20A utilizando coluna analítica 4,6 mm x 150,0 mm C8 (Grace Vydac) equilibrada com 0,1% (v/v) de ácido trifluoracético (TFA) a taxa de fluxo de 1,0 mL / min. O gradiente da solução B aumentou de 0% para 60% em 60 min. A absorvância foi monitorada a 214 e 280 nm.

Para o estudo evolutivo, o caráter canal peritoneal (presença ou ausência) e o caráter papila do canal peritoneal (presença/ausência) foram mapeados em uma árvore de consenso filogenético para Amniotas (CRAWFORD, N. G. *et al.*, 2012; CRAWFORD, NICHOLAS G. *et al.*, 2015; GATESY; AMATO, 2008; WANG *et al.*, 2014) e, em seguida, foi realizada reconstrução do estado ancestral, adotando o método de máxima parcimônia usando o software Mesquite 3.2 (MADDISON; MADDISON, 2018).

Uma vez que não existe nomina anatômica zoológica, as denominações das estruturas descritas seguem, quando possível, as recomendações propostas pela *Nomina Anatomica Veterinaria* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE, 2017) e *Nomina Anatomica Avium* (KING, 1993).

RESULTADOS

Aspectos macroscópicos

A cloaca das espécies de Testudines estudadas encontra-se localizada dentro do canal pélvica, limitada dorsalmente pela coluna vertebral, ventralmente pelos púbis e

ísquios e lateralmente pelos ílios. Caudalmente, a porção final da cloaca forma a abertura cloacal que ultrapassa o arco isquiático e situa-se no nível da base da cauda. Cranialmente, a cloaca é a continuação caudal do reto, do qual se diferencia por um discreto aumento em seu diâmetro.

Os compartimentos cloacais coprodeo e urodeo não estão bem definidos, uma vez que as pregas retocoprodeal e coprourodeal não existem. A região mais cranial da cloaca, junto com a bexiga urinária e a base do falo, projetam-se para a cavidade corporal ultrapassando a abertura cranial do canal pélvico (Fig. 2.1).

O seio urogenital desemboca na parede ventral, na região mais cranial do proctodeo sobe o remanescente da membrana urorectal. No seio urogenital desembocam os ductos deferentes e os ureteres. Cranialmente, o seio urogenital recebe o canal da bexiga urinária, enquanto, caudalmente se encontra o sulco ejaculatório que se estende dorsalmente no falo até a extremidade distal do órgão (Fig. 2.1)

Desta forma, nas tartarugas, o proctodeo é o único compartimento da cloaca onde as vias genitais, urinárias e digestiva confluem para formar uma cloaca proctodeal. Na parede ventral do proctodeo encontra-se alojado o órgão copulador ou falo. Ele é formado pela base, corpo e extremidade. A base do falo, quando o órgão está em repouso, encontra-se localizada cranialmente à abertura do canal pélvico, recoberta pelo peritônio visceral (Fig. 2.2A–E).

A base do falo é formada pelos ramos fibrosos envolvidos pelos corpos vasculares. Caudalmente, estes ramos se fusionam formando um corpo fibroso único, o corpo do falo, que se encontra rodeado pelos corpos vasculares. A mucosa do proctodeo se invagina ao longo do dorso do corpo fibroso do falo e forma o sulco ejaculatório. A parte mais caudal dessas estruturas termina formando a extremidade distal ou pseudo glande (Fig. 2.2A–E).

Na porção mais caudal da cavidade corporal, no nível da abertura cranial da pelve, a lâmina parietal do peritônio se reflete ventralmente para formar a lâmina visceral do peritônio. Essa lâmina recobre o reto, formando o mesorreto. A lâmina visceral recobre também em diferentes extensões os rins e os testículos, recobre a porção mais cranial do coprodeo, os ductos deferentes e ureteres formando o recesso urorretal. Os ductos deferentes e ureter seguem até a porção mais cranial do seio urogenital (Fig. 2.1).

A lâmina visceral do peritônio reveste também a parede cranial do seio urogenital e a bexiga urinária formando o recesso vesicourogenital e recobre também os ramos da base do falo. Lateralmente à porção cranial do seio urogenital a lâmina visceral do peritônio se invagina caudalmente para formar recessos peritoneais, que formam as aberturas craniais dos canais peritoneais, de formatos circulares e que apresentam variações conforme o grau de contração da musculatura do entorno (Fig. 2.3A–D).

Os canais peritoneais são estruturas que se projetam caudalmente para dentro do falo, acompanhado lateralmente o sulco ejaculatório até a extremidade caudal do órgão onde desembocam (Fig. 2.2E). Em *C. caretta,* a lâmina visceral do peritônio forma um discreto recesso de fundo cego lateral ao seio urogenital e os canais peritoneais estão fechados (Fig. 2.3A).

A cloaca das espécies de Crocodylia estudadas é constituída pela continuação caudal do reto do qual se diferencia pelo aumento do diâmetro, não existindo a prega rectocoprodeal. A cloaca está localizada ao longo do canal pélvico e é limitada dorsalmente pelas vértebras sacrais e caudais; lateralmente pelos ílios, ísquios e pubes; e ventralmente, pelas extremidades distais dos ísquios e púbis. A porção final da cloaca forma a abertura cloacal, caudal à sínfise isquiática (Fig. 2.4).

O compartimento cranial da cloaca, o coprodeo, é parcialmente revestido externamente pela lâmina visceral do peritônio. Internamente, esse compartimento possui mucosa pregueada e nele desembocam os ureteres. O urodeo não apresenta cranialmente a prega coprourodeal. Os ductos deferentes desembocam no seio genital, estrutura localizada na base do falo. O proctodeo é o compartimento caudal da cloaca, possui mucosa não pregueada e na parede ventral desse compartimento encontra-se o falo (Fig. 2.4).

O falo é formado pela base, corpo e extremidade. A base do falo, quando o órgão está em repouso, encontra-se localizada cranialmente à abertura do canal pélvico. A base do falo é formada pelos dois ramos do corpo fibroso e pelos corpos vasculares, localizados dorsomedialmente aos ramos da base dos corpos fibrosos (Fig. 2.5A–B). O corpo do falo é formado pela continuação caudal do corpo fibroso, pelos corpos vasculares e pelo sulco ejaculatório. O sulco ejaculatório se estende da base do corpo do falo até a extremidade distal do órgão (Fig. 2.6A–F).

No nível da abertura cranial da pelve, a lâmina parietal do peritônio se reflete ventralmente para formar a lâmina visceral do peritônio. Essa lâmina reveste a região caudal do reto, onde forma o mesorreto e a porção cranial do coprodeo. Reveste também os rins e os testículos, formando os recessos retourogenitais. Reveste os ureteres e ductos deferentes. O ureter segue dorsalmente ao ducto deferente e se abre na superfície dorsal da parede do coprodeo; o ducto deferente segue ao longo da borda caudolateral do testículo até a base do falo, onde desemboca formando um seio genital que se comunica com o sulco ejaculatório (Fig. 2.4). A lâmina visceral do peritônio forma, ao lado do coprodeo, os recessos aqui denominados recessos paracoprodeais (Fig. 2.5C–D).

Os recessos paracoprodeais formam as aberturas craniais do canal peritoneal, estruturas em forma de funil cônico que se projetam caudo dorsalmente em direção aos ramos do falo até se abrirem em um par de papilas no corpo do falo (Fig. 2.6A–F).

As aberturas caudais dos canais peritoneais desembocam em papilas de diferentes formatos e localização, denominadas aqui como papilas dos canais peritoneais. Foram observadas papilas cônicas em *C. latirrostris*, *C. yacare* e *P. palpebrosus*; em *M. niger* a papila tem um formato lanceolado. A papila do canal peritoneal em *C. latirrostris* está localizada lateralmente ao corpo do falo, em *M. niger* e *C. yacare* a papila está localizada dorsolateralmente ao corpo do falo, e em *P. palpebrosus* a papila é dorsal ao corpo do falo. A papila na espécie *C. crocodilus* está localizada em uma prega lateral ao corpo do falo. Todas as papilas estão localizadas na porção cranial do corpo do falo (Fig. 2.6A–F).

A cloaca das espécies de Aves analisadas está localizada em sua maior parte caudalmente ao canal pélvico. A cloaca é uma continuação caudal do reto, do qual se diferencia pelo drástico aumento do diâmetro. Dorsalmente é limitada pelo sinsacro, vértebras caudais e pigóstilo, ventralmente pelos músculos abdominais e, lateralmente, somente a parte cranial do coprodeo é limitada pelos ísquios e púbis. A porção final da cloaca ultrapassa as extremidades dos ísquios e púbis e comunica-se com o exterior através da abertura cloacal. Somente o canal pélvico das aves apresenta-se peritonizado (Fig. 2.7).

A cloaca não apresenta seio urogenital e encontra-se formada por três compartimentos: coprodeo, urodeo e proctodeo. O coprodeo é o segmento cranial que

se continua com a porção final do reto. O urodeo é o compartimento cloacal médio, limitado cranialmente pela prega coprourodeal e caudalmente pela prega uroproctodeal. Os ductos deferentes desembocam no urodeo através das papilas dos ductos deferentes, estruturas que se projetam medialmente na região denominada fossa ejaculatória. Em aves com falo como a *Rhynchotus rufescens,* os ureteres desembocam no coprodeo. Caudolateralmente às papilas dos ductos deferentes, na parede do urodeo, encontram-se os corpos vasculares paracloacais (Fig. 2.8A–D).

O proctodeo é o compartimento cloacal situado entre a prega uroproctodeal e a abertura cloacal. Nesse compartimento é encontrado um falo não intromitente em *G. gallus*, e um falo intromitente não eversível em *C. torquata* e *S. camelus* (Fig. 2.8B–D). Nos espécimes de aves observados neste estudo, não foram encontrados na parede caudal da cavidade corporal recessos peritoneais e canais peritoneais (Fig. 2.8A).

Histologia

Os canais peritoneais das espécies de Testudines estudadas são formados por uma invaginação da lâmina visceral do peritônio denominada histologicamente de túnica serosa. O mesotélio de revestimento voltado para o lúmen do canal possui aspecto simples cúbico em diferentes locais. A camada subepitelial ou lâmina própria da serosa é formada por um espessamento de tecido conjuntivo moderadamente denso de espessura variável com fibras colágenas de diferentes espessuras e organizadas em diferentes direções. Mais profundamente a lâmina própria serosa adquire aspecto de tecido conjuntivo frouxo e serve de união com os tecidos da cloaca e do falo (Fig. 2.9A–F).

Ao nível do seio urogenital, o canal peritoneal encontra-se localizado lateralmente ao reto e medialmente ao ducto deferente. Nessa região, encontram-se, laterais ao canal peritoneal, feixes de musculatura lisa dispostos em diferentes direções (Fig. 2.9A). O canal peritoneal segue dorsalmente ao corpo fibroso do falo até a formação do sulco ejaculatório. A partir desse ponto, o canal peritoneal é localizado lateralmente ao sulco ejaculatório e segue até a extremidade distal do falo, local onde desemboca a abertura caudal do canal peritoneal em formato de fenda. Na extremidade distal do falo, o tecido conjuntivo também se apresenta moderadamente denso, de espessura variável, com fibras colágenas de diferentes espessuras, e organizadas em

diferentes direções. Não foram encontrados feixes de musculatura lisa ao redor dos canais peritoneais (Fig. 2.9E–F).

A mucosa do seio urogenital apresenta-se pregueada e nessa região desembocam o ducto deferente e o ureter. Na parede do seio urogenital, o ducto deferente encontra-se rodeado por várias camadas de fibras musculares lisas dispostas circularmente. Neste nível, o ducto deferente apresenta epitélio simples cilíndrico e é rodeado por uma grande quantidade de glândulas túbulo acinosas de aspecto mucoso, que se distribuem uniformemente na mucosa do seio urogenital (Fig. 2.10A).

Os canais peritoneais das espécies de Crocodylia estudadas são formados também por uma invaginação da lâmina visceral do peritônio denominada histologicamente de túnica serosa. O mesotélio de revestimento voltado para o lúmen do canal possui aspecto pavimentoso simples. A camada subepitelial ou lâmina própria da serosa é formada por um espessamento de tecido conjuntivo moderadamente denso, de espessura variável, com fibras colágenas de diferentes espessuras e organizadas em diferentes direções. Mais profundamente, a lâmina própria serosa adquire aspecto de tecido conjuntivo frouxo e serve de união com os tecidos da cloaca e do falo.

Na região cranial, na face lateral do canal peritoneal encontra-se uma espessa camada de feixes de musculatura lisa, dispostos em diferentes direções (Fig. 2.11A–C).

Na região média do canal peritoneal, a lâmina própria serosa é formada por uma espessa camada de tecido conjuntivo denso contendo grandes quantidades de fibras colágenas em diferentes direções, feixes vasculares e plexo vásculo nervoso (Fig. 2.12A–F). O tecido conjuntivo é envolvido externamente por tecido conjuntivo frouxo e feixes de musculatura lisa. Em *C. yacare*, foram encontrados feixes de musculatura estriada esquelética no tecido conjuntivo frouxo que envolve o canal peritoneal (Fig. 2.12A–B).

Na região caudal, ao nível da papila do canal peritoneal, o epitélio voltado para o lúmen do canal encontra-se pregueado. Somente na espécie *C. crocodilus* o epitélio apresenta-se não pregueado. Distribuídas entre as fibras colágenas do tecido conjuntivo, foram encontradas escassas fibras elásticas (Fig. 2.13A–D).

O seio genital é uma estrutura de mucosa não pregueada envolvida por tecido conjuntivo denso com grandes quantidades de fibras colágenas. No seio genital desembocam os ductos deferentes, estruturas envolvidas por tecido conjuntivo denso

contínuo ao seio. Não foram observadas glândulas nos ductos deferentes e os espermatozoides formam uma massa densa e compacta (Fig. 2.10B).

Nas aves, a mucosa da fossa ejaculatória apresenta pregueamento longitudinal, onde os ductos deferentes desembocam, através de duas papilas cônicas, ambas formadas por epitélio pseudoestratificado. Esses ductos são caracterizados pela mucosa lisa e dilatam-se, formando os receptáculos dos ductos deferentes. Caudolateralmente aos receptáculos dos ductos deferentes, situam-se os corpos vasculares paracloacais (Fig. 2.10C).

Os corpos vasculares paracloacais são estruturas pares localizadas caudolateralmente à fossa ejaculatória. São envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, circundados por feixes de musculatura lisa. Entre o tecido conjuntivo envolvente e o cerne do corpo vascular paracloacal são formados tufos retiformes de capilares sanguíneos rodeados por espaços linfáticos intercomunicantes. Esses espaços linfáticos comunicam-se com espaços intercelulares do epitélio do assoalho da fossa ejaculatória (Fig. 2.10C–D).

Eletroforese

Durante as observações, foi possível identificar uma grande quantidade de líquido no interior da cloaca, de aspecto transparente e pouco viscoso.

Os resultados da análise eletroforética dos líquidos retirados da cavidade peritoneal e da cloaca evidenciaram a presença de uma banda de proteína próxima de 100 KDa para a espécie *T. dorbigni* e oito bandas de proteínas variando de 15 KDa a 250 KDa para as espécies *C. carbonaria* e *P. palpebrosus*. Comparando os resultados do perfil eletroforético dos líquidos cloacais e peritoneais foi possível observar forte similaridade proteica entre eles. O perfil cromatográfico analisado pela técnica de fase reversa HPLC para o líquido cloacal e peritoneal de *P. palpebrosus* confirma os valores obtidos na eletroforese mostrando apenas pequenas diferenças de concentração entre as proteínas (Fig. 2.14 e 2.15).

Reconstrução do estado ancestral

De acordo com o resultado da análise de reconstrução do estado ancestral obtido nesse estudo, o canal peritoneal estava presente no ancestral de Testudines e Archosauria e foi perdido nas Aves. A papila do canal peritoneal é uma sinapormorfia de Crocodylia (Fig. 2.16).

DISCUSSÃO

Os Amniotas apresentam uma ampla variação morfológica da cloaca, o que está intimamente relacionado com o desenvolvimento embrionário da membrana urorretal, do seio urogenital, do órgão copulador e da membrana cloacal (DYCE; SACK; WESTING, 2004; KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). Em Testudines e Crocodylia, a cloaca está localizada ao longo do canal pélvico enquanto nas Aves está localizada parcialmente no canal pélvico. Somente a porção cranial do coprodeo está localizada dentro do canal pélvico e encontra-se revestida pela lâmina visceral do peritônio, sendo essa a única câmara cloacal intraperitoneal. Os demais compartimentos cloacais são retroperitoneais e projetados caudalmente além da cavidade do corpo, ultrapassando os limites do canal pélvico. Esta característica foi previamente descrita no tinamiforme *Nothura maculosa* (OLIVEIRA; MAHECHA, 1996).

A compartimentalização embrionária da cloaca está intimamente relacionada com o desenvolvimento da membrana urorretal que se forma a partir do mesênquima do endoderma e divide o intestino posterior em câmara retoanal dorsalmente e seio urogenital ventralmente. O grau de desenvolvimento dessa membrana determina o tamanho relativo da cloaca (HYNES; FRAHER, 2004; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010; KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973).

A cloaca dos Ammiotas é descrita como tendo três compartimentos: o coprodeo é o compartimento mais cranial e comunica com a parte final do intestino; o urodeo, o compartimento médio, recebe a urina e sêmen; e o proctodeo aloja as estruturas copulatórias. Estes compartimentos encontram-se separados pelas pregas retocoprodeal, coprourodeal e uroproctodeal (GADOW, 1887; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010; KARDOONG, 2012; KING, 1981).

Em mamíferos Eutheria, nos estágios iniciais do desenvolvimento embrionário, a membrana urorretal que se forma a partir do mesênquima do endoderma, divide a cloaca embrionária em dois canais que se abrem separadamente: retoanal dorsalmente e seio urogenital ventralmente (DYCE; SACK; WESTING, 2004; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010; KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995). Em contraste com os Eutheria, em alguns Metatheria, Monotremata, Squamata, Testudines, Crocodylia Aves e Lissamphibia a cloaca persiste em adultos (KARDOONG, 2012; KING, 1981).

A compartimentalização da cloaca das espécies de Testudines e Crocodylia não é similar à descrição apresentada na literatura, já que ela não se apresenta dividida em três compartimentos bem separados pelas pregas coprourodeal e uroproctodeal, repectivamente. Esta compartimentalização parece ser uma característica compartilhada somente pelas Aves (GADOW, 1887; KING, 1981; OLIVEIRA *et al.*, 2004; OLIVEIRA; MAHECHA, 1996). Nas Aves, a presença dos três compartimentos pode ser explicada pelo fato delas apresentarem o seio urodeal e não desenvolver o seio urogenital e a membrana anorretal (RATTRAY, 1908; ROMANOFF, 1960).

Nas cloacas analisadas neste trabalho, foram observados o aumento do diâmetro e a continuidade do coprodeo com o reto, características que indicam que a função desse compartimento está relacionada com a recepção e armazenamento de fezes, como também sugerido para outras espécies (KING, 1981; OLIVEIRA; MAHECHA, 1996).

A compartimentalização das cloacas de Testudines é similar à descrita para *Trachemys scripta*, na qual um remanescente do septo urorretal permanece formando o seio urogenital próximo à base do falo (LARKINS; COHN, 2014) e, por esse motivo, a cloaca não apresenta um urodeo diferenciado. Em Eutheria, no estágio embrionário, a membrana urorretal se desenvolve, formando o septo urorretal que, adicionado às células do mesênquima também forma o seio urogenital (KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995). No entanto, em nossos estudos, foi observado que o ureter e o ducto deferente desembocam separadamente na face do seio urogenital e em Eutheria o ureter e o ducto deferente se convergem e desembocam na região do trígono vesical (HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010).

Em Crocodylia, as sequências das modificações da cloaca ainda não estão bem elucidadas na literatura. O local onde desemboca o ureter é divergente dos resultados apresentados por Cabrera; Garcia (2004). Em nossos resultados, o ureter desemboca na parede dorsal do coprodeo, região diferente do seio urogenital, corroborando a descrição de Oliveira *et al.* (2004) para *C. yacare*. Por esse motivo, o local onde o ducto deferente desemboca, na base do falo, foi aqui denominado seio genital.

Na cloaca das aves, do presente estudo, o compartimento do urodeo, na fossa ejaculatória, é o local onde desembocam os ductos deferentes e ureteres. Essa característica é comum ao seio urogenital encontrado nos Testudines e, possivelmente, a fossa ejaculatória seja um remanescente da membrana urogenital. As

desembocaduras dos ductos deferentes encontram-se no ápice de duas papilas cônicas como também descrito para *Nothura maculosa* (OLIVEIRA; MAHECHA, 1996, 2000), *Rhea americana* (SANTOS *et al.*, 2011) e outras aves (GADOW, 1887; KING, 1981).

O proctodeo é o compartimento mais caudal da cloaca e, na parede ventral desse compartimento, encontra-se o órgão copulador (KING, 1981), estrutura derivada dos brotamentos do tubérculo genital que se desenvolvem medialmente ao brotamento dos membros inferiores, mais próximos à membrana cloacal (GREDLER, 2016; GREDLER *et al.*, 2014; GREDLER; SEIFERT; COHN, 2014; HERRERA; BRENNAN; COHN, 2014). Nesse trabalho, caracterizamos o falo como o órgão copulador masculino dos Testudines e Archosauria. O falo é formado por um sulco ejaculatório dorsal, tecido erétil, por um corpo fibroso que dá suporte ao tecido erétil e canais peritoneais.

Na parede caudal da cavidade corporal de Testudines e Crocodylia foram observados recessos peritoneais formando canais que se projetam caudalmente em direção ao falo. A presença desses canais foi também relatada para alguns gêneros de Testudines como *Geomyda, Cyclemis, Pelochelys* (ANDERSON, 1876) e *Clemmys* (JONES, 1915) e para a espécie de Crocodylia, *C. niloticus* (GADOW, 1887).

Em estudos com *C. crocodilus* (CABRERA; GARCIA, 2004; CABRERA *et al.*, 2007), as definições das estruturas do canal peritoneal são conflitantes com as características incialmente descritas para o canal por Gadow (1887). Em *C. porosus,* a papila do canal peritoneal é definida como uma papila proctodeal e não são discutidas as relações da papila com o canal peritoneal (JOHNSTON *et al.*, 2014).

A cavidade peritoneal contém um fluido, o qual se apresenta sob a forma de um líquido transparente, estéril e viscoso produzido pelas células do peritônio como um ultrafiltrado do plasma (BURGESS, 2004; MUTSAERS, 2002). As células cúbicas encontradas no canal peritoneal indicam que são células mesoteliais em intensa atividade biossintética e que podem ter relação com a produção e reabsorção desse fluido, característica também observada por Mutsaers (2002) e Van Der Wal e Jeekel (2007). Também pode se tratar de outro tipo celular ainda não descrito. No mesentério do coprodeo do tinamiforme *N. maculosa* (OLIVEIRA; MAHECHA, 1996) foi descrito um epitélio de revestimento formado por células cúbicas ciliadas; entretanto os autores não discutem este achado.

O líquido peritoneal contém água, eletrólitos, solutos, proteínas e células. Esse líquido passa dos capilares peritoneais através dos espaços intercelulares do peritônio para a cavidade peritoneal e para espaços linfáticos circundantes (BLACKBURN; STANTON, 2014). A semelhança do perfil proteico entre o líquido cloacal e peritoneal indica que o liquido peritoneal é, também, drenado para a cloaca através dos canais peritoneais. As pequenas variações encontradas no perfil eletroforético entre os dois líquidos provavelmente estão relacionadas com a capacidade de secreção e reabsorção do mesotélio, característica também observada em outros estudos (BLACKBURN; STANTON, 2014; VAN DER WAL; JEEKEL, 2007).

O tecido muscular liso encontrado no entorno da abertura cranial do canal peritoneal indica a existência de algum tipo de controle autônomo sobre o diâmetro do lúmen do canal. O pregueamento da mucosa da parede do canal peritoneal corrobora esta ideia e os feixes de musculatura estriada esquelética em *C. yacare* sugerem, ainda, algum tipo de controle nervoso somático sobre o canal peritoneal.

Em nosso estudo, observamos uma grande quantidade de líquido cloacal diferente de sêmen e urina e com um perfil proteico muito similar ao líquido peritoneal, corroborando a descrição de um líquido claro e menos viscoso que o sêmen presente na cloaca de *C. porosus* (JOHNSTON *et al.*, 2014).

O líquido peritoneal drenado para a cloaca através dos canais peritoneais protege a superfície da mucosa cloacal do atrito das fezes e dos efeitos de substâncias tóxicas presentes na urina.

As glândulas reprodutivas acessórias, ou seja, vesículas seminais, próstata e glândula bulbouretral encontrados em Eutheria, estão ausentes em Testudines, Crocodylia e Aves (LAKE, 1981). Entretanto, na mucosa do seio urogenital de tartaruga foram encontradas glândulas túbulo acinosas mucosas que sugerem ser homólogas com a próstata de eutérios uma vez que apresentam a mesma origem embrionária. Os fluidos secretórios produzidos por esses órgãos se misturam ao sêmen (MANN; LUTWAK-MANN, 1981) e podem proporcionar um meio adequado para a viabilidade do esperma dentro do trato reprodutor feminino, desempenhando um papel importante na fertilidade (MCGRAW; SUAREZ; WOLFNER, 2016). A presença de grande quantidade de líquido peritoneal no interior da cloaca durante o período reprodutivo e cópula dos

animais indica que o líquido peritoneal drenado para a cloaca pode, de alguma forma, auxiliar no sucesso reprodutivo dos animais.

Nas aves, não foram encontrados canais peritoneais; no entanto, os fluidos dos corpos vasculares paracloacais contribuem com efeito favorável na capacidade de fertilização espermática dos indivíduos (FUJIHARA, 1992).

A reconstrução do estado ancestral em um cenário evolutivo, com base em relações filogenéticas dos Amniotas propostos por Crawford *et al.* (2012) e Wang *et al.* (2014), mostrou que o canal peritoneal de Testudines e Crocodylia é uma estrutura homóloga e provavelmente deriva de um canal peritoneal presente no ancestral de Testudines e Archosauria e que foi perdido em Aves.

O estudo anatômico e histológico do canal peritoneal mostrou-se uma ferramenta importante para a compreensão da evolução das estruturas cloacais. Entretanto novos estudos são necessários para realizar uma análise comparativa mais ampla e profunda dos caracteres cloacais e genitais.

FIGURAS CAPÍTULO II

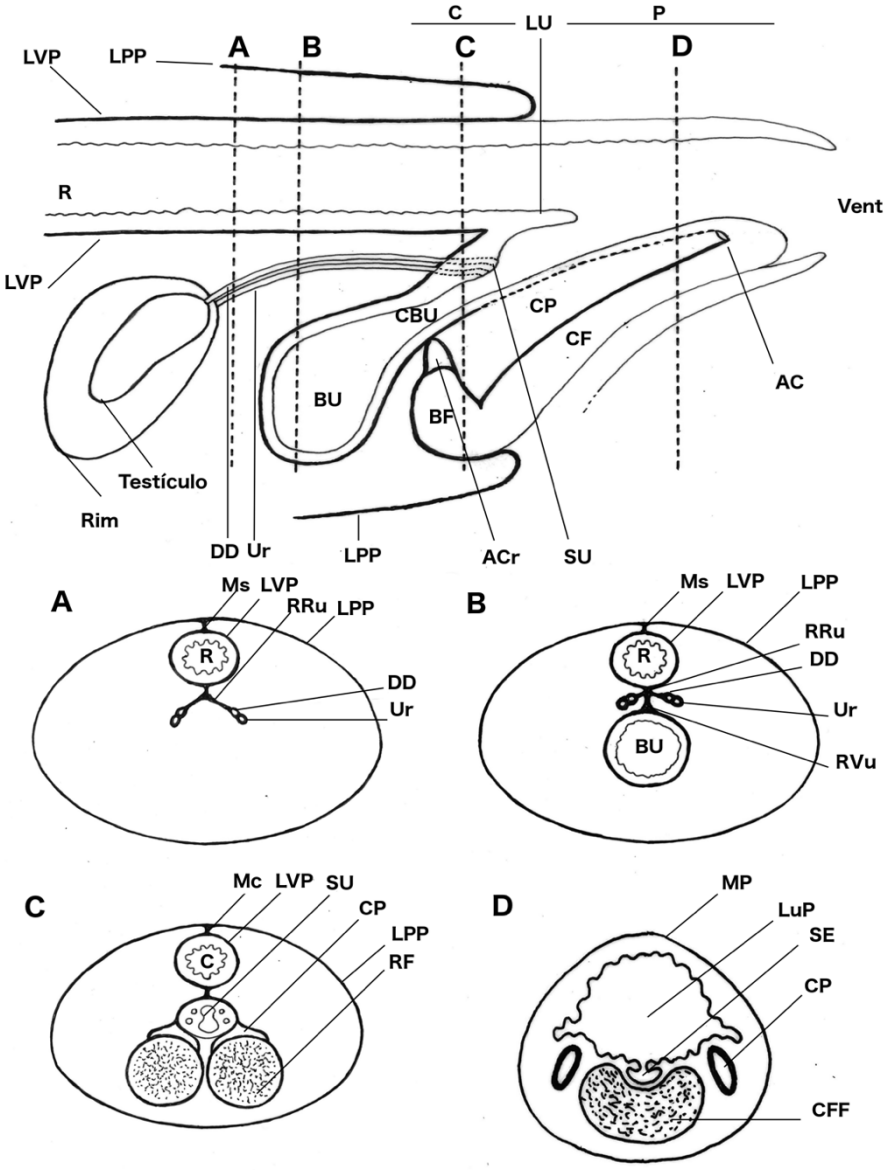


Figura 2.1 – Desenhos esquemáticos dos cortes sagital e transversais da cloaca de Testudines. A direção cranial encontra-se à esquerda. Cortes transversais: **A** – caudal aos rins e testículos, **B** – ao nível da bexiga urinária, **C** – ao nível da base do falo e **D** – próximo à desembocadura caudal dos canais peritoneais. Abreviações: **AC**, abertura caudal do canal peritoneal; **ACr**, abertura cranial do canal peritoneal; **BF**, base do falo; **BU**, bexiga urinária; **C**, coprodeo; **CBU**, canal da bexiga urinária; **CF**, corpo do falo**; CFF**, corpo fibroso do falo; **CP**, canal peritoneal; **DD**, ducto deferente; **LuP**, lúmen do proctodeo**; LPP**, lâmina parietal peritônio; **LVP**, lâmina visceral do peritônio; **LU**, lamela uroretal; **Mc**, mesocoprodeo; **MP**, mucosa do proctodeo; **Ms**, mesorreto; **P**, proctodeo; **R**, reto; **RF**, ramo da base do falo; **RRu**, recesso retourogenital; **RVu**, recesso vesicourogenital; **SE**, sulco ejaculatório; **SU**, seio urogenital; **Ur**, ureter.

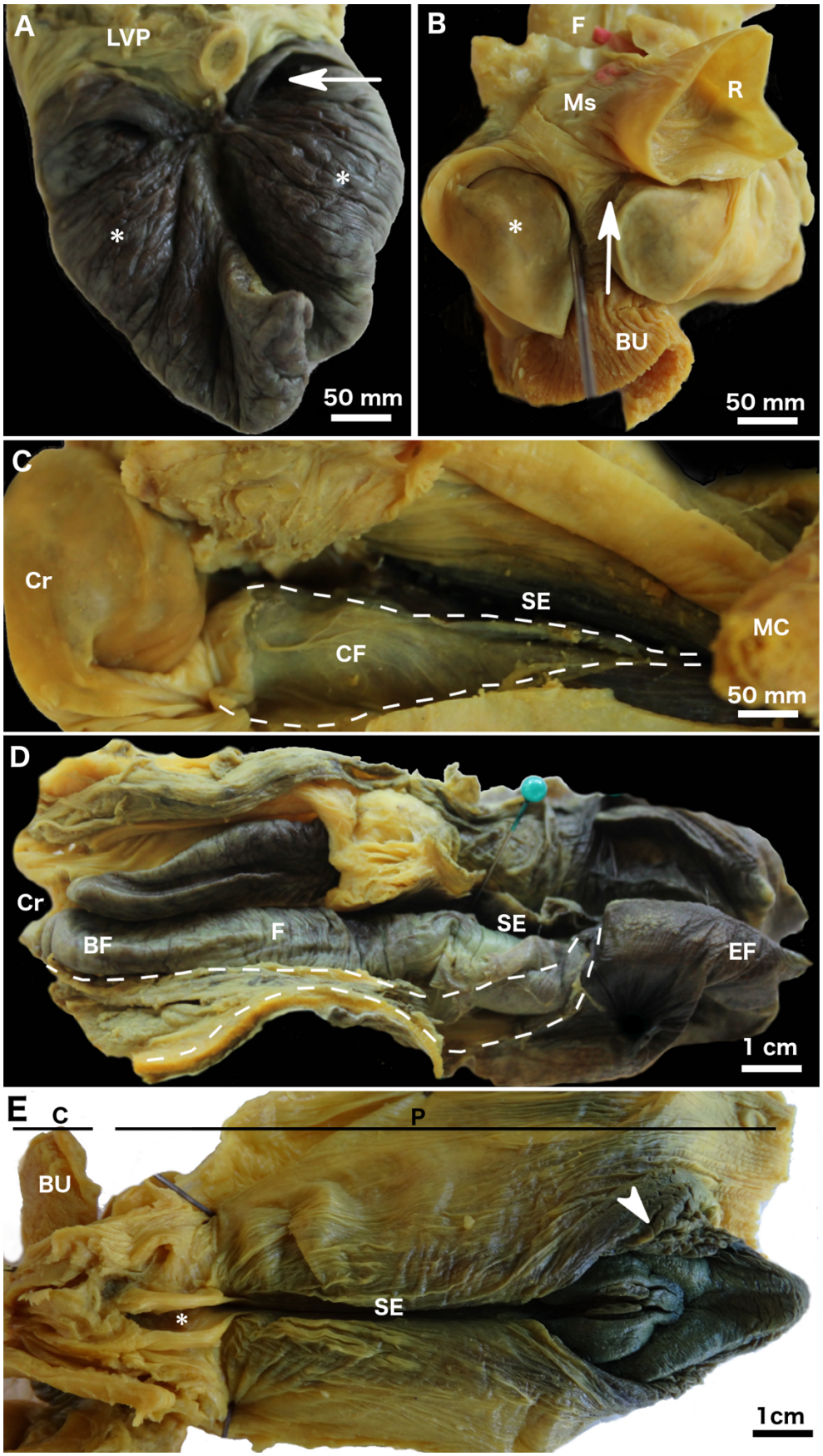


Figura 2.2 – Aspectos anatômicos do falo e canais peritoneais de Testudines. **A** – Vista crânio dorsal dos ramos da base do falo de *P. unifilis* (tracajá) envolvidos pela lâmina

visceral do peritônio. Foram removidos a lâmina parietal do peritônio, o reto, a bexiga urinária e as estruturas cloacais. Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**); ramos da base do falo (*****). **B** – Vista cranial dos ramos da base do falo de *P. geoffroanus* (cágado-de-barbicha). Foi retirada a lâmina parietal do peritônio. A abertura cranial do canal peritoneal esquerdo foi destacada com haste metálica. Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**); ramo esquerdo da base do falo (*****). **C** – Vista dorsal da metade esquerda do falo de *P. geoffroanus* (cágado de barbicha). Foi feito um corte dorsal do canal peritoneal (**linha tracejada**) ao longo do corpo do falo e o retalho lateral foi rebatido lateralmente. **D** – Vista dorsal do falo de *M. hogei* (cágado-da-paraíba). Foi feito um corte dorsal do canal peritoneal (**linha tracejada**) ao longo do corpo do falo e o retalho lateral foi rebatido lateralmente. **E** – Vista panorâmica dorsal da cloaca de *T. dorbigni* (tigre-d'água). A cloaca foi aberta lateralmente e a parede do proctodeo foi rebatida lateralmente. A bexiga urinária (**BU**) está localizada cranialmente e foi deslocada para a esquerda. Seio urogenital (*****). A abertura caudal do canal peritoneal esquerdo (**cabeça de seta**) Abreviações: **BF**, base do falo; **BU**, bexiga urinária; **CF**, corpo do falo; **Cr**, direção cranial; **EF**, extremidade distal do falo; **MC**, musculatura cloacal; **Ms**, mesorreto; **R**, reto; e **SE**, sulco ejaculatório. **A** – **E** fixados em formol 10%.

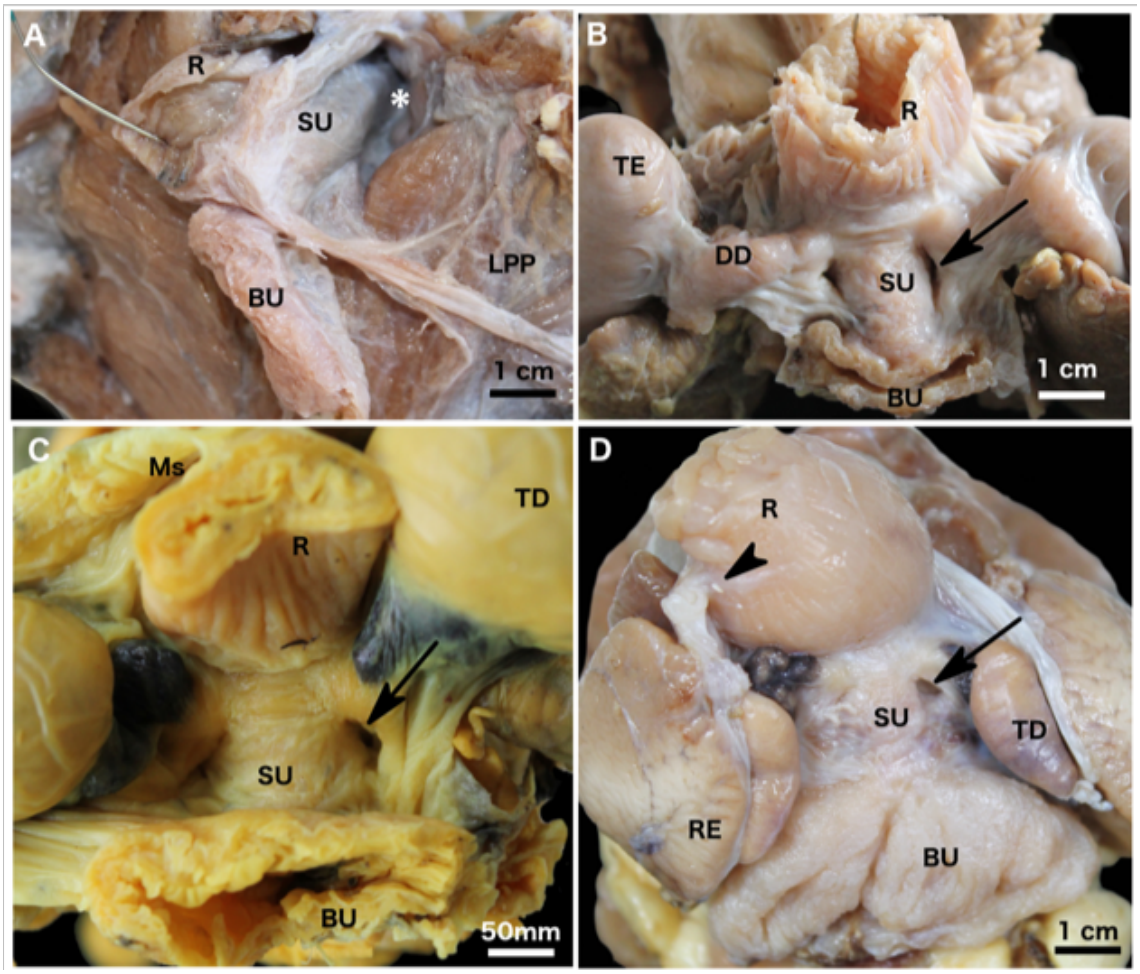


Figura 2.3 – Vista cranial dos componentes anatômicos da parede caudal da cavidade corporal de Testudines. **A** – *C. caretta* (cabeçuda). Reto deslocado para a esquerda e fixado com haste metálica. Parte da lâmina parietal do periônio foi retirada. Fundo cego do recesso peritoneal pararretal direito (*****). **B** – *C. carbonaria* (jabuti-piranga). Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**). **C** – *T. dorbigni* (tigre-d`água). Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**). **D** – *C. denticulatus* (jabuti-amarelo). Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**), lâmina visceral do peritônio (**cabeça de seta**). Abreviações: **BU**, bexiga urinária; **DD**, ducto deferente; **LPP**, lâmina parietal do peritônio; **Ms**, mesorreto; **R**, reto; **RE**, Rim esquerdo; **SU**, seio urogenital; **TD**, testículo direito; **TE**, testículo esquerdo. **A – D**: reto cortado transversalmente; **B – C** bexiga urinária seccionada transversalmente. **A** – **D**: fixado em formol 10%, **C**: pós fixado em líquido Bouin.

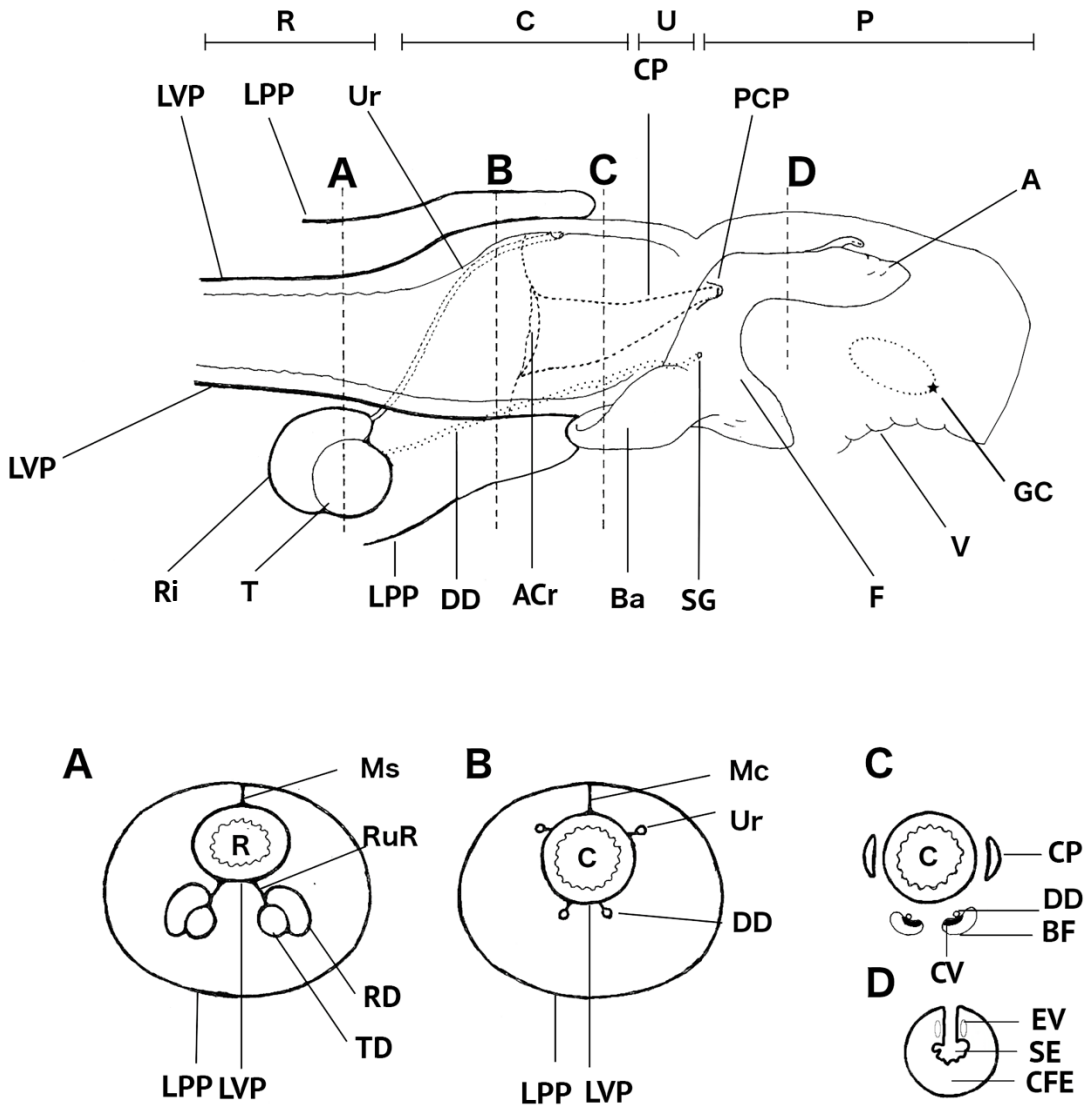


Figura 2.4 – Desenhos esquemáticos dos cortes sagital e transversais da cloaca e do falo de Crocodylia. A direção cranial encontra-se à esquerda. Cortes transversais: **A** – ao nível dos rins e testículos, **B** – região peritonizada do coprodeo, **C** – ao nível da base do falo, **D** – corpo do falo. Abreviações: **A**, Ápice; **ACr**, abertura cranial do canal peritoneal; **Ba**, base do falo; **C**, coprodeo; **CFE**, corpo fibroelástico do falo; **CP**, canal peritoneal; **CV**, corpo vascular; **DD**, ducto deferente; **EV**, espaço vascular; **F**, falo; **GC**, glândula cloacal; **LPP**, lâmina parietal peritônio; **LVP**, lâmina visceral do peritônio; **Mc**, mesocoprodeo; **Ms**, mesorreto; **P**, proctodeo; **PCP**, papila do canal peritoneal; **R**, Reto; **RD**, rim direito **RF**, ramo da base do falo **Ri**, rim; **RuR**, recesso urogenital **SE**, sulco ejaculatório; **SG**, seio genital; **T**, testículo; **TD**, testículo direito; **U** urodeo; **Ur**, ureter; **V**, vent.

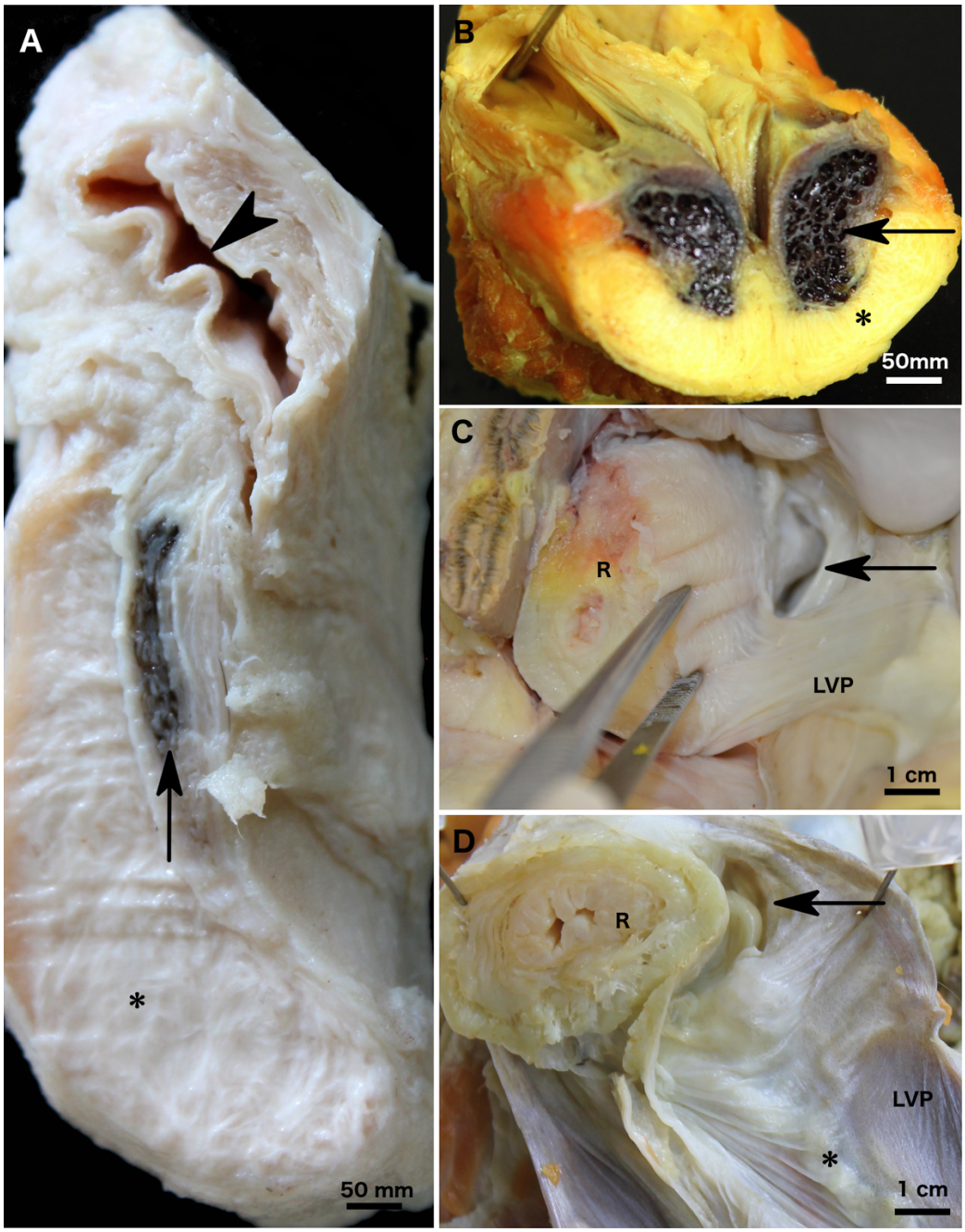


Figura 2.5 – Aspectos anatômicos do canal peritoneal de Crocodylia. **A** – Corte transversal da base do ramo esquerdo do falo de *C. niloticus* (crocodilo-do-nilo). É possível observar corte transversal do canal peritoneal esquerdo próximo à abertura cranial (**cabeça de seta**). Corpo cavernoso (**seta**) e corpo fibroso (*****) da base do ramo esquerdo do falo. **B** – Corte transversal da base do falo de *M. niger* (jacaré-açu) em vista caudal. A abertura cranial do canal peritoneal direito foi distendida com auxílio de haste metálica, corpo cavernoso esquerdo (**seta**) dorso medial ao ramo esquerdo do corpo fibroso (*****) **C** – Vista cranial da parede caudal da cavidade corporal de *P. palpebrosus* (jacaré-paguá). Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**). **D** – Vista cranial da parede caudal da cavidade corporal de *C. crocodilus* (jacaré-tinga). Abertura cranial do canal peritoneal direito (**seta**). Ducto deferente é visualizado por transparência (*****). Abreviações: **R**, Reto; **LVP**, lâmina visceral do peritônio. **C – D** reto cortado transversalmente. **A** – **D**: fixado em formol 10%, **B**: pós fixado em líquido Bouin.

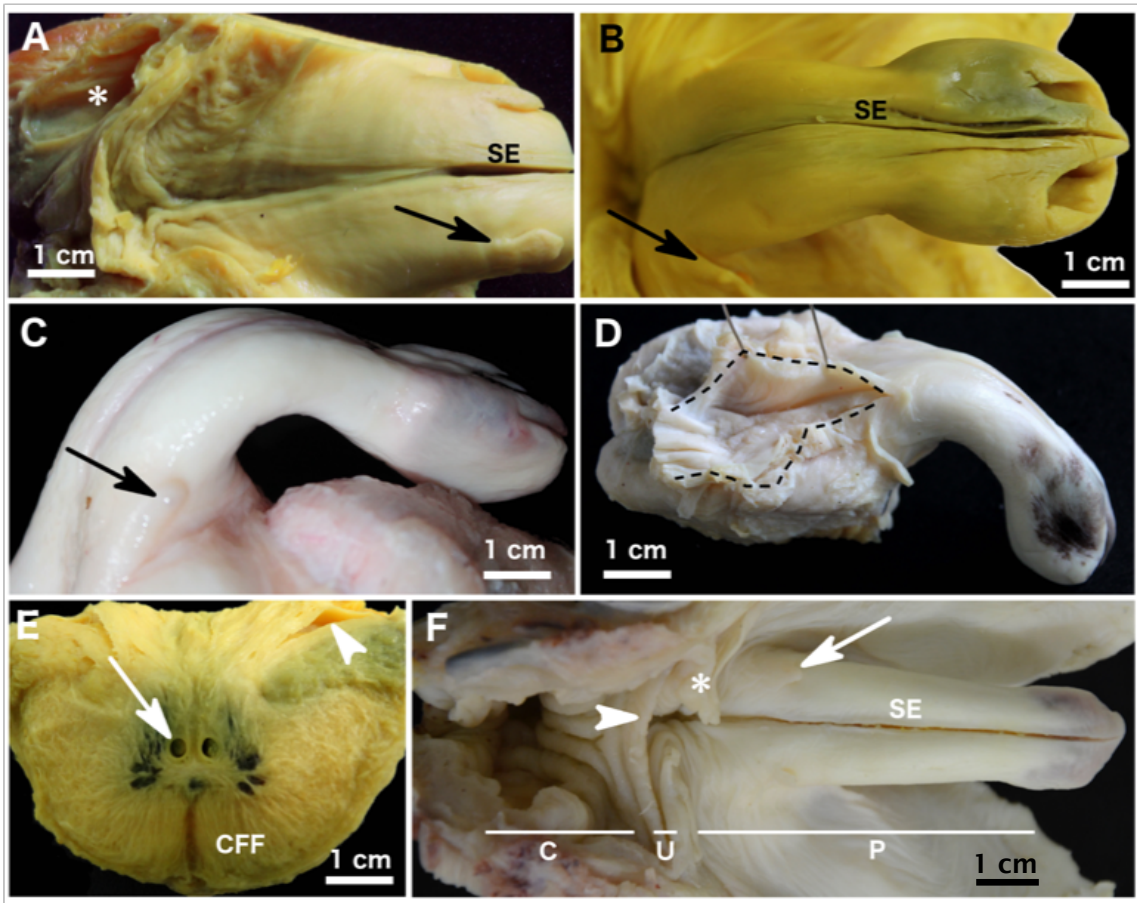


Figura 2.6 – Aspectos anatômicos do falo e canal peritoneal de Crocodylia. **A** – Vista dorsal da base do falo de *M. niger* (jacaré-açu). Abertura cranial do canal peritoneal esquerdo (*****). Papila do canal peritoneal direito de formato lanceolado e posicionada na face dorso lateral do falo (**seta**). **B** – Vista dorsal do falo de *C. crocodilus* (jacaré-tinga). Abertura caudal do canal peritoneal em forma papila em prega dorso lateral ao falo (**seta**). **C** – Vista lateral direita do falo de *C. latirrostris* (jacaré-do-papo-amarelo). Abertura caudal do canal peritoneal em forma papila lateral ao falo (**seta**). **D** – Vista lateral direita do falo de *C. yacare* (jacaré-do-pantanal). Foi feita uma incisão na parede dorsal do canal peritoneal desde a abertura cranial até a papila (**linha tracejada**). **E** – Corte transversal da região cranial do corpo do falo de *C. crocodilus* (jacaré-tinga) em vista caudal. Ducto deferente direito (**seta**), canal peritoneal esquerdo (**cabeça de seta**). **F** – Vista dorsal do falo de *P. palpebrosus* (jacaré-paguá) Abertura caudal do canal peritoneal em forma papila dorsal ao falo (**seta**). Prega coprourodeal (**cabeça de seta**), prega uroproctodeal (*****). Abreviações: **C**, coprodeo; **CFF**, corpo fibroso do falo; **P**, proctodeo; **SE**, sulco ejaculatório; **U**, urodeo. **A** – **E**: fixado em formol 10%, **A**, **B** e **E**: pós fixado em líquido Bouin.

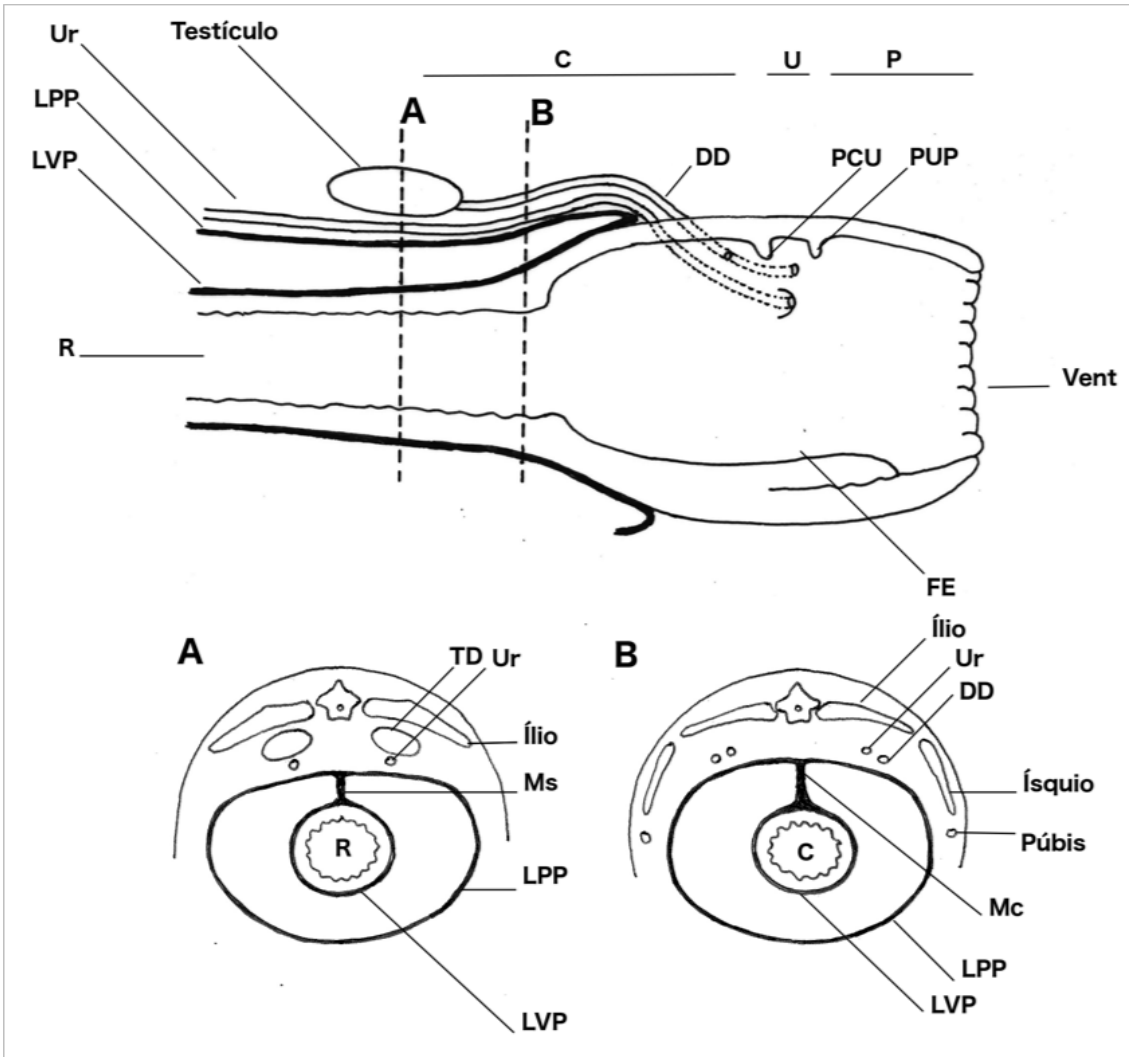


Figura 2.7 – Desenhos esquemáticos dos cortes sagital e transversais da cloaca de aves. A direção cranial encontra-se à esquerda. Cortes transversais: **A** – ao nível dos testículos, **B** – ao nível dos ísquios e púbis. Abreviações: **C**, coprodeo; **DD**, ducto deferente; **FE**, fossa ejaculatória; **LPP**, lâmina parietal peritônio; **LVP**, lâmina visceral do peritônio; **Mc**, mesocoprodeo; **Ms**, mesorreto; **P**, proctodeo; **PCU**, prega coprourodeal; **PUP**, prega uroproctodeal; **R**, reto; **TD**, testículo direito; **U** urodeo; **Ur**, ureter.

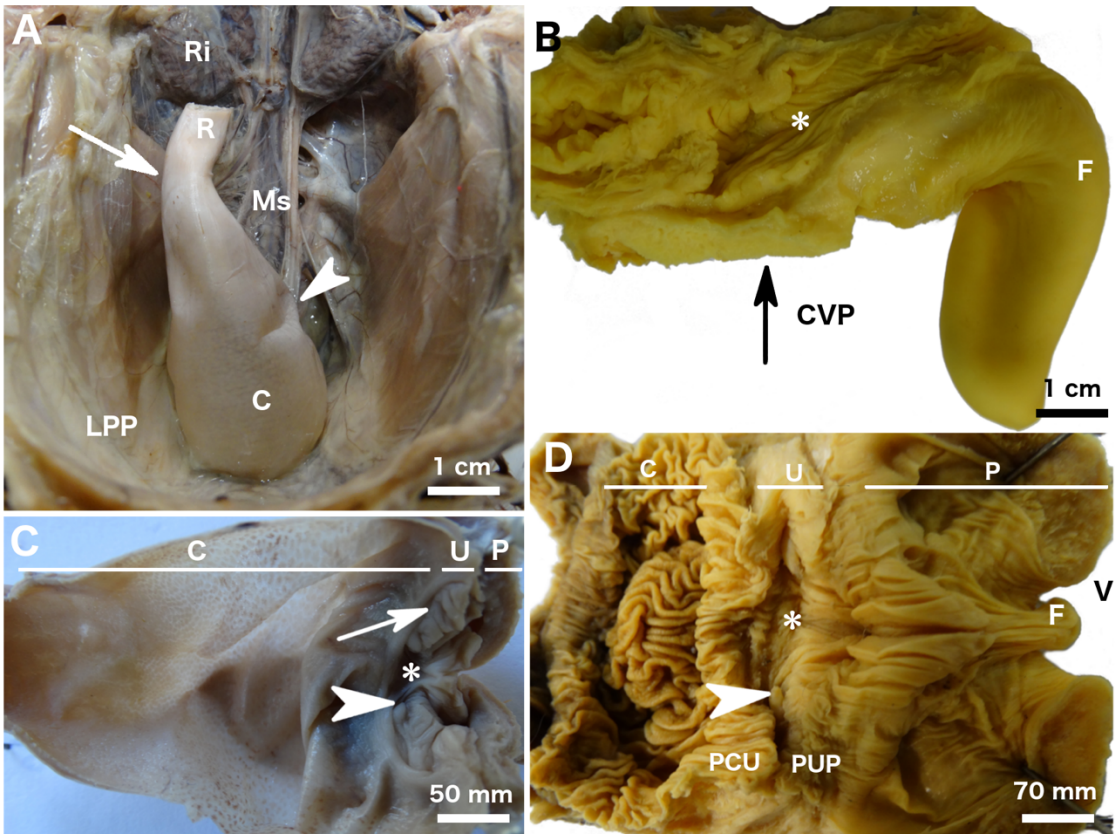


Figura 2.8 – Aspectos anatômicos da cavidade corporal caudal, da cloaca e do falo de Aves. **A** – Vista cranial da parede caudal da cavidade corporal de *G. gallus* (galo-doméstico), local de penetração dos ductos deferentes e ureteres no coprodeo (**cabeça de seta**), coprodeo se diferencia do reto pelo aumento do diâmentro (**seta**). **B** – Vista dorsal do falo de *S. camelus* (avestruz), corpo vascular paracloacal direito (**seta**) lateral à fossa ejaculatória (*****). **C** – Vista dorsal das estruturas anatômicas da cloaca de *G. gallus* (galo doméstico), foi feito uma incisão dorsal na cloaca e as bordas foram rebatidas lateralmente, papila do ducto deferente direito (**cabeça de seta**) localizada na fossa ejaculatória (*****). **D** – Vista dorsal das estruturas anatômicas da cloaca de *C. torquata* (tachã), foi feito um corte dorsal na cloaca e o retalho foi rebatido lateralmente, papila do ducto deferente direito (**cabeça de seta**) localizada na fossa ejaculatória (*****). Abreviações: **C**, coprodeo; **CVP**, corpo vascular paracloacal; **F**, falo; **LPP**, lâmina parietal do peritônio; **Ms**, mesorreto; **P**, proctodeo; **PCU**, prega cropourodeal; **PUP**, prega uroproctodeal; **R**, reto; **Ri**, rim; **U**, Urodeo. **A** – **D** fixado em formol 10%, e **B** e **D:** pós fixado em líquido Bouin.

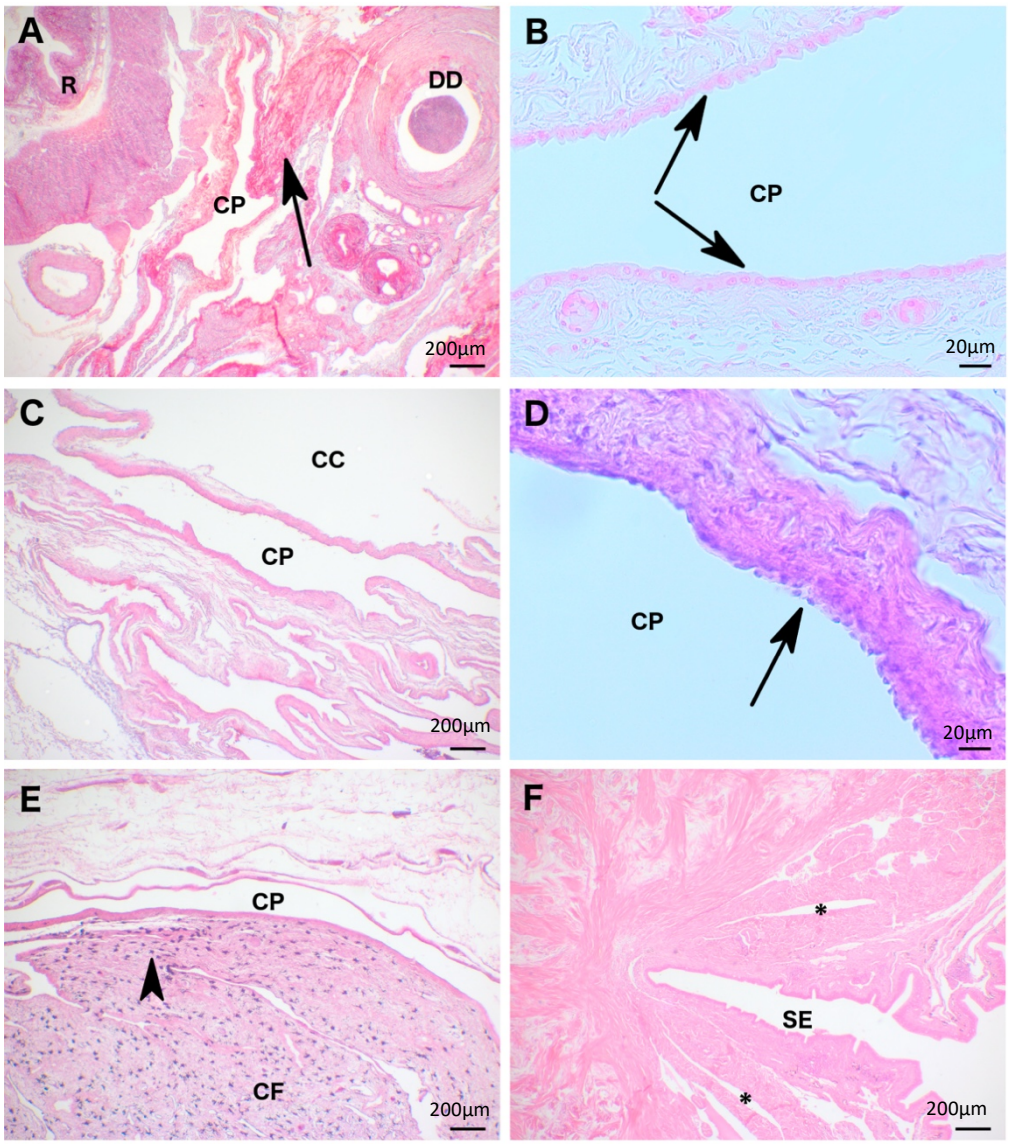


Figura 2.9 – Aspectos histológicos do canal peritoneal de Testudines. **A** – Corte transversal da parede da cavidade peritoneal ao nível cranial do canal peritoneal direito de *T. dorbigni* (tigre-d'água), o canal peritoneal (**CP**) está localizado entre o reto (**R**) e o ducto deferente (**DD**) com espermatozoides na luz, feixe de musculatura lisa (**seta**). Inclusão em parafina, coloração HE. **B** – Detalhe do epitélio simples cúbico do canal peritoneal de *T. dorbigni* (tigre-d'água). Inclusão em parafina, coloração HE (**seta**). **C** – Corte transversal da região cranial do canal peritoneal de *C. carbonaria* (jabuti-piranga). Inclusão em parafina, coloração HE. **D** – Detalhe do epitélio simples cúbico do canal peritoneal (**seta**) de *C. carbonaria* (jabuti-piranga). Inclusão em parafina, coloração HE. **E** – Corte transversal da região média do canal peritoneal de *P. geoffroanus* (cágado-de-barbicha) observa-se o corpo do falo com melanócitos (**cabeça de seta**). Inclusão em parafina, coloração HE. **F** – Corte transversal da região caudal do canal peritoneal de *T. dorbigni* (tigre-d'água), observa-se a localização lateral dos canais peritoneais (*****) em relação ao sulco ejaculatório (**SE**). Inclusão em parafina, coloração HE. Abreviações: **CC**, cavidade corporal; **CF**, corpo fibroso**; CP,** canal peritoneal, **R**, reto; **DD**, ducto deferente; **SE**, sulco ejaculatório.

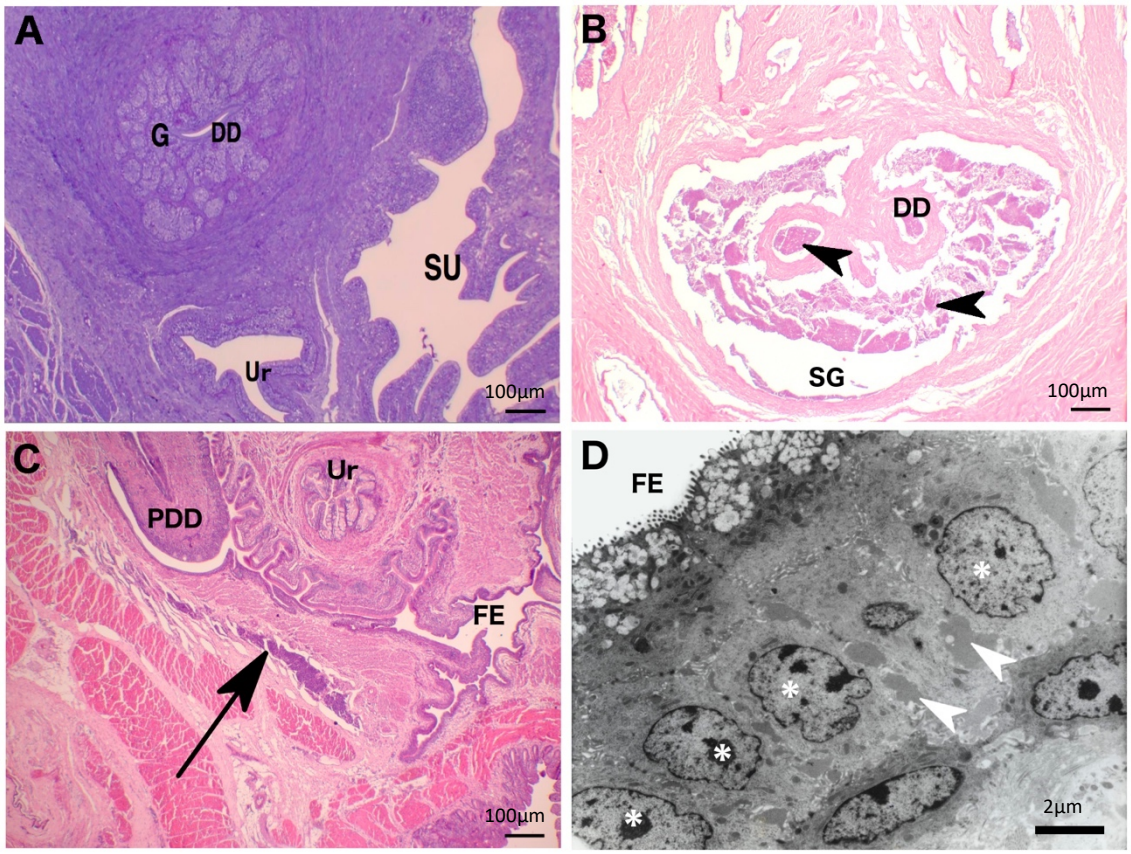


Figura 2.10 – Aspectos histológicos do seio urogenital de Testudines, seio genital de Crocodylia e aspectos histológicos e ultra estruturais da fossa ejaculatória de Aves. **A** – Corte transversal da extremidade cranial da cloaca ao nível do seio urogenital (**SU**) de *T. dorbigni* (tigre-d'água) destacada a papila do ducto deferente (**DD**) rodeada de glândulas (**G**) de aspecto mucoso. Inclusão em metacrilato, coloração de azul de toluidina-borato de sódio. **B** – Corte transversal da extremidade cranial do corpo do falo de *C. crocodilus* (jacaré-tinga) ao nível do seio genital (**SG**) observa-se o ducto deferente (**DD**) e o seio genital com espermatozoides. **C** – Corte transversal da extremidade cranial da cloaca de *R. rufescens* (perdiz) ao nível da fossa ejaculatória (**FE**), observa-se o corpo vascular paracloacal (**seta**). **D** – Micrografia eletrônica de transmissão da fossa ejaculatória de *R. rufescens* (perdiz), observa-se espaços linfáticos (**cabeça de seta**) entre as células do epitélio (*****) da fossa ejaculatória. Inclusão parafina, coloração HE, **B** – **C**. Abreviações: **DD**, ducto deferente; **FE**, fossa ejaculatória; **G**, glândula; **PDD**, papila do ducto deferente, **SG**, seio genital; **Ur**, ureter.

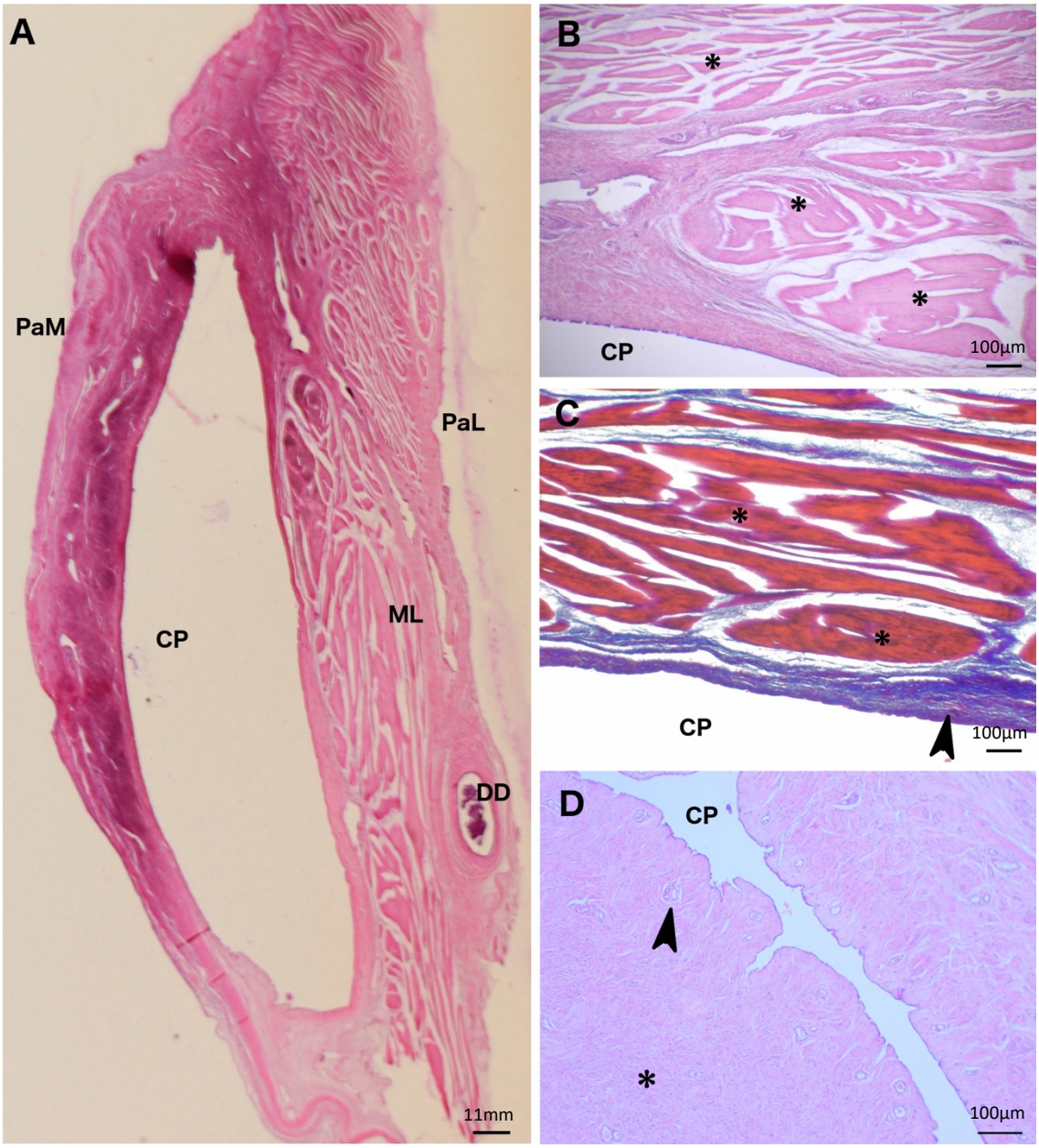


Figura 2.11 – Aspectos microscópicos do canal peritoneal de Crocodylia. **A** – Corte transversal próximo da abertura cranial do canal peritoneal direito de *P. palpebrosus* (jacaré-paguá), observa-se feixes de musculatura lisa (**ML**) na parede lateral do canal. Inclusão em parafina, coloração HE. **B** – Detalhe dos feixes de musculatura lisa (*****) da parede lateral do canal peritoneal de *P. palpebrosus* (jacaré-paguá). Inclusão em parafina, coloração HE. **C** – Detalhe dos feixes de musculatura lisa (*****) da parede lateral do canal peritoneal de *P. palpebrosus* (jacaré-paguá), fibras colágenas (**cabeça de seta**). Inclusão em parafina, coloração tricrômico do Masson. **D** – Fotomicrografia de corte transversal da região média do canal peritoneal de *M. niger* tecido conjuntivo fibroso, denso e compacto com grande quantidade de fibras colágenas em diferentes direções do (*****), ausência de fibras musculares, feixe vascular (**cabeça de seta**). Inclusão em parafina, coloração HE. Abreviações: **CP**, canal peritoneal; **DD**, ducto deferente; **ML**, musculatura lisa; **PaL**, parede lateral; **PaM**, parede medial.

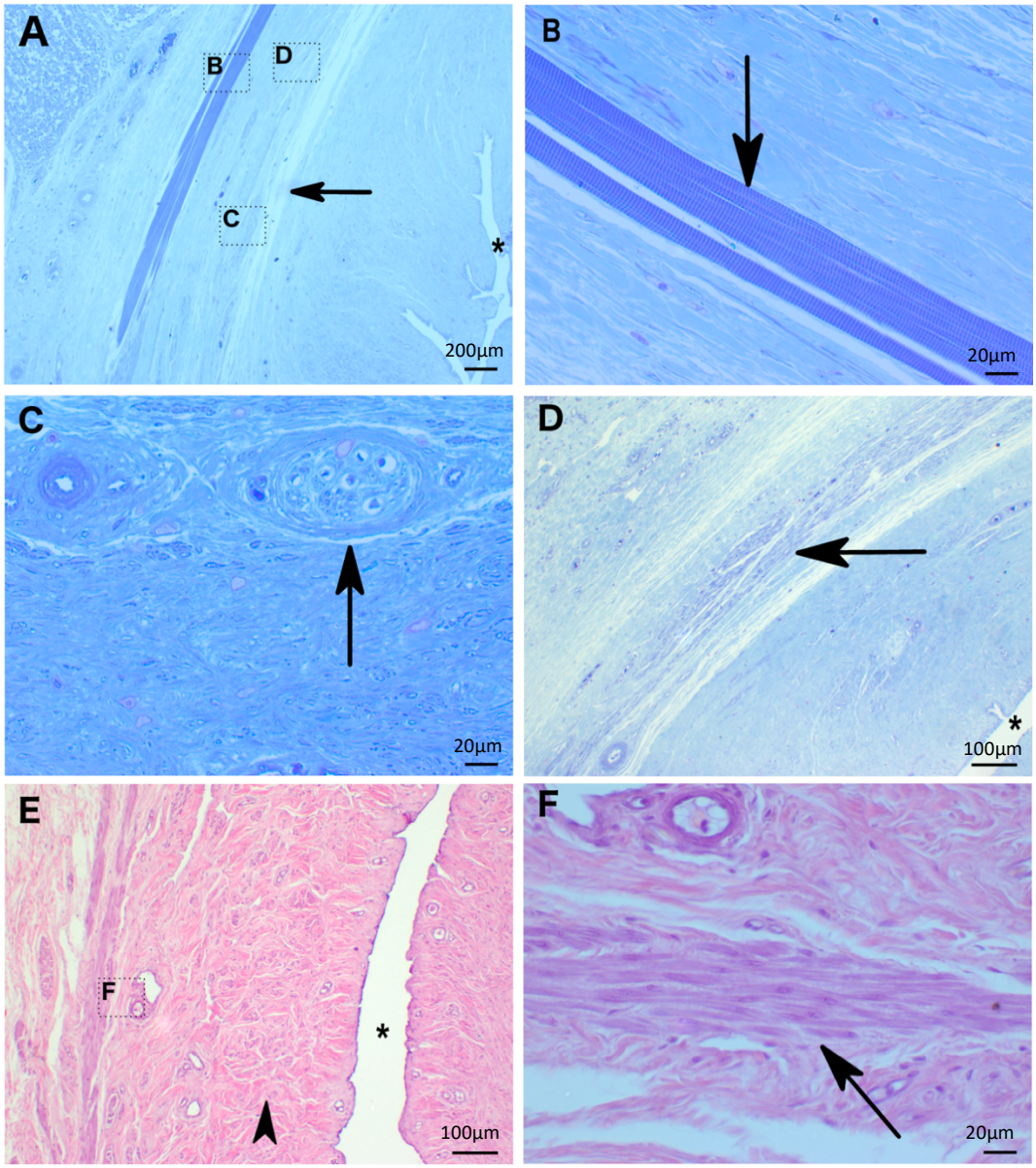


Figura 2.12 – Aspectos histológicos do canal peritoneal de Crocodylia. **A** – Corte transversal da região média do canal peritoneal de *C. yacare* (jacaré-do-pantanal), observa-se ao lado do canal peritoneal (*) tecido conjuntivo denso com grande quantidade de fibras colágenas envolvido por tecido conjuntivo frouxo (**seta**), em detalhe musculatura estriada esquelética (**B**), plexo vásculo nervoso (**C**) e musculatura lisa (**D**). Inclusão metacrilato, coloração azul de toluidina-borato de sódio. **B** – Detalhe musculatura estriada esquelética evidenciando a estriação transversal (**seta**). Inclusão metacrilato, coloração azul de toluidina-borato de sódio. **C** – Detalhe plexo vásculo nervoso (**seta**). Inclusão metacrilato, coloração azul de toluidina-borato de sódio. **D** – Detalhe do feixe de musculatura lisa (**seta**), e tecido conjuntivo denso ao lado do canal peritoneal (*). Inclusão metacrilato, coloração azul de toluidina borato de sódio. **E** – Corte transversal da região média do canal peritoneal de *M. niger* (jacaré açu) observa-se ao lado do canal peritoneal (*) tecido conjuntivo denso com grande quantidade de fibras colágenas em diferentes direções (**cabeça de seta**). Em detalhe musculatura lisa (**F**). Inclusão em parafina, coloração HE. **F** – Detalhe do feixe de musculatura lisa (**seta**). Inclusão em parafina, coloração HE.

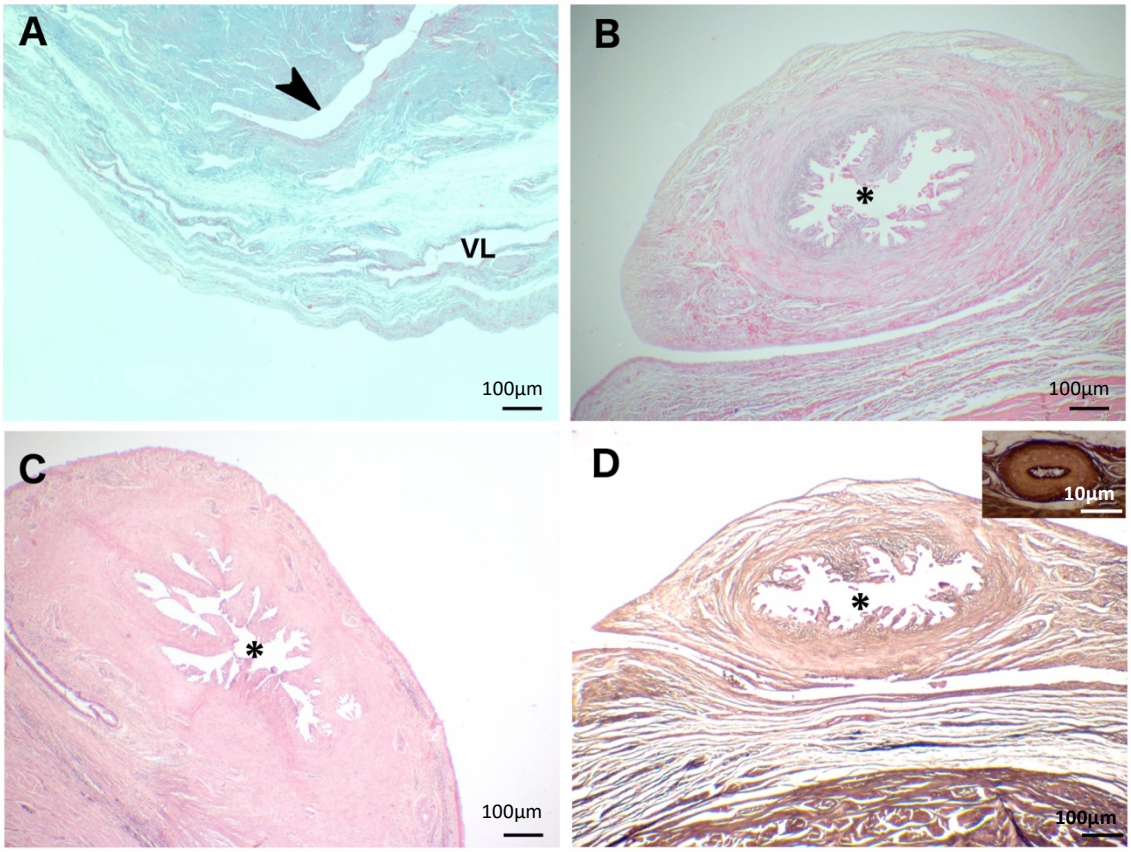


Figura 2.13 – Aspectos histológicos da papila do canal peritoneal de Crocodylia. **A** - Corte transversal da região caudal do canal peritoneal de *C. crocodilus* (jacaré-tinga), epitélio do canal peritoneal não pregueado (**cabeça de seta**). **B** – Corte transversal da papila do canal peritoneal de *C. latirrostris* (jacaré-do-papo-amarelo), epitélio do canal peritoneal pregueado (*). **C** – Corte transversal da papila do canal peritoneal de *M. niger* (jacaré-açu), observa-se epitélio do canal peritoneal pregueado (*). **D** – Corte transversal da papila do canal peritoneal de *P. palpebrosus* (jacaré-paguá), epitélio do canal peritoneal pregueado (*) e tecido conjuntivo sem fibras elásticas. Em destaque vaso sanguíneo para confirmação de fibras elásticas. Inclusão em parafina, coloração tricrômico de Masson **A** – **B**; HE **C**; Verhoeff **D.**

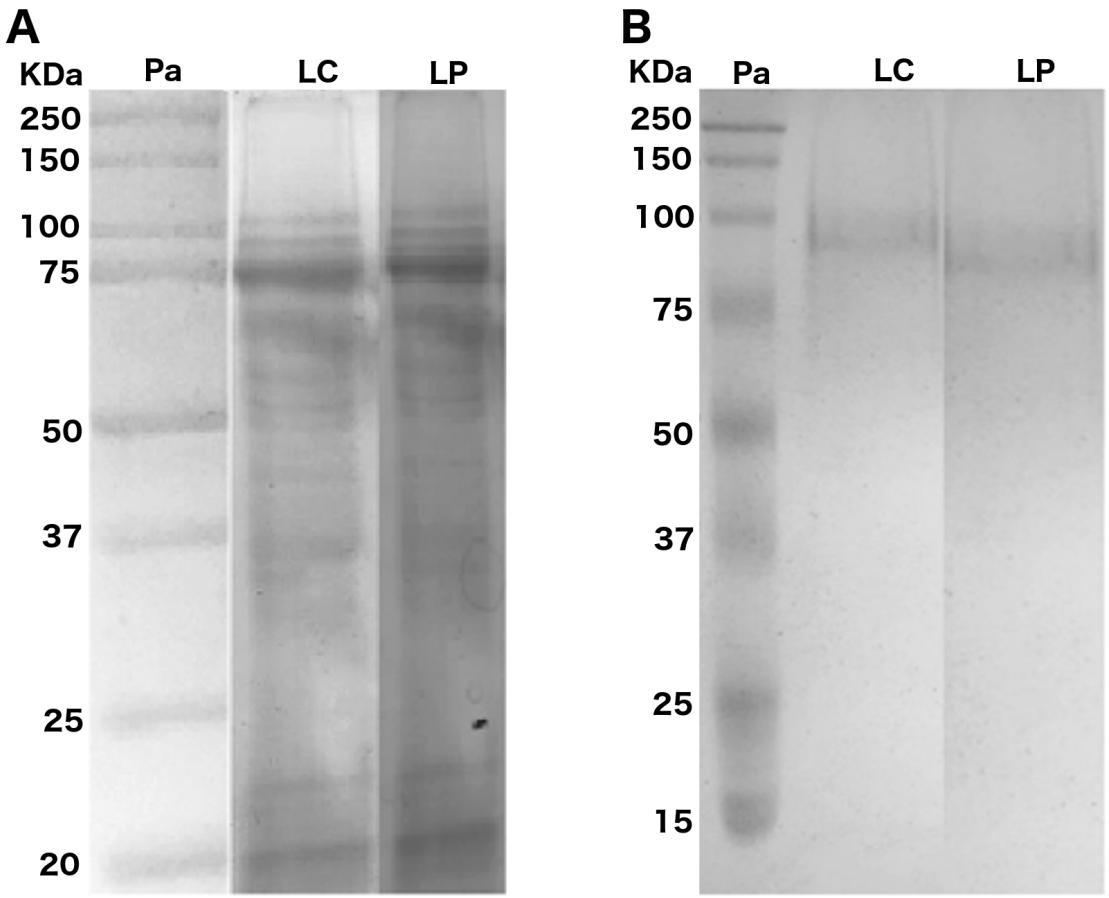


Figura 2.14 – Padrão eletroforético das proteínas dos líquidos cloacal e peritoneal de *C. carbonaria* (**A**) e *T. dorbigni* (**B**). Abreviações: **Pa** – Padrão. **LC** – Líquido cloacal. **LP** – Líquido peritoneal.

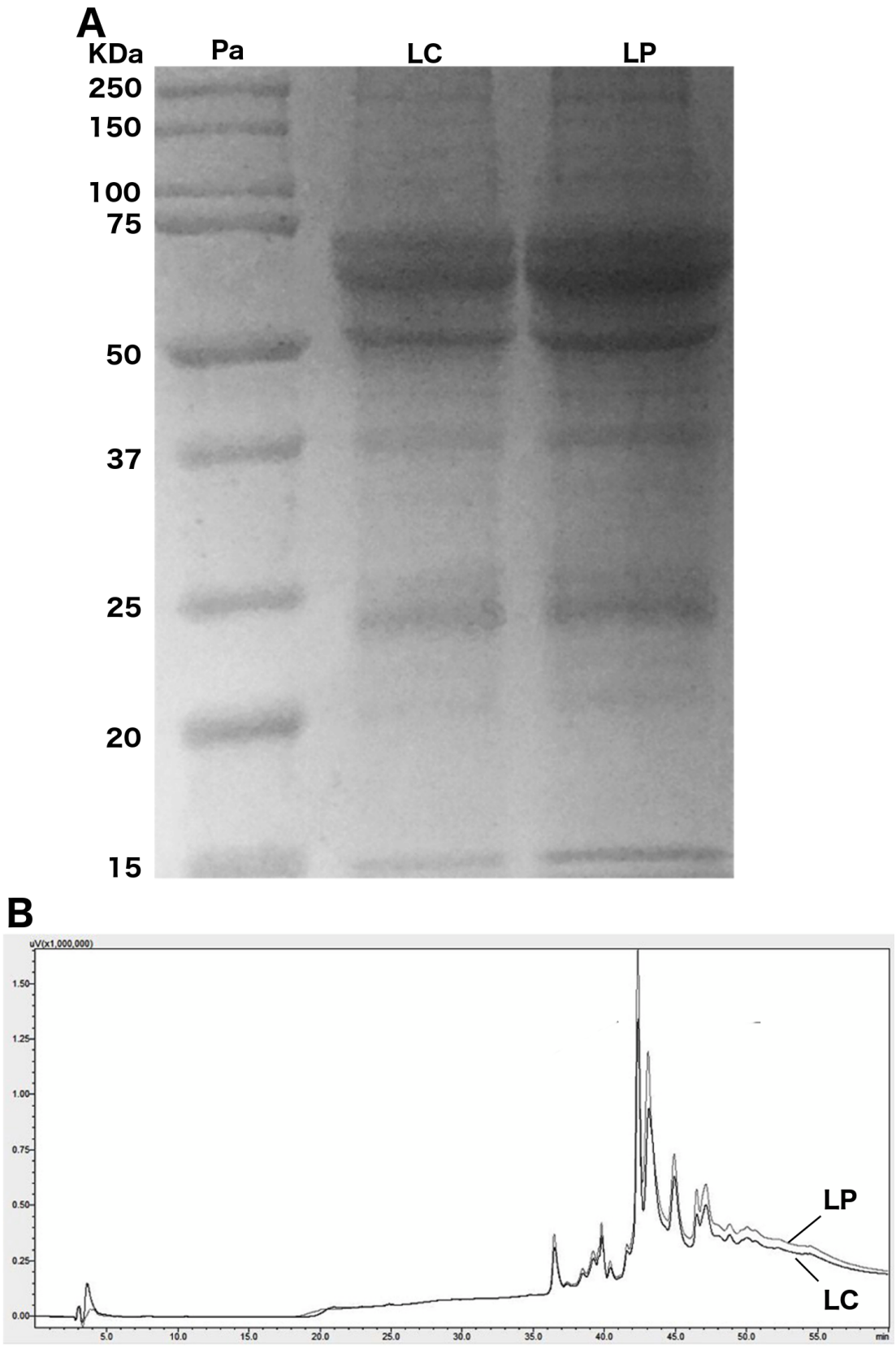


Figura 2.15 – Padrão eletroforético e cromatográfico das proteínas dos líquidos cloacal e peritoneal de *P. palpebrosus*. **A** – eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE 12%. **B** – Cromatografia fase reversa HPLC. Abreviações: **Pa** – padrão; **LC** – líquido cloacal; **LP** – líquido peritoneal.

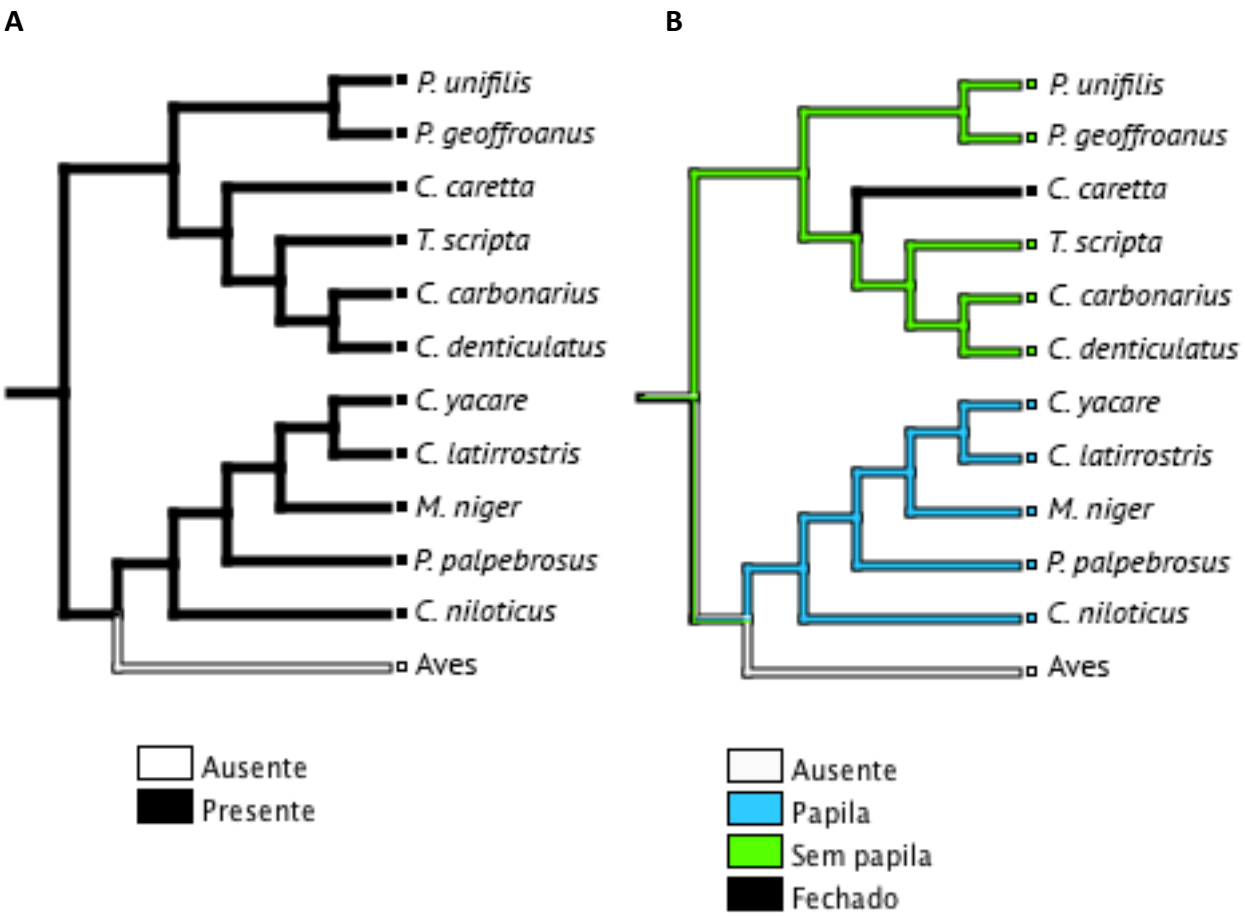


Figura 2.16 – Reconstrução do estado ancestral. **A** – Canal peritoneal. **B** – Abertura caudal do canal peritoneal. Filogenia adaptada (CRAWFORD, N. G. *et al.*, 2012; CRAWFORD, NICHOLAS G. *et al.*, 2015; GATESY; AMATO, 2008; WANG *et al.*, 2014).

3 CAPÍTULO III – ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA CLOACA E DO FALO DOS GÊNEROS *Crocodylus*, *Paleosuchus*, *Caiman* E *Melanosuchus*

INTRODUÇÃO

A cloaca é uma câmara formada por uma série de compartimentos da porção final do intestino grosso que se abre para o exterior através da abertura cloacal. Essa estrutura recebe produto dos rins, dos intestinos e, frequentemente, das gônadas. Em geral, a cloaca é constituída por três compartimentos: o coprodeo, que se continua cranialmente com o reto; o urodeo, que é a câmara intermédia; e o proctodeo, câmara cloacal que abriga o órgão copulador. Os compartimentos são separados respectivamente pelas pregas rectocoprodeal, coprourodeal e uroproctodeal (GADOW, 1887; GREDLER, 2016; GREDLER *et al.*, 2014; KING, 1981). Nos Amniotas, a cloaca é presente em Squamata, Testudines, Archosauria e Monotremata (KARDOONG, 2012), e uma cloaca reduzida persiste em marsupiais (NOGUEIRA *et al.*, 2004).

Em Crocodylia, os compartimentos cloacais não são muito bem definidos. O coprodeo e urodeo se unem em uma única câmara cloacal. Cranialmente, essa câmara comum é separada do reto por uma prega rectocoprodeal proeminente. Caudalmente, é separada do proctodeo por uma prega uroproctodeal. O ureter se abre dorsolateralmente na câmara coprourodeal, e os ductos genitais se abrem no proctodeo, caudalmente à prega uroproctodeal na porção cranial do órgão copulador (GADOW, 1887).

Nos Amniotas, o órgão copulador é uma estrutura homóloga e se origina a partir do desenvolvimento do tubérculo genital embrionário (GREDLER *et al.*, 2014; HERRERA; SHUSTER; PERRITON, 2013; SANGER *et al.*, 2015). Apesar de serem homólogos, existem diferenças estruturais entre os órgãos copuladores dos Amniotas e podem ser distinguidos três tipos: o pênis, encontrado em Mammalia, com uretra tubular; o hemipênis de Squamata, com sulco ejaculatório aberto derivado do ectoderma; e o falo de Testudines e Archosauria, com sulco ejaculatório aberto derivado do endoderma (GREDLER *et al.*, 2014).

Em Crocodylia, o falo se desenvolve inicialmente a partir dos inchaços genitais que surgem entre os brotos dos membros posteriores, em ambos os lados da membrana

cloacal. Posteriormente, os inchaços genitais formam os brotos genitais que se fundem e formam o tubérculo genital (GREDLER *et al.*, 2014; GREDLER; SEIFERT; COHN, 2014).

O falo de Crocodylia é simples, com corpo cilíndrico de formato sigmoide, constituído principalmente por tecido conjuntivo denso, repleto de fibras colágenas, e está localizado na parede ventral do proctodeo (JOHNSTON *et al.*, 2014; KELLY, 2013; ZIEGLER; OLBORT, 2007).

Apesar das recentes e relevantes informações sobre o falo de Crocodylia, as características desse órgão foram amplamente descritas apenas para as espécies *Alligator mississippiensis* (KELLY, 2013; MOORE *et al.*, 2016; MOORE; KELLY, 2015) e *Crocodilus porosus* (JOHNSTON *et al.*, 2014) e somente para a parte caudal do falo. Para as demais espécies de Crocodylia, principalmente as neotropicais, as características do falo estão ainda pouco elucidadas. Os trabalhos morfológicos do falo de Crocodylia se concentram em sucintas descrições anatômicas (CABRERA; GARCIA, 2004) conflitantes com outros trabalhos (MOORE *et al.*, 2016; MOORE; KELLY, 2015) e, frequentemente, são poucas as informações discutidas quanto ao nível de detalhes das estruturas morfológicas.

Visando complementar as escassas informações morfológicas sobre a cloaca e o falo das espécies neotropicais de Crocodylia, no presente estudo, foram realizadas dissecações anatômicas e confeccionadas preparações histológicas das cloacas e dos falos de algumas espécies neotropicais de Crocodylia, com o objetivo de identificar e descrever a morfologia e de analisar as relações topográficas dessas estruturas. Essa descrição básica será fundamental em estudos de anatomia comparativa e sistemática, além da possibilidade de contribuir com informações sobre a morfologia cloacal e sobre o mecanismo de protrusão e de retração do falo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 21 cloacas e os respetivos falos de machos adultos em idade reprodutiva, compreendendo seis espécies de Crocodylia, descritas a seguir:

- *Crocodylus niloticus* (n=1). Espécime morto na Fundação ZooBotânica de Belo Horizonte e doado ao Museu de Ciências Naturais da PUC Minas, local onde foi retirada a cloaca, fixada em formol 10% e doada para este trabalho;

- *Paleosuchus palpebrosus* (n=1); *Caiman yacare* (n=5), *Caiman crocodilus* (n=5) e *Melanosuchus niger* (n=5). As cloacas pertenciam ao Laboratório da Vida Selvagem e Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres (LAPAS) da Universidade Federal de Uberlândia. Estavam fixadas em formol 10% e foram cedidas para este trabalho;

- *Caiman latirrostris* (n=4). Espécimes provenientes do criatório comercial Mr.Cayman, Maceió – Alagoas. Após o abate dos animais, as cloacas foram retiradas, fixadas em formol 10% e doadas para este trabalho.

A coleta e o transporte das amostras biológicas foram autorizados pelo Sistema de Autorização e Informação sobre Biodiversidade, SISBIO, números 37278-1, 48044-5, 5393/91 e 38761-1.

Para os estudos macroscópicos, as cloacas foram isoladas e seccionadas ao longo da linha mediana dorsal a partir do reto até a abertura cloacal, com a finalidade de evidenciar os canais peritoneais e as estruturas do falo. Para destacar a comunicação dos canais peritoneais para o exterior, foi injetada solução salina 0,9% no recesso da cavidade peritoneal. As cloacas foram dissecadas sob microscópio estereoscópico.

Com o intuito de simular a ereção e de verificar a ação dos corpos vasculares do falo sobre a espessura e a curvatura do órgão, foi injetado, na base do corpo vascular, látex corado de azul. Essa injeção foi realizada com seringa acoplada com agulha e sob pressão constante até preencher completamente os corpos vasculares. Esse procedimento foi realizado em dois espécimes de *C. yacare*. As preparações vasculares foram diafanizadas seguindo método descrito por Mahecha; Oliveira (1994) e Wassersug (1976) utilizando NaOH 2%.

Para os estudos microscópicos, fragmentos craniais, médios e caudais da cloaca e do falo foram seccionados em diferentes planos (10 a 15 secções por região) e desidratados em série crescente de soluções de etanol (50%-100%). Posteriormente, os

tecidos foram embebidos em resina de glicolmetacrilato Technovit 7100 ou parafina Histosec Merck, seccionados em micrótomo Micron GmbH, tipo HM 335 E, com três micrômetros de espessura para resina, e seis micrômetros de espessura para parafina. Os tecidos processados em parafina foram corados com hematoxilina-eosina (HE); para a identificação de fibras colágenas foi utilizada a coloração de tricrômico de Masson, enquanto que os tecidos processados em resina foram corados com azul de toluidina-borato de sódio 10%.

Para a coloração de fibras elásticas, foi realizada a coloroção de Verhoeff. Foram também realizadas reaçoes histoquímicas de ácido periódico de Schiff (PAS) e amilase salivar-PAS (MCMANUS, 1946; MICHALANY, 1980; MOWRY, 1965). As lâminas foram observadas em microscópio de luz Nikon Eclipse E600, as imagens foram capturadas com câmera digital Axio Cam ERc5s Zeiss e digitalizadas utilizando o software Axio Cam ER ZEN lite 2012.

Para complementar as informações, foram realizadas 20 horas de observações do comportamento sexual de indivíduos de *C. yacare* em campo. As observações seguiram o método *ad libitum* (DEL-CLARO, 2004) e foram realizadas durante e fora do período reprodutivo. Exames da cloaca, para verificar a presença de líquido, também foram realizados.

Para estudo evolutivo, foram escolhidos caracteres da cloaca e do falo descritos e amplamente discutidos na literatura atual: prega uroproctodeal, tecido erétil, abertura do ducto deferente, ligamento elástico e fossa da pseudoglande (GERHARDT, 1933; KELLY, 2004, 2013; KING, 1981; OLIVEIRA; MAHECHA, 2000). Esses caracteres foram mapeados em uma árvore de consenso filogenética da literatura (CRAWFORD, N. G. *et al.*, 2012; CRAWFORD, NICHOLAS G. *et al.*, 2015; GATESY; AMATO, 2008; WANG *et al.*, 2014), e realizou-se uma reconstrução do estado ancestral adotando a máxima parcimônia, usando o software Mesquite 3.5 (MADDISON; MADDISON, 2018).

Uma vez que não existe nomina anatômica zoológica, as denominações das estruturas descritas seguem, quando citadas as recomendações propostas pela *Nomina Anatomica Veterinaria* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE, 2017) e *Nomina Anatomica Avium* (KING, 1993).

RESULTADOS

A cloaca de Crocodylia encontra-se localizada ao longo do canal pélvico e constitui a continuação caudal do reto, do qual se diferencia pelo aumento do diâmetro, não apresentando a prega rectocoprodeal como limite cranial da cloaca. A cloaca é limitada dorsalmente pelas vértebras sacrais e caudais; lateralmente pelos ílios, ísquios e pubes; e ventralmente, pelas extremidades distais dos ísquios e pubes. A porção final da cloaca forma a abertura cloacal, caudal à sínfise isquiática.

No nível da abertura cranial da pelve, a lâmina parietal do peritônio se reflete ventralmente para formar a lâmina visceral do peritônio. Essa lâmina reveste a região caudal do reto, onde forma o mesorreto, e a porção cranial do coprodeo. A lâmina visceral do peritônio forma, ao lado do coprodeo, recessos paracoprodeais. Os recessos paracoprodeais formam as aberturas craniais dos canais peritoneais, estruturas em forma de funil cônico que se projetam caudo dorsalmente em direção aos ramos do falo até se abrirem em um par de papilas no corpo do falo (Figs. 2.4, 3.1D, 3.2A).

O compartimento cranial da cloaca de Crocodylia é o coprodeo, que está parcialmente revestido pela lâmina visceral do peritônio. Internamente, o coprodeo assim como o reto, apresenta mucosa pregueada revestida por epitélio simples prismático de aspecto mucíparo (Fig. 3.7A). É na parede dorsal desse compartimento onde desembocam os ureteres (Fig. 3.1A). O urodeo é um curto compartimento, que apresenta mucosa revestida por epitélio estratificado pavimentoso baixo (Fig. 3.7B). No nível do urodeo, no interior do corpo do falo, está localizado o seio genital (Fig. 3.2D, 3.5A e B). O compartimento caudal da cloaca é o proctodeo, que possui mucosa com escassos pregueamentos longitudinais; encontra-se revestido internamente por epitélio estratificado pavimentoso baixo na região mais cranial, enquanto caudalmente, o epitélio de revestimento apresenta-se mais espesso, com maior número de camadas e largamente queratinizado (Fig. 3.7B encarte). No interior desse compartimento encontra-se o órgão copulador (Fig. 3.1), e, localizadas na parede lateral próxima à abertura cloacal, um par de glândulas paracloacais simples acinosas holócrinas (Fig. 3.2K e L). O parênquima da glândula é constituído por células poliédricas sustentadas por um estroma notavelmente desenvolvido e ricamente vascularizado (Figs. 3.7E e F).

O órgão copulador, denominado falo, apresenta consistência rígida ao tato, possui forma sigmoide e é formado por base, seio genital, corpo e extremidade caudal, onde se encontra a pseudoglande. A base do falo, está fora da cavidade cloacal, localizada cranialmente na abertura da pelve óssea e, dorsomedialmente ao pube, enquanto seu corpo está localizado na cavidade proctodeal (Figs. 3.1B–E e 3.2A).

A base do falo é formada pelos dois ramos do corpo fibroelástico e pelos corpos vasculares que estão localizados sobre esses ramos (Figs. 3.3A, 3.4A e B). Os corpos vasculares, de formato oval, apresentam internamente grandes espaços vasculares delimitados por septos conjuntivos (Figs. 3.2B e C e 3.4A e B). Os dois ramos do corpo fibroelástico se dirigem caudalmente e se fusionam para formar o cerne do corpo do falo (Figs. 3.4, 3.5 e 3.6).

Na porção cranial da base do falo, entre os ramos do corpo fibroelástico, encontra-se, disposto em forma de leque, o segmento cranial do ligamento elástico. Este ligamento se insere no processo ventral do corpo fibroelástico do falo, e se dirige cranialmente para envolver medialmente os corpos vasculares. A porção média do ligamento elástico liga o falo à extremidade distal do ísquio (Fig. 3.3).

O ducto deferente constitui a continuação caudal do epidídimo e, envolto pelo peritônio visceral, segue até a base do falo, onde acompanha dorsalmente os corpos vasculares. Mais caudalmente, desemboca no seio genital, apenso dorsalmente por um pregueamento da mucosa do seio genital (Fig. 3.4). O seio genital é um curto tubo com extremidade cranial fechada localizado no interior da região cranial do corpo do falo. O seio genital se estende caudalmente para formar o assoalho do sulco ejaculatório. O sulco ejaculatório se estende da base do corpo do falo até a extremidade distal do órgão, onde termina em um processo livre e de formato cônico. Em cortes transversais, o sulco ejaculatório apresenta a parede com mucosa lisa, enquanto o assoalho dessa estrutura apresenta mucosa pregueada e expandida lateralmente (Figs. 3.2D–H, 3.5).

O corpo do falo encontra-se revestido por mucosa, apresenta aspecto cilíndrico em secção transversal e é levemente comprimido dorsoventralmente nas espécies *C. latirrostris*, *C. crocodilus* e *M. niger* (Fig. 3.2A–J)*;* nas espécies *C. yacare* e *P. palpebrosus*, o corpo do falo é levemente comprimido lateralmente na região caudal próximo à pseudoglande (Fig. 3.5).

Na região cranial do corpo do falo, desembocam os dois canais peritoneais, através de duas papilas de diferentes formatos. A papila do canal peritoneal em *C. latirrostris* está localizada lateralmente ao corpo do falo; em *M. niger* e *C. yacare*, a papila está localizada dorsolateralmente ao corpo do falo; e em *P. palpebrosus*, a papila é dorsal ao corpo do falo. A papila na espécie *C. crocodilus* está localizada em uma prega lateral ao corpo do falo (Figs. 3.1B–E, 3.2A).

A extremidade caudal do falo, denominada pseudoglande, também se encontra revestida por mucosa; apresenta características semelhantes entre as espécies, sendo a parte cranial mais dilatada que a caudal (Figs. 3.1B–E). A pseudoglande, ventral à extremidade livre do sulco ejaculatório, apresenta um profundo recesso dividido por um septo vertical (Figs 3.5D, E e F. 3.6A e C). Em *C. yacare* a mucosa da pseudoglande é pigmentada; em *M. niger* e *C. crocodilus*, possui um sulco lateral ao sulco ejaculatório, formando um sulco parassagital (Figs. 3.1B–E). No seu interior a pseudoglande apresenta uma complexa rede vascular de aspecto plexiforme formada a partir de um par de vasos sanguíneos proveniente dos corpos vasculares (Figs 3.2I e J). Esses vasos acompanham lateralmente o sulco ejaculatório, desde os corpos vasculares até a pseudoglande.

O corpo fibroelástico encontra-se no interior do falo, revestido caudalmente pela mucosa proctodeal (Figs. 3.11A) enquanto que a parte cranial está recoberta parcialmente pela lâmina visceral do peritônio e pelo tecido conjuntivo pericoprodeal. (Figs. 3.3A).

A base do corpo fibroelástico é achatada dorsoventralmente, com a superfície dorsal levemente côncava onde se aloja o corpo vascular. A região média do corpo fibroelástico é levemente convexa dorsoventralmente. A extremidade caudal do corpo fibroelástico forma o cerne da pseudoglande, apresentando um reduzido formato dessa estrutura (Fig. 3.6).

O corpo vascular é uma estrutura par formada internamente por amplos espaços vasculares que variam de tamanho de acordo com o ingurgitamento ou com a depleção de sangue; os espaços são revestidos internamente por endotélio e limitados por trabéculas de tecido conjuntivo denso. Dentro dos espaços, foram identificados coágulos com aglomerados de hemácias. As trabéculas apresentam diâmetro variável e estão dispostas em diferentes sentidos, formando uma camada de aspecto cavernoso.

As trabéculas são constituídas por abundantes fibras colágenas e fibras elásticas onduladas e paralelas. Externamente, o corpo vascular é revestido por cápsula de tecido conjuntivo rico em fibras elásticas. Não foram evidenciados feixes de musculatura lisa nas trabéculas do corpo vascular do falo das espécies de Crocodylia estudadas (Fig. 3.8).

Ligado aos ramos do corpo fibroelástico encontra-se o ligamento elástico do falo. O ramo cranial do ligamento elástico insere-se no tecido conjuntivo que envolve os ramos do corpo fibroso e os corpos vasculares. Nessa região, encontra-se um espesso fascículo de musculatura lisa que, caudalmente, se estende através da lâmina própria da mucosa do corpo do falo até a extremidade do falo, onde termina formando poucos fascículos esparsos e envolvidos por tecido conjuntivo frouxo rico em fibras elásticas. O ligamento elástico apresenta-se como uma condensação de tecido conjuntivo fibroelástico na qual predominam fibras elásticas espessas e numerosas, com disposição ondulada e paralelas entre si. O ligamento elástico dirige-se caudalmente, insere-se na extremidade ventral do ísquio e continua caudalmente, formando o ramo caudal do ligamento elástico, e se insere no tecido conjuntivo do processo ventral do corpo fibroelástico (Fig. 3.9).

O epitélio do ducto deferente, próximo ao seio genital, apresenta-se colunar pseudoestratificado não ciliado com citoplasma basófilo e com núcleo esférico basal. Não foram observadas glândulas nos ductos deferentes; no lúmen do ducto, foram observados acúmulos de espermatozoides formando uma massa densa e compacta. A lâmina própria do ducto deferente é formada por tecido conjuntivo denso e contínua com a lâmina própria do seio genital (Fig. 3.10A, C e D).

O seio genital é uma estrutura que apresenta mucosa com dois aspectos distintos: cranialmente à desembocadura dos ductos deferentes, ela é circular e não pregueada; caudalmente, a mucosa apresenta-se pregueada, formando saculações de tamanhos variados. A mucosa do seio genital é envolvida por tecido conjuntivo denso com grandes quantidades de fibras colágenas. Associados ao tecido conjuntivo do seio genital, nesse local, são encontrados espaços vasculares preenchidos por hemácias e por substância amorfa de aspecto semelhante ao coágulo de fibrina, e são também encontrados vasos sanguíneos e linfáticos. Frequentemente foram encontrados infiltrados linfocitários na mucosa do seio genital de *M. niger* (Fig. 3.10B, D e F).

O epitélio do seio genital apresenta-se pseudoestratificado cilíndrico ciliado, com células caliciformes e células não ciliadas. Nas células não ciliadas foram encontrados grânulos intensamente corados. Foram também observados mastócitos subepiteliais. O epitélio do seio genital prolonga-se caudalmente e forma o epitélio do assoalho do sulco ejaculatório, que se apresenta com o mesmo tipo de epitélio do seio genital (Fig. 3.10F).

A metade caudal do falo encontra-se recoberta pela evaginação da mucosa proctodeal. Esta mucosa apresenta epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, aumentando de espessura e torna-se queratinizado em sentido caudal. Cranialmente é formado por duas ou três camadas de células epiteliais. Nas regiões mais caudais, o epitélio da mucosa do falo apresenta-se formado por sete a dez camadas de células epiteliais e com numerosas papilas dérmicas, a lâmina própria da mucosa do falo é formada por uma camada de tecido conjuntivo frouxo com fibras colágenas finas e com acúmulo de linfócitos. A camada mucosa localizada ventralmente ao corpo fibroelástico é mais espessa, contendo também tecido conjuntivo frouxo com grande quantidade de vasos sanguíneos e linfáticos (Fig. 3.11).

Na superfície dorsal do corpo do falo, a mucosa deste órgão se invagina, ao longo do sulco ejaculatório, e se continua dentro do sulco, sem limite nítido de demarcação com a mucosa do seio genital. O epitélio da parede lateral do sulco ejaculatório, assim como o epitélio do falo, é estratificado pavimentoso não queratinizado. Nesse epitélio, foram encontradas células caliciformes esparsas. A lâmina própria é formada por uma camada de tecido conjuntivo frouxo em que foram identificados feixes de musculatura lisa dispostos em sentidos longitudinal e transversal, além de abundantes espaços linfáticos, mais numerosos próximo da borda dorsal do sulco ejaculatório (Fig. 3.12).

O epitélio do assoalho do sulco ejaculatório apresenta-se como cilíndrico pseudoestratificado ciliado com células caliciformes, como o epitélio do seio genital. O material intracelular das células não ciliadas apresentou reação histoquímica positiva para PAS, indicando a secreção de mucosubstâncias neutras (Fig.3.12D). O assoalho do sulco ejaculatório une-se ao corpo fibroso através de uma camada de tecido conjuntivo denso não modelado contendo vasos linfáticos e espaços vasculares sanguíneos.

Na região média do canal peritoneal, a lâmina própria é formada por uma espessa camada de tecido conjuntivo denso contendo grandes quantidades de fibras colágenas em diferentes direções, feixes vasculares e plexo vásculo nervoso. O tecido

conjuntivo é envolvido externamente por tecido conjuntivo frouxo e por feixes de musculatura lisa. Em *C. yacare*, foram encontrados feixes de musculatura estriada esquelética no tecido conjuntivo frouxo que envolve o canal peritoneal (Fig. 3.13A–B).

Na região caudal, no nível da papila do canal peritoneal o epitélio voltado para o lúmen do canal encontra-se pregueado. Somente na espécie *C. crocodilus* o epitélio apresenta-se não pregueado. Distribuídas entre as fibras colágenas do tecido conjuntivo, foram encontradas escassas fibras elásticas (Fig. 3.13C).

A fossa da pseudoglande apresenta-se recoberta por epitélio estratificado pavimentoso com papilas dérmicas. O epitélio une-se ao corpo fibroso do falo através de uma camada de tecido conjuntivo moderadamente denso não modelado com vasos sanguíneos. A pseudoglande apresenta tecido conjuntivo com amplos espaços vasculares linfáticos e sanguíneos (Fig. 3.13D).

O corpo fibroelástico do falo é uma estrutura rica em fibras colágenas orientadas em diferentes direções; as células, quando presentes, estão dispostas na região periférica do corpo fibroelástico (Fig. 3.13D–F). Foram encontrados fibrócitos próximos ao corpo vascular. No tecido intercelular do corpo fibroelástico, predominam fibras colágenas, dispostas em uma trama irregular, formando uma rede orientada em diferentes direções. Poucas fibras elásticas e poucos vasos sanguíneos foram evidenciados, e quando presentes, estavam localizados principalmente na região periférica do corpo (Fig. 3.13F) e próximos ao seio genital e ao sulco ejaculatório. O corpo fibroso sustenta em toda a sua extensão a base e as paredes laterais do sulco ejaculatório.

O látex injetado através do corpo vascular na base do falo de *C. yacare*, não promoveu ereção do falo nem mudanças na curvatura do órgão, apenas produziu uma discreta dilatação dos corpos vasculares, o fechamento do sulco ejaculatório e o ingurgitamento expressivo da pseudoglande (Fig. 3.2I, 3.13E).

Reconstrução do estado ancestral

De acordo com o cladograma obtido, o caráter prega uroproctodeal está presente em Archosauria e ausente em Testudines (Fig. 3.14A).

O tecido erétil sanguíneo está presente no ancestral do clado (Testudine, Archosauria). Em Aves, se observa uma transição evolutiva, na qual, o mecanismo de ereção é linfático (Fig. 3.14B).

A reconstrução mais parcimoniosa do estado ancestral da abertura do ducto deferente (dois passos) foi a abertura do ducto no seio urogenital em Testudines. Em Archosauria, a abertura do ducto deferente evoluiu independentemente em Crocodylia (seio genital) e nas Aves (urodeo) (Fig. 3.14C).

O ligamento elástico é um caráter ausente em Testudines. No clado (Crocodylia; Aves), o ligamento elástico está presente (Fig. 3.15A). A fossa da pseudoglande é uma sinapomorfia de Crocodylia (Fig. 3.15B).

DISCUSSÃO

Classicamente, a cloaca dos Ammiotas que possuem órgão copulador é descrita como sendo a continuação caudal do reto e encontra-se formada por três compartimentos consecutivos, o compartimento mais cranial é o coprodeo; o urodeo é o compartimento médio que recebe a urina e o sêmen; o proctodeo é o compartimento mais caudal onde está alojado o órgão copulador. Esses compartimentos encontram-se separados respectivamente pelas pregas retocoprodeal, coprourodeal e uroproctodeal (GADOW, 1887; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010; KARDOONG, 2012; KING, 1981). Entretanto, essa compartimentalização é uma característica compartilhada somente por Aves e Squamatas (GADOW, 1887; KING, 1981; OLIVEIRA *et al.*, 2004; OLIVEIRA; MAHECHA, 1996). Essa condição anatômica pode ser explicada pelo fato de as Aves e os Squamatas não conservarem o seio urogenital e a membrana anorretal (RATTRAY, 1908; ROMANOFF, 1960).

Na parede caudal da cavidade corporal das espécies de Crocodylia foram observados recessos peritoneais formando canais que se projetam caudalmente em direção ao falo. A presença desses canais foi também relatada para a espécie de Crocodylia, *C. niloticus* (GADOW, 1887).

Para Gadow (1887), Gerhardt (1933), Johnston *et al.* (2014) e King (1981) a cloaca de Crocodylia apresenta dois compartimentos consecutivos; um cranial, formado pela união do coprodeo e do urodeo, e um caudal, o proctodeo separados pela prega

uroproctodeal. Esses autores determinam essa organização da cloaca de Crocodylia baseando-se nos aspectos macroscópicos, sem levarem em conta as características microscópicas comuns das paredes e dos epitélios de revestimento de cada compartimento.

Diferente de Gadow (1887), Gerhardt (1933) e King (1981), nossos resultados mostram que nos crocodilianos estudados o coprodeo é a continuação do reto, e os dois apresentam características histológicas comuns, sendo revestidos internamente por epitélio simples prismático mucíparo sem estruturas que possam indicar a separação entre eles. Além disso, apresentam, em suas paredes, duas camadas de musculatura lisa, sendo a mais superficial constituída de feixes musculares em sentido longitudinal, e a camada interna, com fibras dispostas em sentido circular. As características macroscópicas e histológicas similares do reto e do coprodeo, além de sua continuidade estrutural, mostram que em Crocodylia a câmara cranial da cloaca é a continuação caudal do reto.

A compartimentalização embrionária da cloaca está intimamente relacionada com o desenvolvimento da membrana urorretal que se forma a partir do mesênquima do endoderma e divide o intestino posterior em câmara retoanal, dorsalmente, e seio urogenital, ventralmente. O grau de desenvolvimento dessa membrana determina a conformação e o tamanho relativo da cloaca (HYNES; FRAHER, 2004; HYTTEL; SINOWATZ; VEJLSTED, 2010; KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). A variação morfológica da cloaca está também relacionada com o desenvolvimento embrionário do seio urogenital, região que recebe a desembocadura dos ureteres e dos ductos deferentes, com a presença do órgão copulador e com o destino ontogênico da membrana cloacal (DYCE; SACK; WESTING, 2004; KLUTH; HILLEN; LAMBRECHT, 1995; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973).

O desenvolvimento da cloaca em Crocodylia ainda não está bem elucidado. Entretanto, é descrito que em *C. yacare* (OLIVEIRA *et al.*, 2004), assim como nas espécies de crocodilianos estudados no presente trabalho, o ureter desemboca no coprodeo. Diferente desses resultados, Cabrera e Garcia (2004), Cabrera *et al.* (2007) e Cabrera e Garcia (2010) relatam que o local de desembocadura do ureter se encontra na região cranial do corpo do falo confundindo a papila do canal peritoneal com a desembocadura do ureter. Essa condição anatômica parece ser exclusiva de Crocodylia; de uma forma

ainda não descrita, somente os ductos deferentes desembocam no seio urogenital. Por esse motivo, consideramos que o nome seio genital é a denominação mais apropriada para a região onde desembocam os ductos deferentes nesse grupo de Ammiotas.

Nossos resultados também indicam que o urodeo e o proctodeo dos crocodilianos formam uma câmara comum e estão revestidos internamente por epitélio estratificado pavimentoso, com diferentes espessuras e graus de queratinização. Os compartimentos não apresentam a camada muscular da mucosa e são revestidos externamente por duas camadas de musculatura estriada esquelética que formam parte da musculatura cloacal. O proctodeo é o compartimento mais caudal da cloaca e, nele, encontra-se a metade caudal do órgão copulador; na parede lateral próxima à abertura da cloaca, encontra-se um par de glândulas paracloacais. Ao redor da abertura cloacal, encontra-se o esfíncter cloacal, também formado por tecido muscular estriado esquelético.

Nos Amniotas, o órgão copulador é uma estrutura que se origina a partir do tubérculo genital, próximo à membrana cloacal (GREDLER, 2016; GREDLER *et al.*, 2014; GREDLER; SEIFERT; COHN, 2014; HERRERA; BRENNAN; COHN, 2014). Para Gredler (2016) e Gredler *et al.* (2014) existem importantes diferenças estruturais no órgão copulador dos Amniotas, e assim podem ser distinguidos o pênis com uretra tubular em Mammalia; o hemipênis que é duplo, com sulco espermático aberto, derivado do ectoderma em Squamatas; o falo simples com sulco espermático aberto, derivado do endoderma dos Testudines e do Archosauria. Na literatura, o órgão copulador de Crocodylia é denominado como pênis por Cabrera e Garcia (2010), Johnston *et al.*, (2014) e Kelly (2013). Entretanto, assim como Gredler *et al.* (2014), nossos resultados indicam que o termo mais adequado é falo, e não pênis, que é o órgão copulador dos mamíferos.

Para Cabrera e Garcia (2004) e Kelly (2013) o falo de Crocodylia, assim como o pênis de mamíferos, apresenta três regiões uma proximal par, formada por dois bulbos; um corpo e uma região distal denominada glande. Esses autores definem essa organização do falo baseando-se somente nos aspectos macroscópicos, sem considerar as características microscópicas, e denominam cada região apenas pela posição anatômica. Apesar do falo apresentar um formato anatômico similar a um pênis, seus componentes são notadamente diferentes, consideramos que além da falta de estudos

histológicos, algumas dessas divergências de nomenclatura são o resultado de sinonímias entre diferentes órgãos ou entre diferentes estruturas. Assim, se faz necessário unificar o nome das estruturas, baseando-se no fato de que somente estruturas homólogas possuem o mesmo nome, como proposto por Liem *et al.* (2012).

A base do falo é formada por um par de ramos de tecido fibroelástico compacto e sem tecidos cavernosos ou vasculares em seu interior. As estruturas vasculares do falo estão situadas sobre concavidades dos ramos, recobertos por uma cápsula fibrosa; em seu interior, encontram-se espaços sanguíneos sem musculatura lisa em suas paredes. Cabrera e Garcia (2004), Cabrera *et al.* (2007), Cabrera e Garcia, (2010) e Johnston *et al.* (2014) denominam as estruturas vasculares encontradas no falo dos crocodilianos como corpos cavernosos, e Ziegler e Olbort (2007) relatam um corpo esponjoso no falo de *C. niloticus*. No entanto, os autores não apresentam evidências microscópicas que possam sustentar essa denominação.

Os corpos cavernosos são complexos vasculares formados por uma grande quantidade de espaços venosos separados por trabéculas de fibras de tecido conjuntivo e com abundantes fibras musculares lisas, e se encontram envolvidos por uma espessa camada de tecido conjuntivo não expansível denominada túnica albugínea (GARTNER; HIATT, 2007; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). Assim, as características histológicas que encontramos nesses complexos vasculares como ausência de musculatura lisa e espaços sanguíneos irregulares e externos ao corpo do órgão copulador nos permitem denominá-los de corpos vasculares, e não de corpos cavernosos.

A raiz do falo é desprovida de qualquer tipo de musculatura que possa prender o órgão a qualquer osso da pelve, enquanto a raiz do pênis é formada por dois ramos e pelo bulbo do pênis. Cada ramo do pênis está inserido na face ventral do osso ísquio; em seu interior se encontra um centro de tecido cavernoso erétil que, externamente, está envolvido pelo músculo isquiocavernoso (DYCE; SACK; WESTING, 2004).

Para Kelly (2013) o falo de *A. mississippiensis* está ancorado na extremidade caudal do ísquio por meio de um ligamento de tecido conjuntivo que se insere na base do falo, e de um tendão que se origina na superfície ventral da extremidade caudal do ísquio e que se insere na superfície ventral do corpo do falo.

Nossos resultados são divergentes dos apresentados por Kelly (2013). Os resultados histológicos indicam que o ligamento presente na base do falo das espécies

de Crocodylia estudadas é constituído por tecido conjuntivo rico em fibras elásticas, sendo, assim, um ligamento elástico. O segmento caudal do ligamento elástico se insere em um processo ventral do corpo do falo, uma estrutura ainda não descrita na literatura. O segmento médio se insere na extremidade caudal do ísquio, e o segmento cranial se insere na superfície dorsal dos corpos vasculares, na base do falo. Nossos resultados indicam que o ligamento elástico, durante a protração do falo, exerce uma força sobre os corpos vasculares, o que contribui para o ingurgitamento de sangue dos tecidos eréteis do falo.

Ainda na base do falo, Johnston *et al.* (2014) descrevem que a desembocadura do ducto deferente de *C. porosus* está localizada em uma papila no sulco do falo. Em nossos resultados, para as espécies de Crocodylia estudadas, o ducto deferente claramente desemboca no seio genital, como descrito também por Moore e Kelly (2015) em *A. mississippiensis*. Dessa forma, esse pode ser um importante caráter informativo entre as famílias Aligatoridae e Crocodylidae.

Distalmente, os ramos do pênis se fundem para formar o corpo cavernoso do pênis. O bulbo é a porção mediana da raiz, situando-se entre os dois ramos do pênis; ele encontra-se envolvido pelo músculo bulbo-esponjoso, e distalmente, o bulbo do pênis continua com o corpo esponjoso da uretra (COHN, 2011; DYCE; SACK; WESTING, 2004; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). O corpo do pênis dos mamíferos é formado pela uretra, junto com o corpo esponjoso e por dois corpos cilíndricos de tecido cavernoso; esses componentes encontram-se envolvidos por uma espessa camada de tecido conjuntivo não expansível denominada túnica albugínea (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973; DYCE; SACK; WESTING, 2004). O corpo do falo das espécies de Crocodylia é formado pela fusão caudal dos ramos do corpo fibroelástico e encontra-se revestido pela mucosa do proctodeo; em sua face dorsal, encontram-se os canais peritoneais e está alojado o sulco ejaculatório.

Além do fluido seminal, podem fluir, através do sulco do falo, secreções do canal peritoneal e das glândulas paracloacais. Assim, sugerimos que o termo sulco ejaculatório seja utilizado para nomear o sulco da face dorsal do falo, e não sulco espermático ou seminal, como descrito por Kelly (2013) e Johnston *et al.* (2014). As características histológicas encontradas na mucosa do sulco ejaculatório das espécies de Crocodylia estudadas corroboram os resultados de Johnston *et al.* (2014), Moore *et*

al. (2016) e Moore e Kelly (2015), e o ingurgitamento sanguíneo é capaz de provocar mudanças significativas no tamanho e na forma do sulco ejaculatório. Embora o significado funcional do tecido vascular durante a cópula permaneça ainda não esclarecido, propomos que o ingurgitamento do sulco ejaculatório esteja associado à formação de um tubo, reduzindo assim a perda de ejaculado e evitando a mistura de gametas com água que seja potencialmente prejudicial aos espermatozoides.

A papila do canal peritoneal comunica a cavidade peritoneal com o proctodeo. Na cavidade peritoneal, encontra-se um líquido, produzido pelas células do peritônio (BURGESS, 2004; MUTSAERS, 2002). O líquido peritoneal contém água, eletrólitos, solutos, proteínas e células. Esse líquido passa dos capilares peritoneais, através dos espaços intercelulares do peritônio, para a cavidade peritoneal e para os espaços linfáticos circundantes (BLACKBURN; STANTON, 2014). O líquido peritoneal é drenado para o proctodeo através dos canais peritoneais e pode proteger a superfície da mucosa cloacal do atrito das fezes e dos efeitos de substâncias tóxicas presentes na urina, além de poder contribuir para o sucesso reprodutivo dos animais.

A extremidade distal do falo é formada pela pseudoglande, que é a continuação distal do corpo fibroelástico. Nela se encontram a parte final do sulco ejaculatório e a fossa da pseudoglende, revestida externamente por tecido estratificado pavimentoso queratinizado. No interior da pseudoglande, encontra-se um complexo tecido vascular plexiforme e erétil. A ereção dessa estrutura fica evidente quando o falo protrai da cavidade proctodeal. Diferente da extremidade distal do falo, nos mamíferos, a extremidade distal do pênis apresenta uma dilatação abaulada, a glande do pênis, que é formada por uma dilatação do corpo esponjoso da uretra. Esses corpos esponjosos se encontram formados por uma complexa rede de trabéculas que delimitam espaços venosos. Essas trabéculas encontram-se revestidas por endotélio e são formadas por tecido conjuntivo com abundantes feixes de tecido muscular liso (COHN, 2011; DYCE; SACK; WESTING, 2004; NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). Assim, questionamos a denominação de glande à extremidade livre do falo de Crocodylia uma vez que ela não é parte constitutiva da uretra. O falo de Crocodylia não apresenta uretra, e seus corpos vasculares não apresentam musculatura lisa. Por esses motivos, sugerimos que seja utilizado o termo pseudoglande para nomear essa estrutura.

As informações disponíveis na literatura sobre a constituição histológica do corpo do falo de Crocodylia são conflitantes. Lankester; Hernandez-Divers (2005), descrevem o corpo do falo de crocodilo do Nilo como sendo formado por tecido cartilaginoso, sem apresentar evidências histológicas. Para Kelly (2013) e Moore; Kelly (2015) o corpo do falo de *A. mississippiensis* é formado exclusivamente por uma densa rede de fibras colágenas.

Diferente de Kelly (2013), Lankester e Hernandez-Divers (2005) e Moore e Kelly (2015), o corpo do falo das espécies de Crocodylia estudadas é rico em fibras colágenas e apresenta também abundante tecido elástico com fibras elásticas em maior proporção na periferia do corpo fibroelástico, na mucosa do corpo do falo e sob o sulco ejaculatório. Essas informações histológicas mudam o entendimento da consistência física do falo pois ele não é somente rígido para realizar a cópula, mas também elástico, para atenuar possíveis traumatismos durante a cópula.

O látex injetado parenteralmente sob pressão, através do corpo vascular na base do falo de *C. yacare*, não promoveu ereção do falo nem mudanças na curvatura do órgão, apenas produziu uma discreta dilatação dos corpos vasculares, fechamento do sulco ejaculatório e o ingurgitamento expressivo da pseudoglande. Esses resultados, associados com as caraterísticas morfológicas do órgão, indicam que os crocodilianos não apresentam uma verdadeira ereção. A falta de estruturas que possam levar à protrusão do órgão, como músculos protratrores, nos leva a concordar com Kelly (2013) que a protração do falo crocodiliano é efetuada pela contração da forte musculatura cloacal que também promove a liberação das diferentes substâncias produzidas pelas glândulas paracloacais (GARCIA-RUBIO *et al.*, 2002) que, de acordo com Weldon e Ferguson (1993), estão associadas à atividade de acasalamento.

Acrescentamos também que a pressão das vísceras, ocasionada pela contração da musculatura da cavidade corporal, contribui fundamentalmente para promover a protrusão do órgão. Dessa forma, o falo gira no sentido caudoventral, sai da cloaca e se dirige cranialmente, de tal forma que a face dorsal, durante o repouso do órgão, se torna ventral, e o fechamento do sulco ejaculatório permite a projeção do sêmen para dentro da cloaca feminina. Durante esse processo, o ligamento elástico, que se encontra preso entre o processo ventral do corpo fibroelástico e a sínfise isquiática, sofre um intenso esticamento e, quando cessam as forças que levaram o falo para fora da cloaca, a

energia armazenada no ligamento elástico retrai o falo para o interior da cloaca. Essas interpretações do mecanismo de retração do falo dos crocodilianos difere de Kelly, (2013), porque ela entende que é um tendão fibroso que promove o movimento de retração.

A reconstrução do estado ancestral de caracteres da cloaca e do falo das espécies de Crocodylia estudados neste trabalho mostrou que a prega uroproctodeal é uma sinapomorfia de Archosauria, sendo descrita em *N. maculosa* (OLIVEIRA *et al.*, 2004) e *O. canicollis* (PREVIATTO *et al.*, 2017).

O falo das espécies de Crocodylia apresenta um corpo vascular e um tecido erétil sanguíneo. Nas Aves, ocorreu uma modificação no estado do caráter, no qual, o mecanismo de ereção é linfático (BRENNAN; PRUM, 2011).

A abertura do ducto deferente e a fossa da pseudoglande são sinapomorfias de Crocodylia. O ligamento elástico é um caráter presente no ancestral de Archosauria e que em Aves é descrito apenas em Paleognathae que possuem falo eversível (GERHARDT, 1933; OLIVEIRA; MAHECHA, 2000; PREVIATTO *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

Pesquisas recentes apresentam novas informações sobre a cloaca e o órgão copulador de Crocodylia. Embora a cloaca das espécies estudadas apresente características básicas descritas para outros crocodilianos, foram observadas importantes características, como a semelhança histológica entre o reto e o coprodeo e entre o urodeo e o proctodeo. Também, foram observadas algumas particularidades do falo.

Cabe ressaltar que o estudo anatômico e histológico do falo se mostrou uma ferramenta importante para a compreensão da evolução das estruturas cloacais e, devido à complexidade das estruturas da cloaca e do falo, novas análises são recomendadas para se determinar, com maior precisão, as relações de homologias dos caracteres morfológicos, principalmente aqueles relacionados às espécies da família Crocodylidae.

FIGURAS CAPÍTULO III

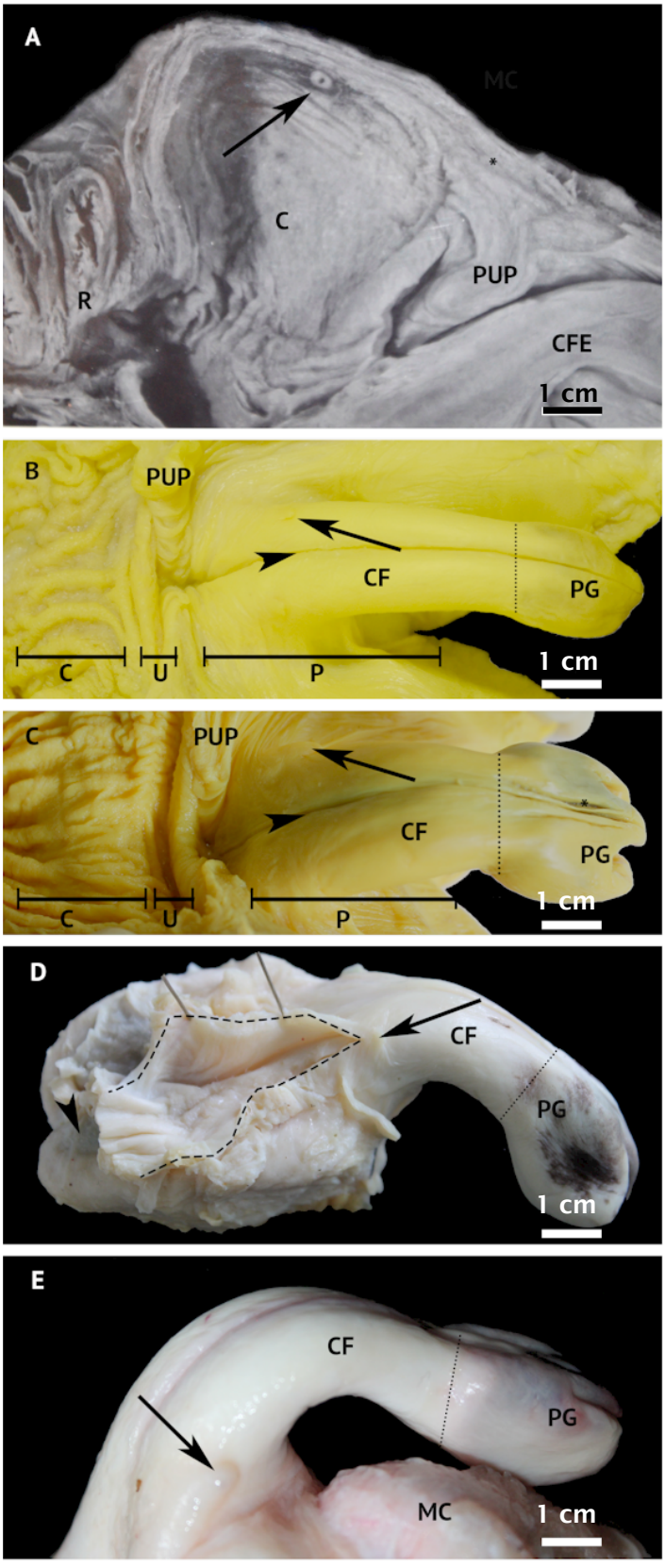


Figura 3.1 – Aspectos anatômicos da cloaca e do falo das espécies de Crocodylia. **A** – Corte sagital da cloaca e do falo de *C. yacare,* papila do ureter (**seta**), camadas

musculares (*****). **B** – Vista dorsal da cloaca e do falo de *P. palpebrosus*, aberta dorsalmente sulco ejaculatório (**cabeça de seta**) e papila do canal peritoneal esquerda (**seta**), limite cranial da pseudoglande (**linha pontilhada**). **C** – Vista dorsal da cloaca e do falo de *C. crocodilus,* aberta dorsalmente sulco ejaculatório (**cabeça de seta**), papila do canal peritoneal esquerdo (**seta**) e sulco lateral ao sulco ejaculatório na pseudoglande (*), limite cranial da pseudoglande (**linha pontilhada**). **D** – Vista lateral direita do falo de *C. yacare,* foi feito uma incisão na parede dorsal do canal peritoneal (**linha tracejada**) desde a abertura cranial até a papila (**seta**), corpo vascular sobre o ramo do falo (**cabeça de seta**) e limite cranial da pseudoglande (**linha pontilhada**) pigmentada. **E** – Vista lateral direita do falo de *C. latirrostris,* papila do canal peritoneal lateral ao corpo do falo (**seta**). Abreviações: **C**, coprodeo; **CF**, corpo do falo; **CFE**, corpo fibroelástico; **MC**, musculatura cloacal; **P**, proctodeo; **PG**, pseudoglande; **PUP**, prega uroproctodeal; **R**, reto; **U**, urodeo. **A** – **E** fixado em formol 10 %, **B** e **C** pós fixado em líquido Bouin.

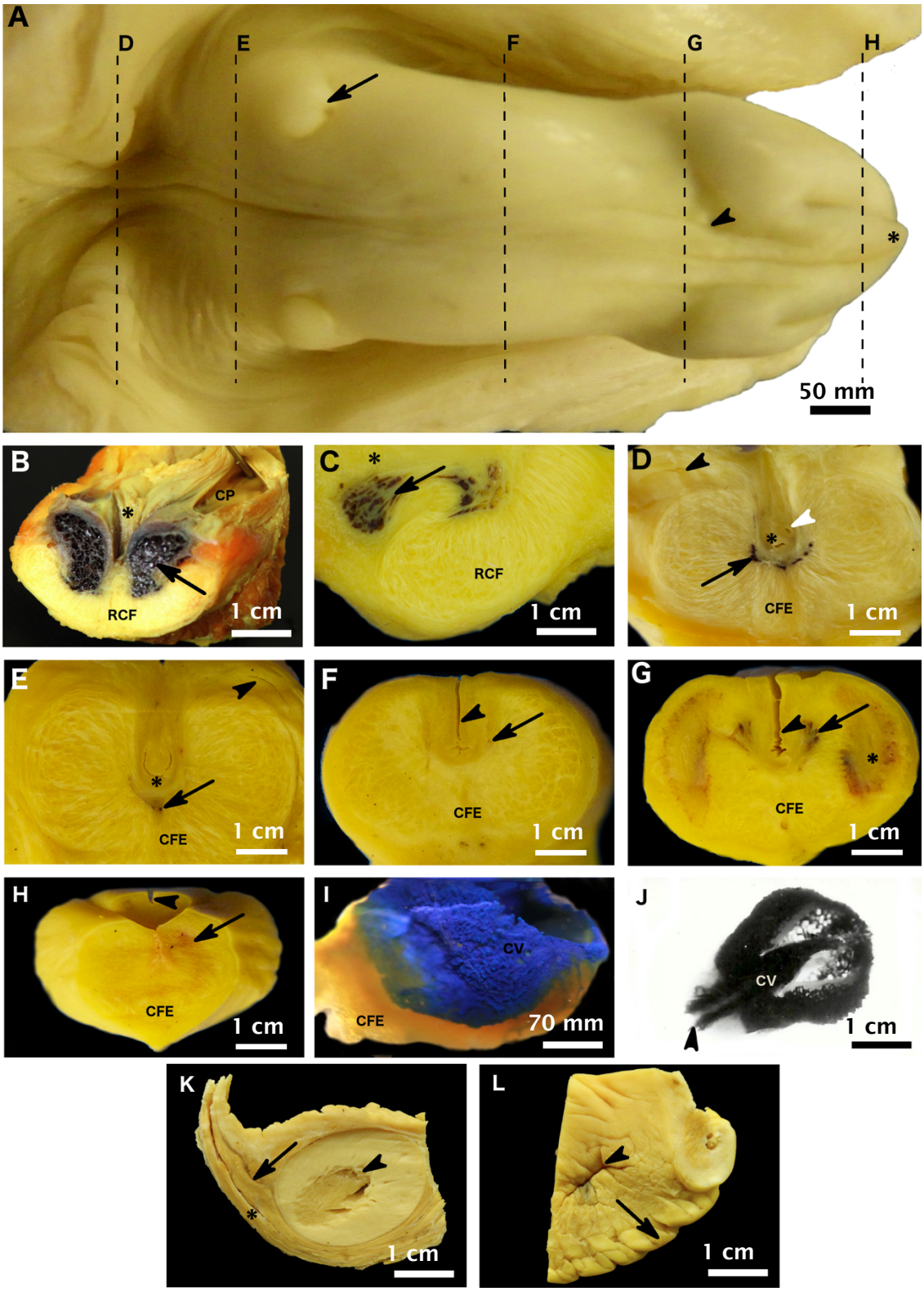


Figura 3.2 – Vista dorsal (**A**) e cortes transversais (**B** – **H**) do falo de *M. niger*, vista lateral e dorsal da pseudoglande (**I** – **J**) e aspectos anatômicos da glândula cloacal (**K** – **L**) de *C. yacare*. **A** – Vista dorsal do falo, papila do canal peritoneal (**seta**), sulco lateral ao sulco ejaculatório na pseudoglande (**cabeça de seta**) e extremidade distal do sulco ejaculatório em formato cônico (*), D – H cortes transversais destacados. **B** – Corte transversal da base do falo em vista caudal. A abertura cranial do canal peritoneal (**CP**)

foi distendida, corpo vascular (**seta**) sobre o ramo do corpo fibroelástico (**RCF**) e ligamento elástico revestindo dorsalmente o corpo vascular (*****). **C** – Vista lateral do corte longitudinal do ramo do corpo fibroelástico esquerdo, corpo vascular dorsal ao ramo do corpo fibroelástico (**seta**), ligamento elástico revestindo o corpo vascular (*****). **D** – Vista cranial de corte transversal do corpo do falo ao nível do seio genital (*****), ducto deferente (**cabeça de seta branca**), espaço vascular com sangue (**seta**), canal peritoneal colapsado (**cabeça de seta preta**). **E** – Vista cranial do corte transversal do corpo do falo ao nível do seio genital (*****) caudal à desembocadura dos ductos deferentes, espaço vascular (**seta**), canal peritoneal (**cabeça de seta preta**). **F** – Vista caudal de corte transversal da região média do falo, sulco ejaculatório de parede lisa e assoalho pregueado (**cabeça de seta**), espaço vascular lateral ao sulco ejaculatório (**seta**). **G** – Vista cranial de corte transversal do corpo do falo ao nível da região cranial da pseudoglande, sulco ejaculatório de parede lisa e assoalho pregueado (**cabeça de seta**), espaço vascular lateral ao sulco ejaculatório com sangue (**seta**), limite cranial do recesso da pseudoglande margeado por espaços vasculares com sangue (*****). **H** – Vista cranial de corte transversal da extremidade distal da pseudoglande, sulco ejaculatório (**cabeça de seta**), espaço vascular (**seta**). **I** – Vista lateral da pseudoglande, aspecto plexiforme do corpo vascular preenchido com látex corado de azul (**CV**), situado caudal ao corpo fibroelástico do falo (**CFE**). **J** – Vista dorsal da pseudoglande o corpo vascular (**CV**) e vaso sanguíneo (**cabeça de seta**). **K** – Corte longitudinal da glândula cloacal de *C. yacare* secreção no lúmen da glândula (**cabeça de seta**) A glândula está rodeada pelas camadas musculares do proctodeo. Camada muscular interna (**seta**) e externa (*****). **L** – Vista interna da cavidade proctodeal próxima a abertura cloacal (**seta**), é evidenciado a abertura da glândula cloacal (**cabeça de seta**). Abreviações: **CFE**, corpo fibroelástico; **CP**, canal peritoneal; **RCF**, ramo do corpo fibroelástico. **A** – **J** fixado em formol 10%, **A** – **H** pós fixado em líquido Bouin, **I** e **J** – diafanizados pelo método NaOH glicerina.

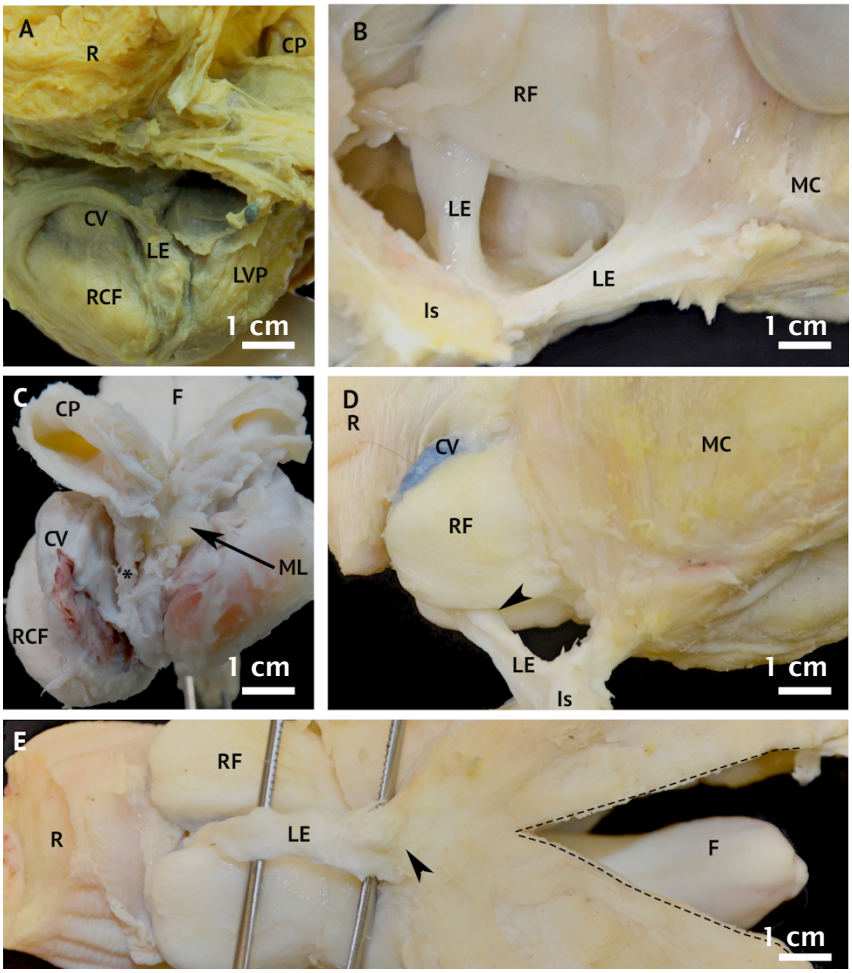


Figura 3.3 – Relações topográficas do ligamento elástico das espécies de Crocodylia. **A** – Vista cranial da base do falo de *C. crocodilus*, o reto (**R**) foi deslocado lateralmente para evidenciar a abertura cranial do canal peritoneal (**CP**) direito, o corpo vascular esquerdo (**CV**) é observado por transparência e está localizado sobre o ramo do corpo fibroelástico (**RCF**), lâmina visceral do peritônio (**LVP**) recobre o ramo do corpo fibroelástico do falo. O ligamento elástico (**LE**) está localizado entre os ramos do corpo fibroelástico do falo. **B** – Vista lateral da base do falo de *P. palpebrosus* destacando a inserção da região média do ligamento elástico (**LE**) à extremidade caudal do ísquio (**Is**). **C** – Vista da base do falo de *C. yacare*, destacando o corpo vascular (**CV**) sobre o ramo do corpo fibroelástico (**RCF**), o segmento cranial do ligamento elástico revestindo o corpo vascular (*****) músculo liso (**seta**), canal peritoneal (**CP**) e falo (**F**). **D** – Vista ventral da base do falo de *P. palpebrosus* destacando a inserção cranial do ligamento elástico entre os ramos do corpo do falo (**cabeça de seta**) e a inserção da região média à extremidade caudal do ísquio (**Is**), segmento cranial do ligamento (**LE**) e o corpo vascular direito (**CV**). **E** – Vista ventral da cloaca de *P. palpebrosus*, foi feito uma incisão ventral a partir da abertura da cloaca (**linha tracejada**) para evidenciar o falo (**F**), ligamento elástico (**LE**) distendido com pinça metálica, se projeta cranialmente entre os ramos do corpo do falo (**RF**) e caudalmente se insere no processo ventral do corpo fibroelástico do falo (**cabeça de seta**). Foi retirada a inserção do ligamento elástico com o ísquio. Abreviações**: CV**, corpo vascular; **CP**, canal peritoneal; **F**, falo; **LE**, ligamento elástico; **MC**, músculo cloacal; **R**, reto, **RCF**, ramo do corpo fibroelástico, **RF**, ramo da base do falo. **A** – **D** fixado em formol 10%, **A** – pós fixado em líquido Bouin.

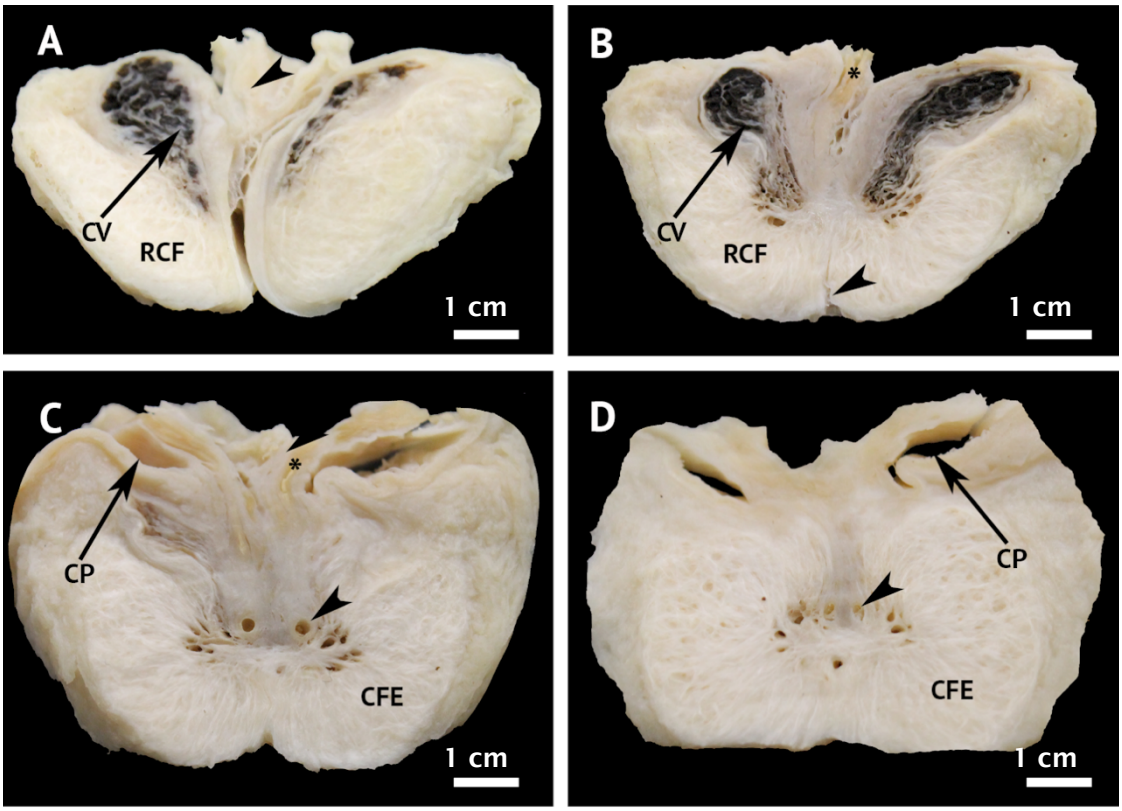


Figura 3.4 – Aspectos anatômicos da porção cranial do falo de *P. palpebrosus*. Os cortes foram realizados transversalmente no sentido crânio caudal **A** – **D** e apresentados em vista cranial. **A** – Base do falo ao nível do corpo vascular é indicado o corpo vascular (**CV**) sobre o ramo do corpo fibroelástico (**RCF**) e o ligamento elástico revestindo o corpo vascular (**cabeça de seta**). **B** – Base do falo ao nível da penetração do ducto deferente no falo (*****) é evidenciado corpo vascular (**CV**) sobre o ramo do corpo fibroelástico e a rafe unindo os ramos do corpo fibroelástico (**cabeça de seta**). **C** – Base do falo ao nível do ducto deferente cranial ao seio genital, canal peritoneal (**CP**), o percurso ventral do ducto deferente em direção ao seio genital (*****) e o ducto deferente ocupando a mucosa do seio genital (**cabeça de seta**). **D** – Base do falo caudal à penetração do ducto deferente e cranial ao seio genital evidenciando o ducto deferente (**cabeça de seta**) e canal peritoneal (**CP**). Abreviações: **CFE**, corpo fibroelástico; **CP**, canal peritoneal; **RCF**, ramo do corpo fibroelástico. **A** – **F** fixado em formol 10 %.

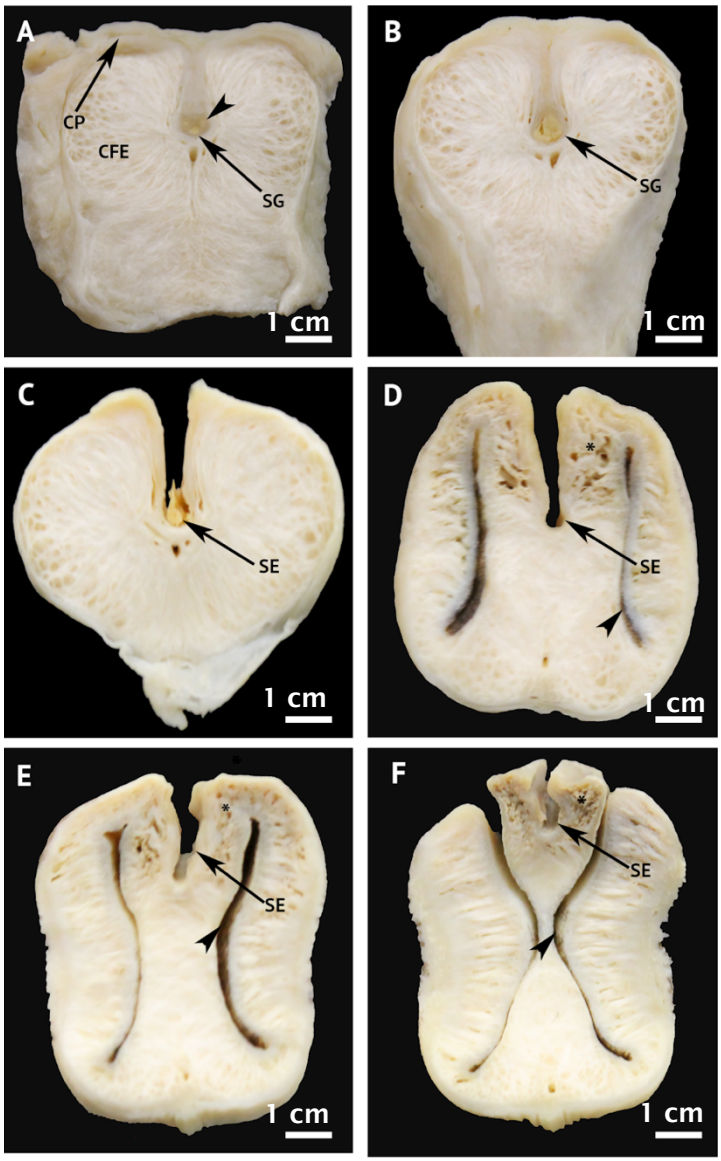


Figura 3.5 – Aspectos anatômicos do corpo do falo de *P. palpebrosus*. Os cortes foram realizados transversalmente no sentido crânio caudal e apresentados em vista cranial **A** – Corpo do falo ao nível do seio genital (**SG**) cranial à desembocadura do ducto deferente com massa densa de espermatozoides, são evidenciados o ducto deferente com espermatozoides (**cabeça de seta**) e canal peritoneal (**CP**) na região dorsal do corpo do falo. **B** – Corpo do falo ao nível do seio genital caudal à desembocadura dos ductos deferentes, é evidenciado seio genital (**SG**) com espermatozoides no interior. **C** – Corte transversal da região média do corpo do falo. Evidencia-se sulco ejaculatório com massa densa de espermatozoides em seu fundo (**seta**). **D** – Região cranial da pseudoglande são indicados espaços vasculares (*****) ao lado da parede do sulco ejaculatório e fossa da pseudoglande (**cabeça de seta**). **E** – Região média da pseudoglande espaços vasculares (*****) laterais ao sulco ejaculatório e fossa da pseudoglande (**cabeça de seta**). **F** – Região distal da pseudoglande, o sulco ejaculatório termina em um formato cônico é evidenciado espaços vasculares (*****) laterais ao sulco ejaculatório e recesso da pseudoglande (**cabeça de seta**). Abreviações: **CFE**, corpo fibroelástico; **CP**, canal peritoneal; **SE**, sulco ejaculatório; **SG**, seio genital. **A** – **F** fixado em formol 10 %.

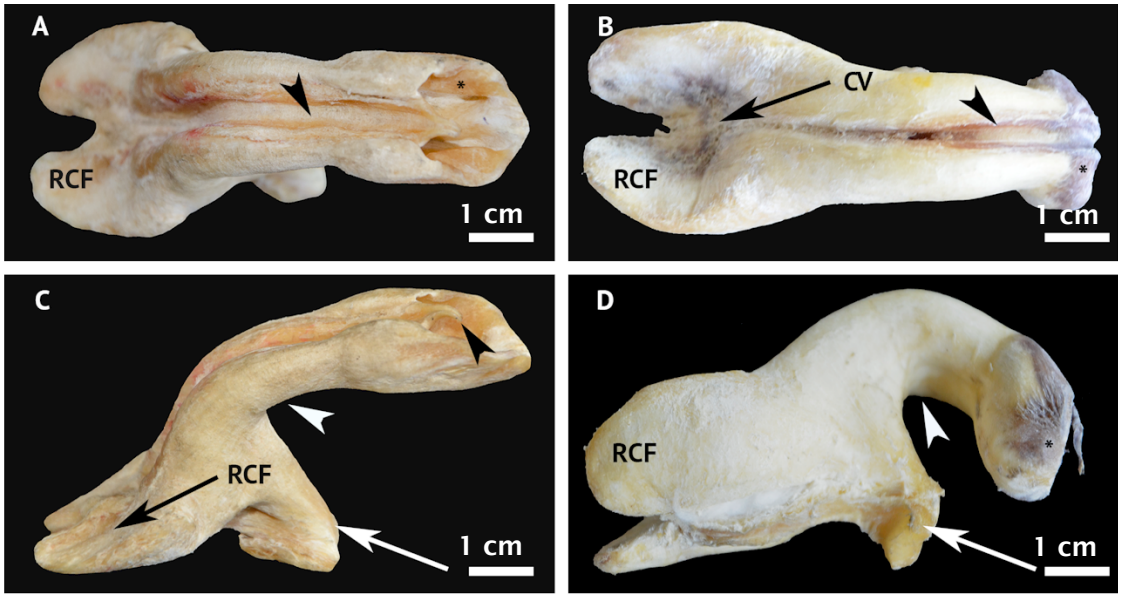


Figura 3.6 – Corpo fibroelástico do falo de *C. crocodilus* e *C. latirrostris*. Foram removidas a mucosa e estruturas anexas do falo **A** – Vista dorsal do corpo fibroelástico do falo de *C. crocodilus*, sulco mediano (**cabeça de seta**) e recesso da pseudoglande (*). **B** – Vista dorsal do corpo fibroelástico do falo *C. latirrostris*, corpo vascular (**CV**) localizado sobre o ramo do corpo fibroelástico, espaço vascular localizado lateralmente ao sulco ejaculatório (**cabeça de seta**) e espaço vascular na pseudoglande (*). **C** – Vista lateral do corpo fibroelástico do falo de *C. crocodilus*, concavidade dorsal do ramo do corpo fibroelástico (**seta**) que sustenta o corpo vascular, a curvatura ventral do corpo fibroelástico (**cabeça de seta branca**), a extremidade distal do sulco ejaculatório (**cabeça de seta preta**) e processo ventral do corpo fibroelástico (**seta branca**). **D** – Vista oblíqua ventral do corpo fibroelástico do falo de *C. latirrostris* é indicado o processo ventral do corpo fibroelástico (**seta branca**), a curvatura ventral do corpo fibroelástico (**cabeça de seta branca**) e o espaço vascular da pseudoglande visualizado por transparência (*****). Abreviações: **RCF**, ramo do corpo fibroelástico.

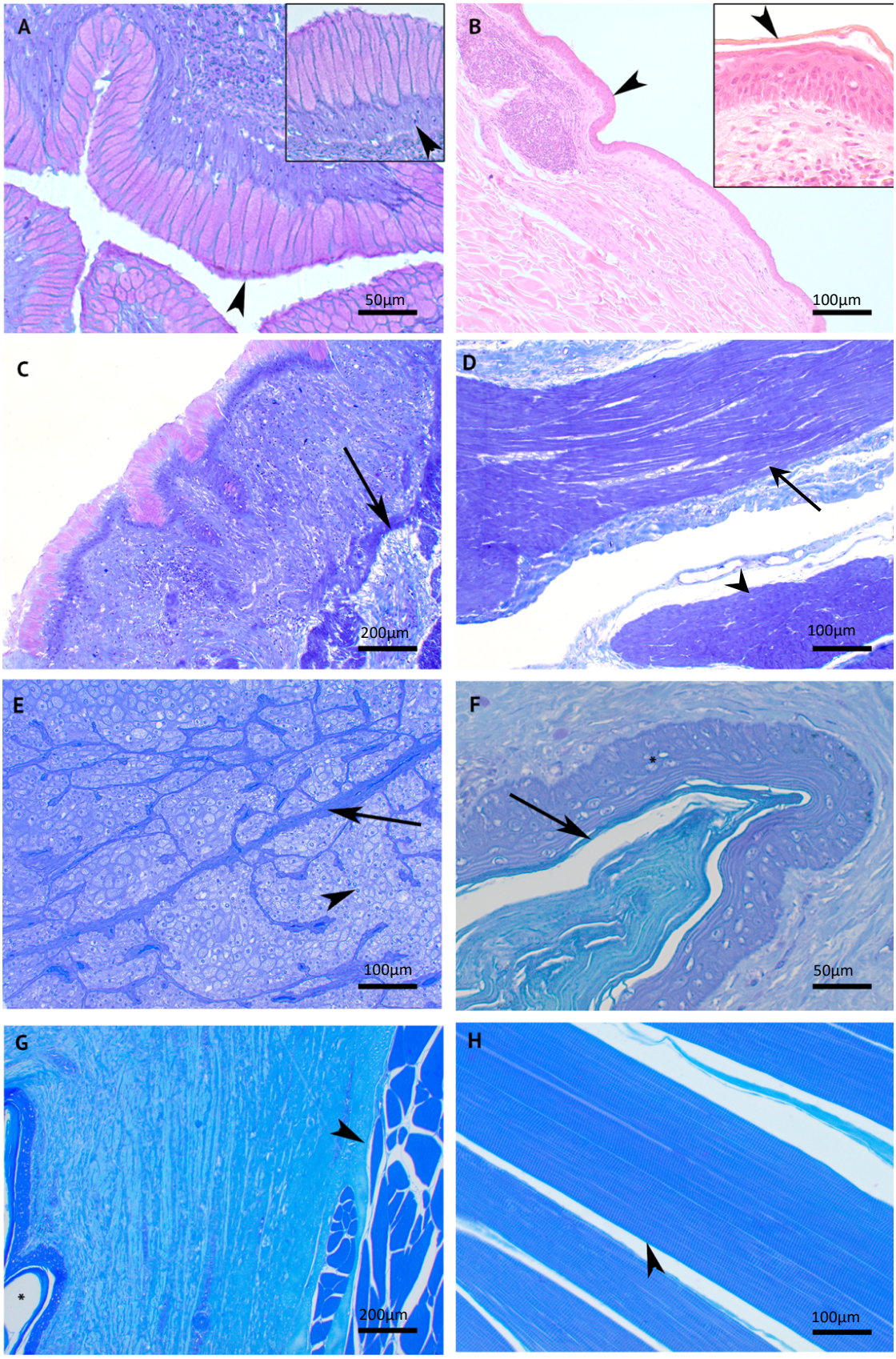


Figura 3.7 – Aspectos histológicos dos compartimentos cloacais e da glândula paracloacal de *C. yacare*. **A** – Corte transversal do reto, epitélio de revestimento cilíndrico simples mucíparo (**cabeça de seta**). No encarte, aspecto histológico do epitélio

cilíndrico simples mucíparo do coprodeo (**cabeça de seta**). **B** – Corte histológico da cloaca ao nível do urodeo de *C. yacare*, epitélio de revestimento estratificado pavimentoso não queratinizado (**cabeça de seta**). No encarte, aspecto histológico da cloaca ao nível do proctodeo, epitélio estratificado pavimentoso queratinizado (**cabeça de seta**). **C** – Corte histológico do coprodeo camada muscular da mucosa (**seta**). **D** – Corte longitudinal da parede do proctodeo, camada muscular interna formada por fibras dispostas circularmente (**seta**) e a camada muscular externa formada por fibras dispostas longitudinalmente (**cabeça de seta**). **E** – Aspecto histológico da glândula paracloacal, septos conjuntivos do estroma com vasos sanguíneos no seu interior (**seta**); parênquima secretor formado por células poliédricas com aspecto de granulações lipídicas (**cabeça de seta**). **F** – Aspecto histológico da glândula paracloacal destacando o ducto da glândula (*) com material secretado e descamações de camadas queratinizadas (**seta**). **G** – Corte longitudinal da parede do proctodeo. Epitélio de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado na luz do órgão (*****) destacando a camada muscular com aspecto de musculatura estriada esquelética (**cabeça de seta**). **H** – Detalhe da musculatura estriada esquelética (da figura **G**) que envolve o proctodeo é evidenciado as estrias transversais da musculatura esquelética (**cabeça de seta**). Inclusão em metacrilato, coloração azul toluidina borato de sódio **A**, **C** – **H**. Inclusão em parafina, coloração HE, **B.**

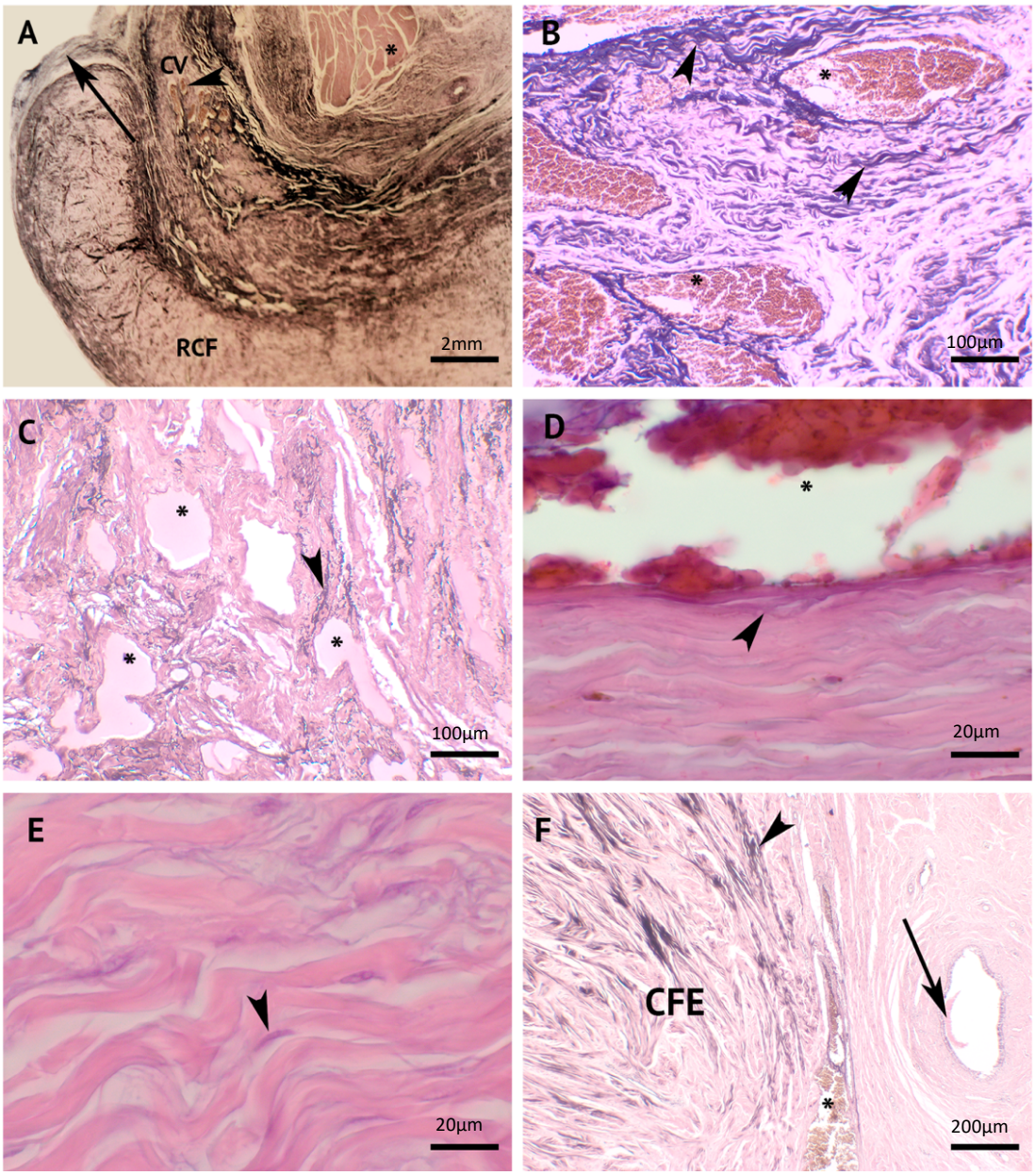


Figura 3.8 – Aspectos histológicos do corpo vascular do falo de Crocodylia. **A** – Corte longitudinal intermédio do ramo do falo de *M. niger*, ramo do corpo fibroelástico do falo (**RCF**) com concavidade dorsal, corpo vascular (**CV**) sobre o ramo do corpo fibroelástico com hemácias no interior dos espaços (**cabeça de seta**) e feixes de musculatura lisa (*****) dorsal ao corpo vascular. O ligamento elástico (**seta**) recobre parcialmente o ramo do corpo fibroelástico e o corpo vascular. **B** – Corpo vascular do falo de *M. niger*, espaços sanguíneos com hemácias no interior (*), trabéculas de tecido conjuntivo com fibras elásticas paralelas e onduladas (**cabeça de seta**). **C** – Corpo vascular do falo de *C. crocodilus,* espaços sanguíneos com coágulos (*) e trabéculas de tecido conjuntivo com fibras elásticas (**cabeça de seta**). **D** – Detalhe do corpo vascular do falo de *M. niger* com hemácias no interior (*****) limitado por tecido conjuntivo com fibras elásticas (**cabeça de seta**). **E** – Detalhe das trabéculas de tecido conjuntivo do corpo vascular de *M. niger* é evidenciado os núcleos achatados dos fibrócitos (**cabeça de seta**). **F** – Corpo vascular do falo de *M. niger* com hemácias no interior (*****) localizados lateralmente ao ducto deferente com massa de espermatozoides no interior (**seta**) e medialmente ao corpo

fibroelástico do falo (**CFE**) é evidenciado feixes de fibras elásticas (**cabeça de seta**). Abreviações: **CFE**, corpo fibroelástico do falo; **RCF**, ramo do corpo fibroelástico. Inclusão em parafina, **A** – **F**. Coloração de Verhoeff, **A** – **C** e **F**; HE, **D** e **E**.

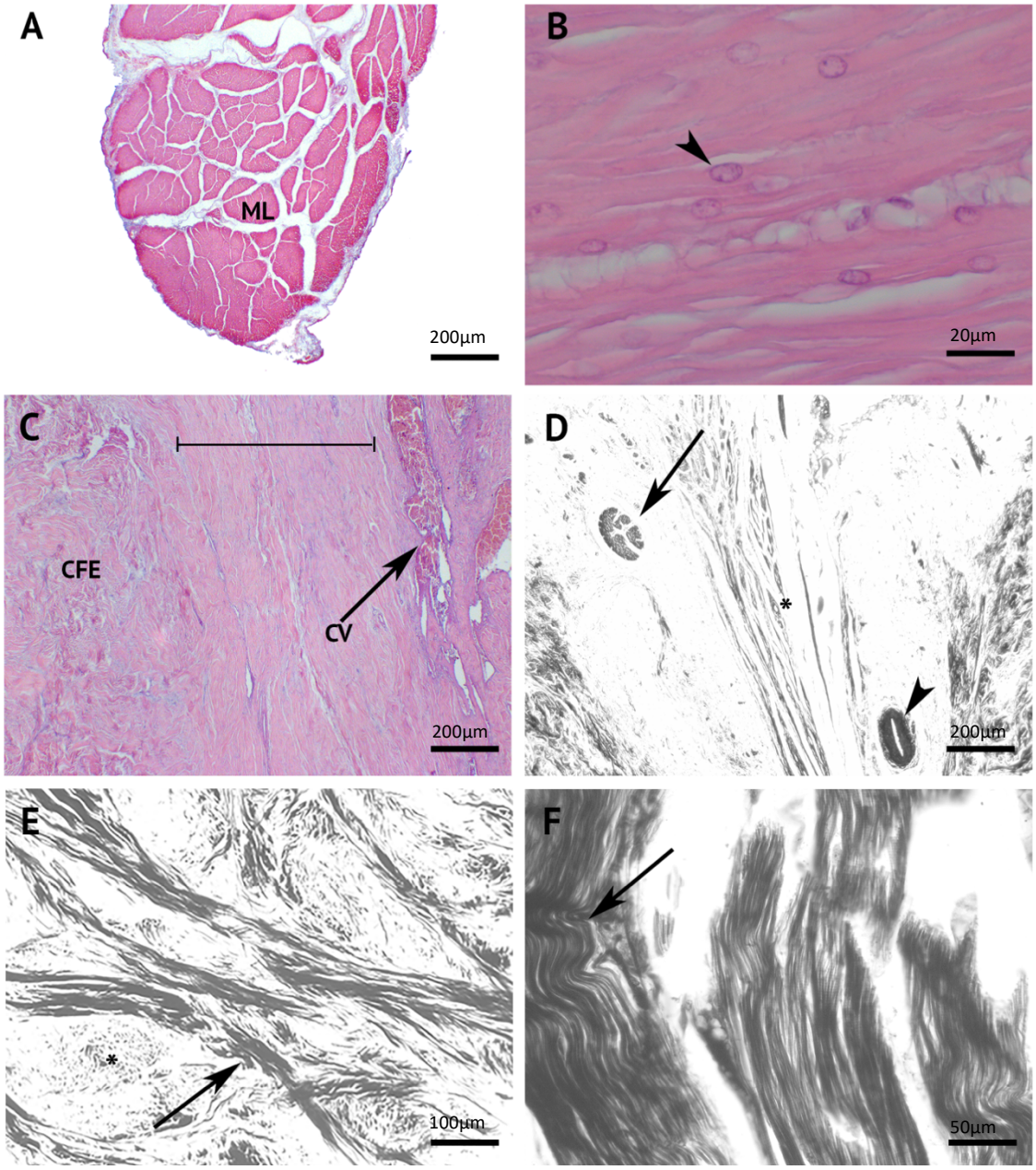


Figura 3.9 – Aspectos histológicos do músculo liso e do ligamento elástico do falo das espécies de Crocodylia. **A** – Corte transversal do feixe de musculatura lisa, próximo aos ramos do corpo fibroelástico do falo de *M. niger*. **B** – Detalhe das fibras de músculo liso (da figura **A**), núcleo de célula (**cabeça de seta**). **C** – Corte transversal da extremidade cranial do ramo do corpo fibroelástico do falo de *M. niger*, o corpo vascular com hemácias no interior (**seta**) revestido por tecido conjuntivo rico em fibras elásticas (**linha contínua**). **D** – Corte transversal do ligamento elástico próximos aos ramos do corpo fibroelástico do falo de *P. palpebrosus*, feixe de musculatura lisa (**seta**) e tecido conjuntivo com fibras elásticas (*). Vaso sanguíneo para confirmação de fibras elásticas (**cabeça de seta**). **E** – Corte transversal da região média do ligamento elástico de *P. palpebrosus*, tecido conjuntivo com fibras elásticas em direções transversais (*****) e longitudinais (**seta**). **F** – Detalhe das fibras elásticas onduladas (**seta**) do ligamento elástico de *P. palpebrosus*. Abreviações: **CFE**, corpo fibroelástico; **CV**, corpo vascular; **ML**, músculo liso. Inclusão em parafina, **A** – **F**. Coloração HE, **A** – **C**; Verhoeff, **D** **F**.

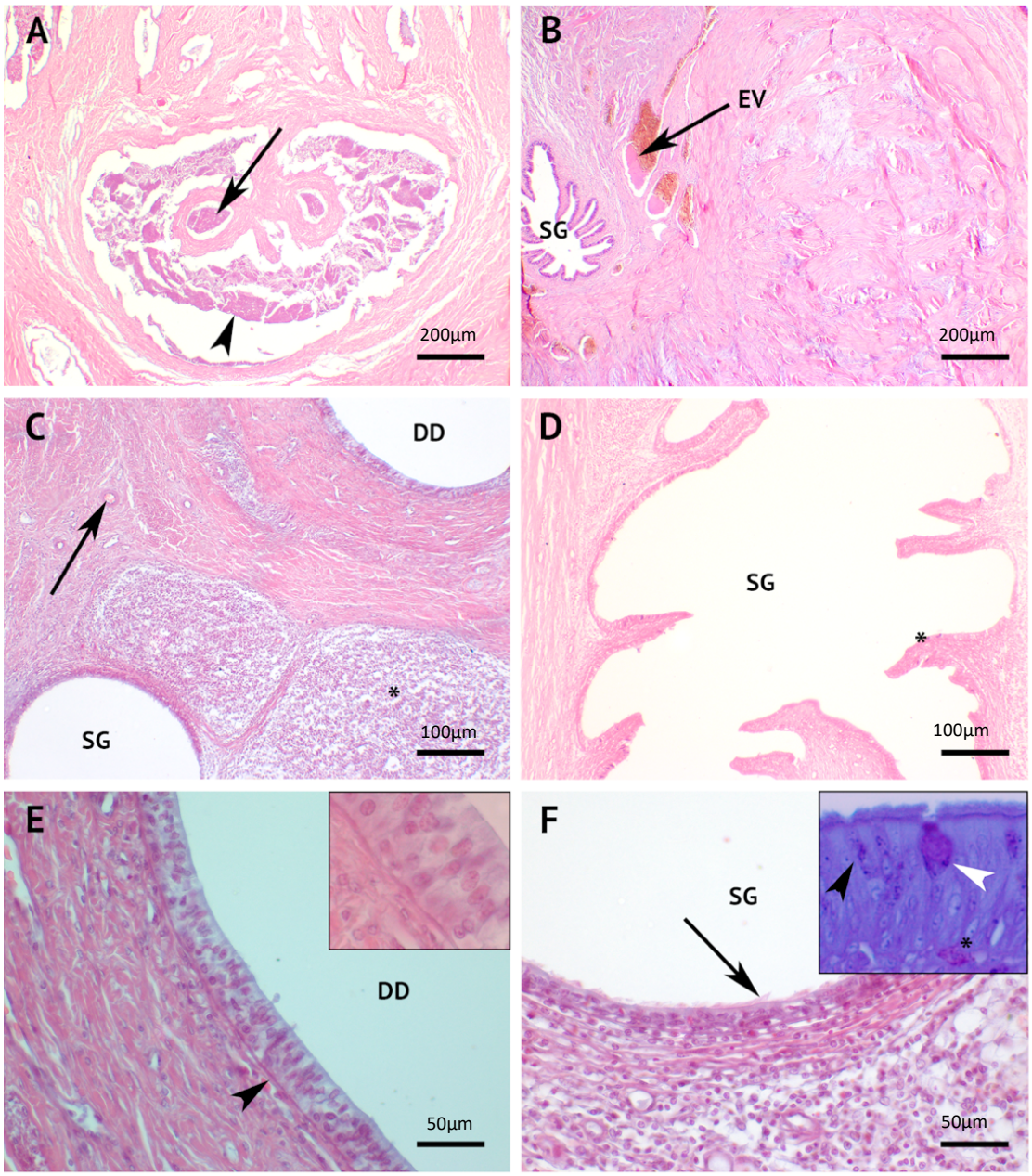


Figura 3.10 – Aspectos histológicos do seio genital das espécies de Crocodylia. **A** – Corte transversal da extremidade cranial do corpo do falo de *C. crocodilus* ao nível do seio genital com espermatozoides (**cabeça de seta**) e ducto deferente com espermatozoides no interior (**seta**). **B** – Corte transversal do corpo do falo de *C. latirrostris* ao nível do seio genital (**SG**) caudal à desembocadura do ducto deferente observa-se espaço vascular com hemácias e coágulo no interior (**seta**). **C** – Corte transversal do seio genital do falo de *M. niger*, o ducto deferente (**DD**) localiza-se dorsolateralmente ao seio genital (**SG**), infiltrados linfáticos (*) na mucosa do seio genital. É evidenciado vaso sanguíneo com hemácias no interior (**seta**). **D** – Corte transversal do seio genital (**SG**) do falo de *M. niger*, caudal a desembocadura dos ductos deferentes. São observadas saculações da mucosa do seio genital (*). **E** – Detalhe do epitélio colunar pseudoestratificado do ducto deferente próximo ao seio genital de *M. niger* apoiado sobre a membrana basal (**cabeça de seta**). **F** – Corte histológico do seio genital. Epitélio de revestimento pseudoestratificado ciliado (**seta**). No encarte, células não ciliadas com grânulos de

secreção (**cabeça de seta preta**), células caliciformes (**cabeça de seta branca**) e mastócitos no tecido conjuntivo subepitelial (*****), inclusão metacrilato, coloração azul de toluidina-borato de sódio. Abreviações: **DD**, ducto deferente; **SG**, seio genital; **EV**, espaço vascular. Inclusão em parafina, coloração HE, **A** – **F**.

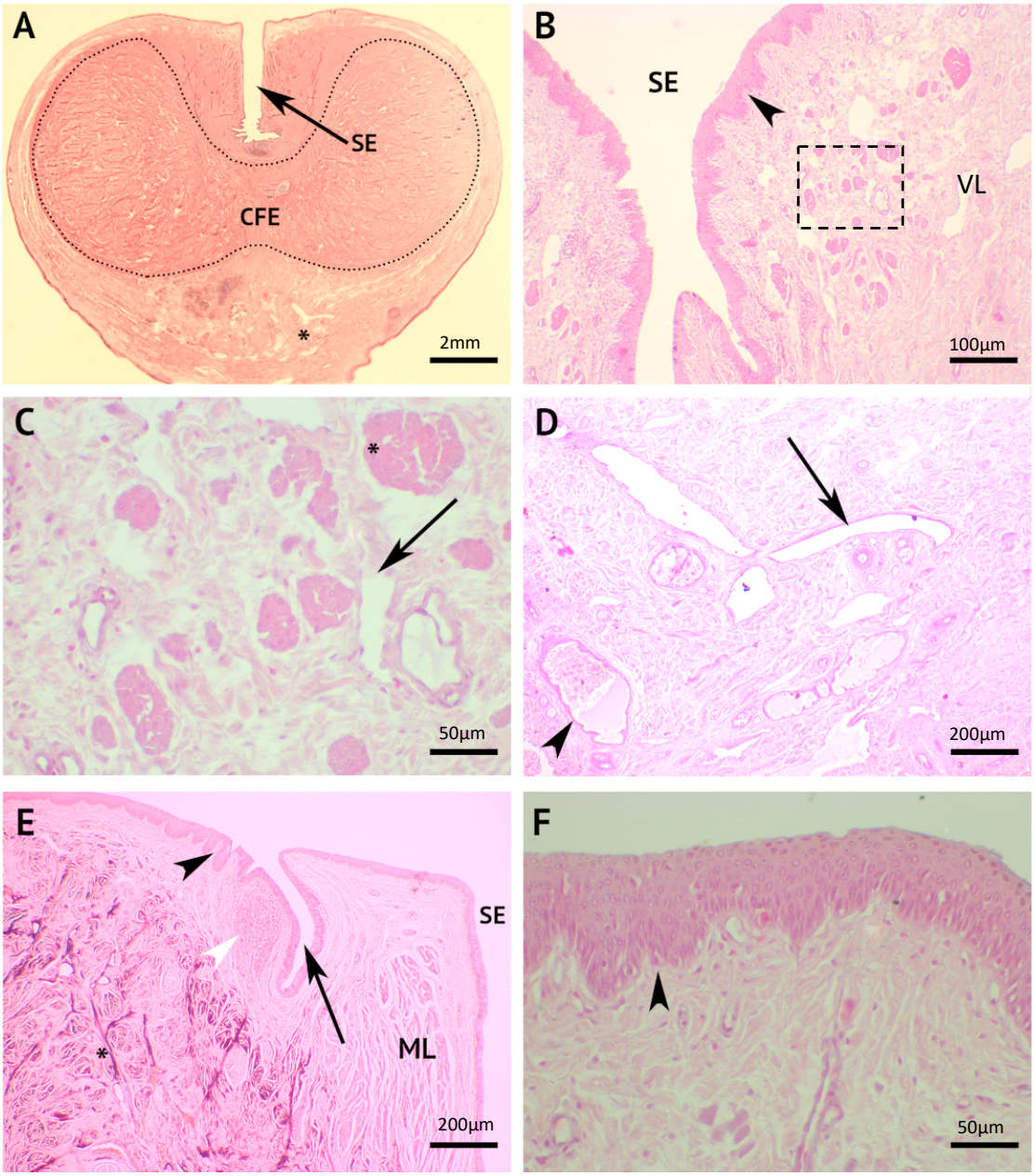


Figura 3.11 – Aspectos histológicos do falo de Crocodylia. **A** – Corte transversal da região média do corpo do falo de *M. niger*, sulco ejaculatório (**seta**) com parede lateral lisa e fundo pregueado, corpo fibroelástico do falo (**linha pontilhada**) envolvido por mucosa (*****). **B** – Corte transversal da extremidade cranial do corpo do falo de *M. niger*, início do sulco ejaculatório (**SE**), epitélio de revestimento estratificado pavimentoso não queratinizado com papilas dérmicas (**cabeça de seta**), feixes de músculo liso (**linha tracejada em destaque**) e vasos linfáticos (**VL**) ao lado do sulco ejaculatório. **C** – Detalhe dos feixes de músculo liso longitudinais (*) e vasos linfáticos (**seta**) localizados lateralmente ao sulco ejaculatório do falo de *M. niger*. **D** – Corte transversal da mucosa com tecido conjuntivo frouxo ventral ao corpo fibroelástico, vasos linfáticos (**seta**) e vasos sanguíneos com coágulo e hemácias (**cabeça de seta**). **E** – Corte transversal do corpo do falo de *C. crocodilus*, papilas dérmicas do epitélio (**cabeça de seta**), sulco lateral (**seta**), feixes de musculo liso (**ML**) laterais ao sulco ejaculatório (**SE**), infiltrado linfocitário na mucosa (**cabeça de seta branca**) e corpo fibroelástico com fibras elásticas

(*). **F** – Detalhe do epitélio de revestimento estratificado pavimentoso não queratinizado (**cabeça de seta**) da mucosa da região dorsal do corpo do falo de *M. niger*. Abreviações: **SE**, sulco ejaculatório; **ML**, músculo liso; **VL**, vaso linfático; **CFE**, corpo fibroelástico. Inclusão em parafina, **A** – **F**. Coloração HE, **A** – **D** e **F**; Verhoeff, **E**.

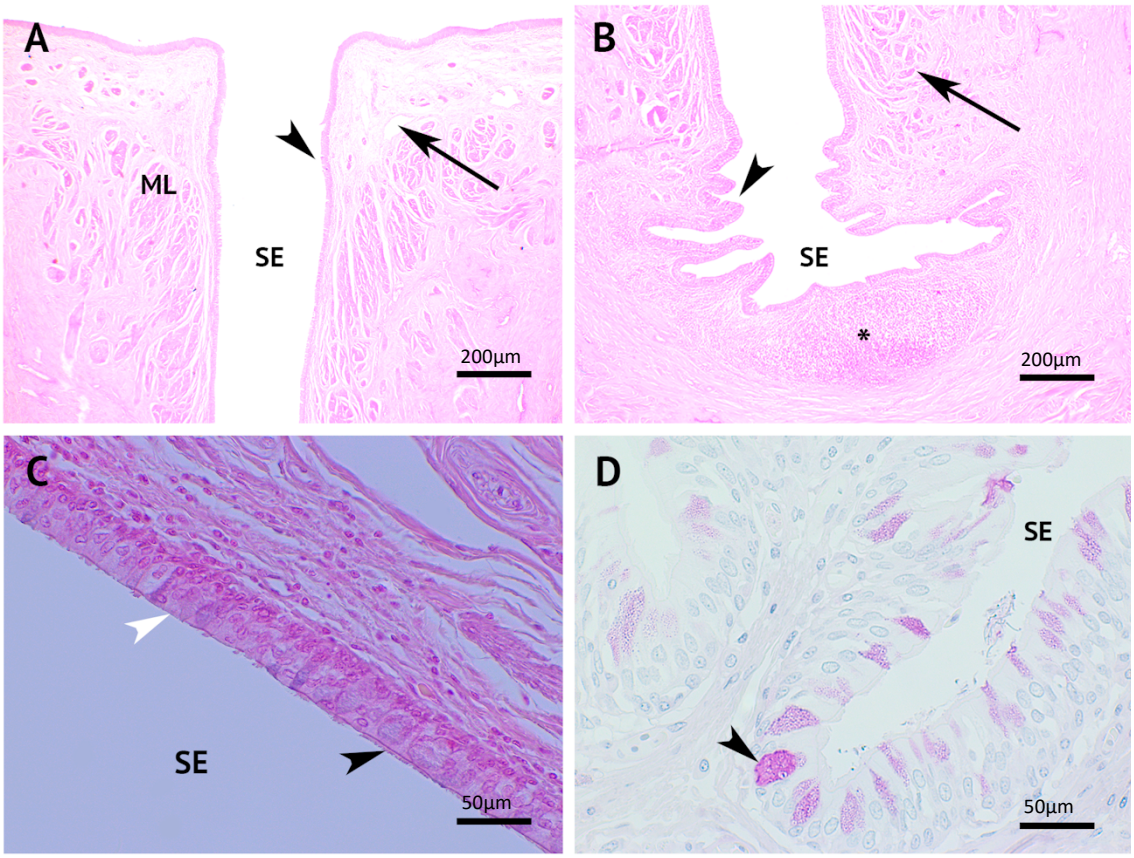


Figura 3.12 – Aspectos histológicos do sulco ejaculatório de Crocodylia. **A** – Corte transversal da região média do corpo do falo de *M. niger,* sulco ejaculatório (**SE**) com paredes lisas (**cabeça de seta**), feixes de musculatura lisa (**ML**) e vasos linfáticos (**seta**) laterais ao sulco ejaculatório. **B** – Corte transversal da região média do corpo do falo de *M. niger*, feixes de músculo liso (**seta**) lateral ao sulco ejaculatório, fundo do sulco ejaculatório (**SE**) com saculações (**cabeça de seta**), infiltrado linfocitário na mucosa ventral ao sulco ejaculatório (*****). **C** – Detalhe da transição do epitélio de revestimento pseudoestratificado cilíndrico da parede do sulco ejaculatório do falo de *M. niger*, células não ciliadas (**cabeça de seta branca**) e células ciliadas (**cabeça de seta preta**). **D** – Detalhe do epitélio de revestimento pseudoestratificado cilíndrico ciliado do assoalho do sulco ejaculatório do falo de *C. yacare* células com grânulos de secreção PAS positivo (**cabeça de seta**). Abreviações: **ML**, músculo liso; **SE**, sulco ejaculatório. Inclusão em parafina, **A** – **D**. Coloração HE, **A** – **C**. PAS, **D**.

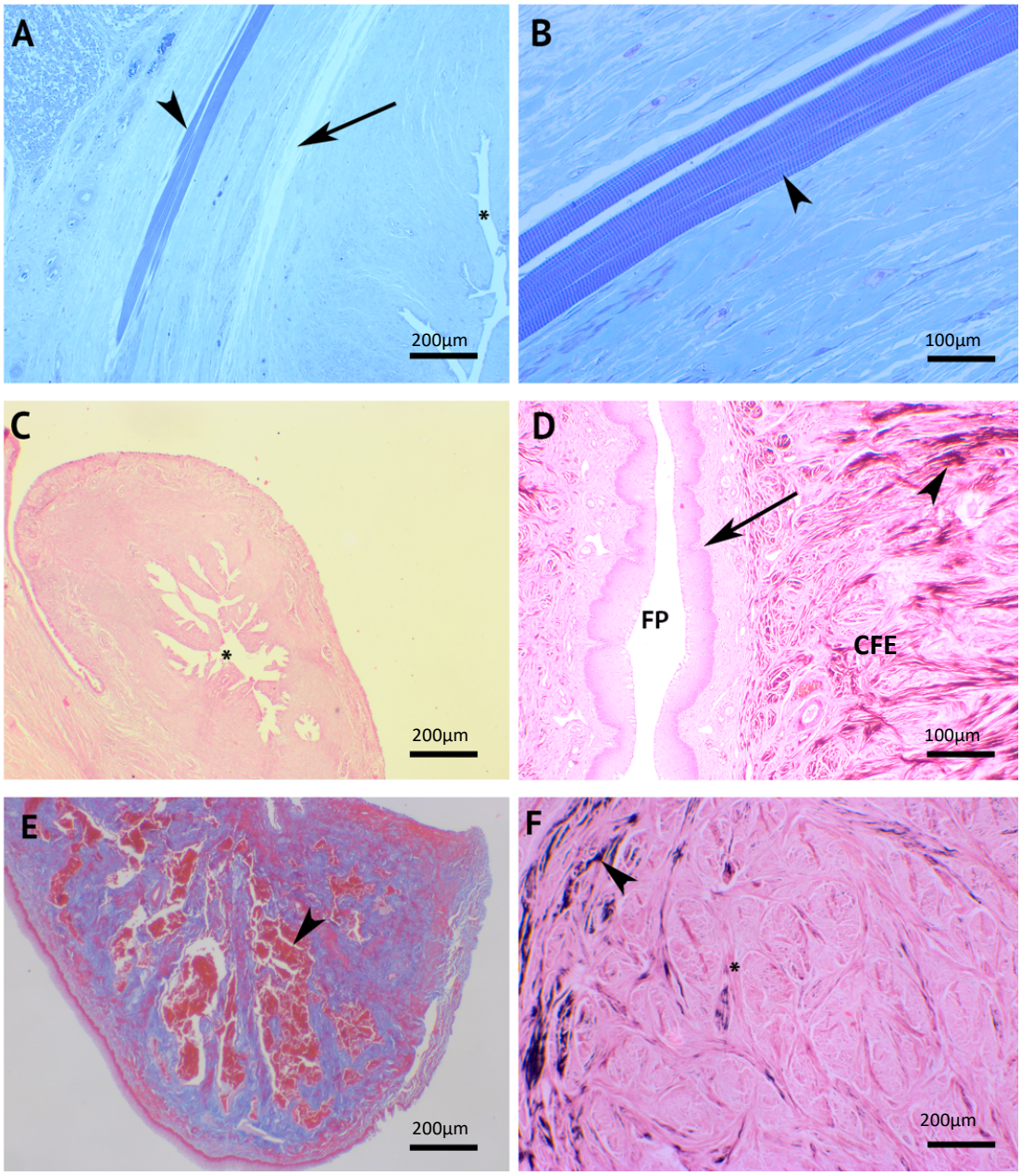


Figura 3.13 – Aspectos histológicos do canal peritoneal e pseudoglande de Crocodylia. **A** – Corte transversal da região média do canal peritoneal de *C. yacare*, canal peritoneal (*****) envolvido por tecido conjuntivo denso com grande quantidade de fibras colágenas e tecido conjuntivo frouxo (**seta**), musculatura estriada esquelética (**cabeça de seta**). **B** – Detalhe musculatura estriada esquelético (figura **A**) com estriação transversal (**cabeça de seta**). **C** – Corte transversal da papila do canal peritoneal de *M. niger*, com mucosa pregueada (*****). **D** – Corte transversal da região da pseudoglande do falo de *C. crocodilus*, epitélio de revestimento estratificado (**seta**) da fossa da pseudoglande (**FP**) e corpo fibroelástico do falo (**CFE**) com fibras elásticas (**cabeça de seta**). **E** – Corte transversal da extremidade distal da pseudoglande do falo de *C. latirrostris*, espaço vascular com hemácias no interior (**cabeça de seta**). **F** – Corte transversal do corpo fibroelástico do falo de *M. niger*, tecido conjuntivo denso com grande quantidade de fibras colágenas em diferentes direções (*) e poucas fibras elásticas (**cabeça de seta**) localizadas na periferia do corpo. Abreviações: **FP**, fossa da pseudoglande Inclusão metacrilato,

coloração azul de tuloidina borato de sódio, **A** – **B.** Inclusão em parafina, coloração HE, **C**; Verhoeff, **D** e **F**; tricrômico de Mason, **E**.

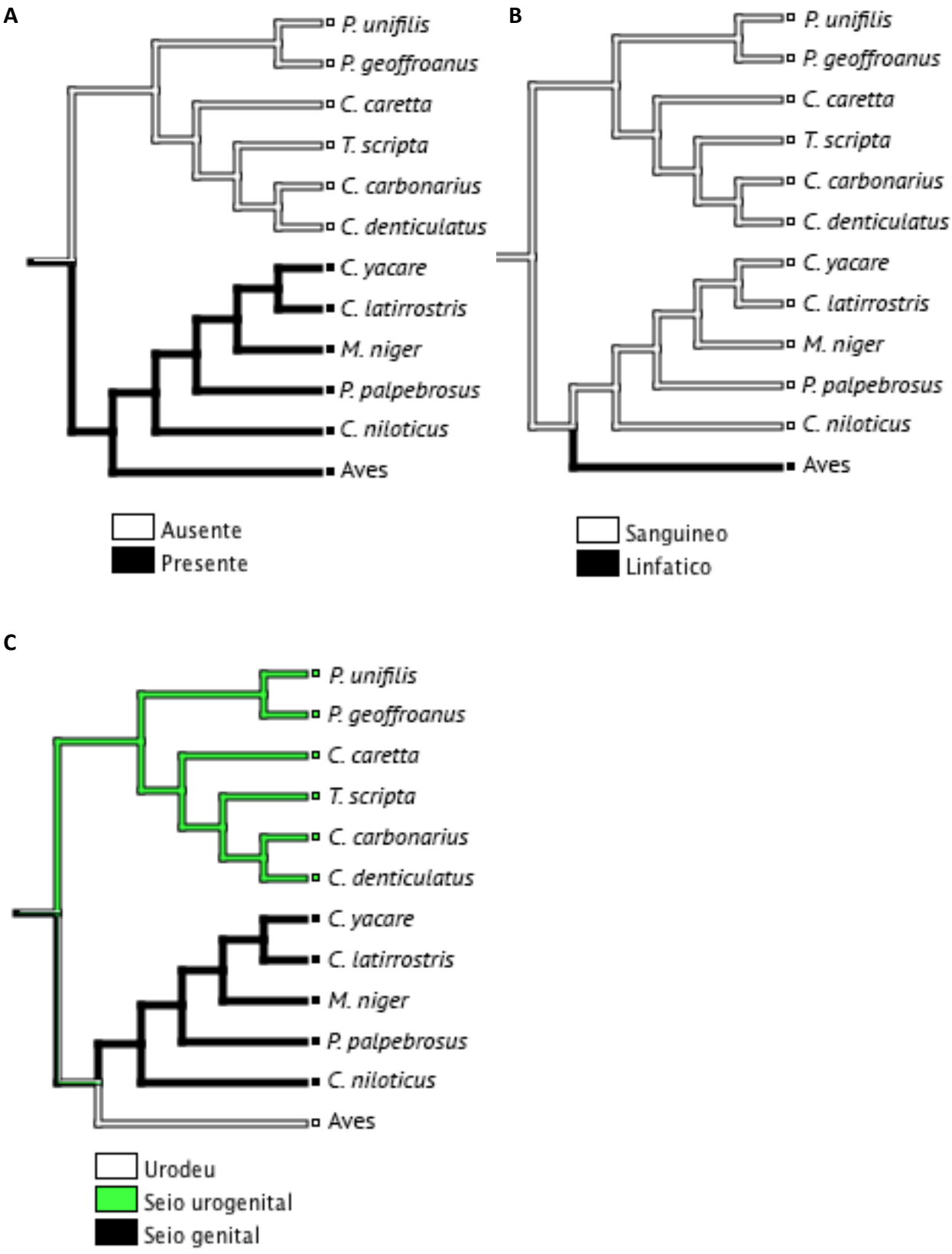


Figura 3.14 – Reconstrução do estado ancestral. **A** – Prega uroproctodeal. **B** – Tecido erétil. **C** – Ducto deferente. Filogenia adaptada (CRAWFORD, N. G. *et al.*, 2012; CRAWFORD, NICHOLAS G. *et al.*, 2015; GATESY; AMATO, 2008; WANG *et al.*, 2014).

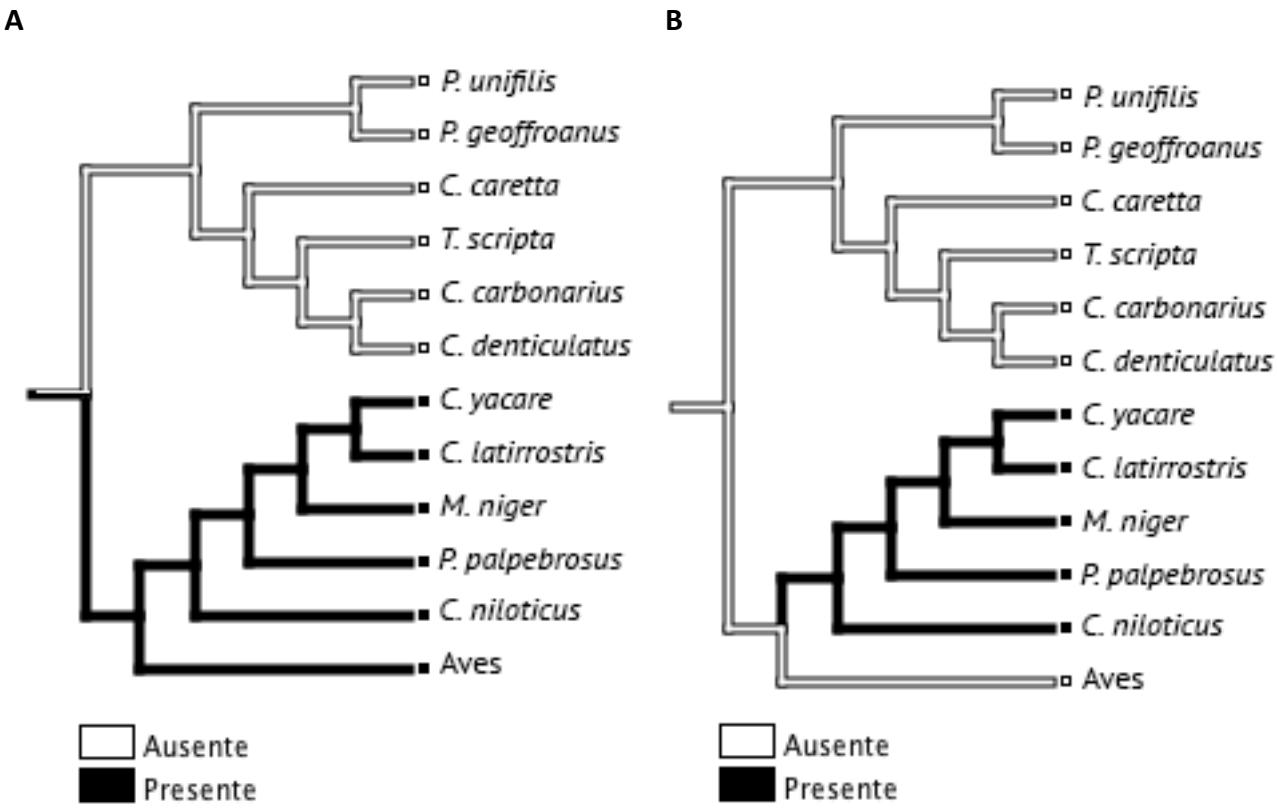


Figura 3.15 – Reconstrução do estado ancestral. **A** – Ligamento elástico. **B** – Fossa da pseudoglande. Filogenia adaptada (CRAWFORD, N. G. *et al.*, 2012; CRAWFORD, NICHOLAS G. *et al.*, 2015; GATESY; AMATO, 2008; WANG *et al.*, 2014).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escassez de informações sobre o canal peritoneal de Crocodylia verificada por meio da revisão de literatura, juntamente com a complexidade da estrutura, observada neste trabalho, sugerem que investigações adicionais devem ser realizadas para elucidar os complexos mecanismos que envolvem a morfofisiologia do canal peritoneal em Crocodylia. Assim, é relevante esboçar sugestões orientadas com o propósito de abordar algumas das questões não elucidadas neste trabalho.

Faz-se necessário estabelecer, de forma conclusiva, a partir de dados ultraestruturais associados a estudos fisiológicos, o mecanismo de condução do líquido peritoneal através do canal peritoneal.

Cabe ressaltar que uma análise qualitativa do líquido peritoneal poderia estabelecer uma relação dos componentes deste fluido com a viabilidade dos espermatozoides e possíveis modificações do trato reprodutivo feminino. Assim, essas análises são fortemente recomendadas para se determinar, com maior precisão, as relações do líquido peritoneal com a reprodução.

Dentre a grande complexidade da cloaca dos répteis apontada desde as investigações clássicas de Gadow (1887); Gerhardt (1933), a formação do seio genital permanece ainda não elucidado. Assim, é recomendado o estudo do desenvolvimento embriológico dessa estrutura para se determinar com maior precisão o desenvolvimento da cloaca.

Por fim, cabe ressaltar a importância de estudos comparativos do aparelho copulador de outras espécies de Crocodylia, principalmente para a família Crocodylidae e, assim, estabelecer um padrão morfológico do grupo. A determinação de possíveis diferenças entre o falo de Crocodylia pode ser útil para indicar as relações de parentesco entre suas espécies.

5 LISTA DE CARACTERES UTILIZADOS NA RECONSTRUÇÃO DO ESTADO ANCESTRAL

1. Canal peritoneal ausente (0) presente (1).

2. Abertura do canal peritoneal ausente (0), abertura caudal do canal peritoneal em forma de papila na região cranial do corpo do falo (1), abertura caudal do canal peritoneal sem papila (2), canal peritoneal fechado (3).

3. Prega uroproctodeal ausente (0), presente (1).

4. Tecido erétil sanguíneo (0) linfático (1).

5. Abertura do ducto deferente no urodeo (0), seio urogenital (1), seio genital (2).

6. Ligamento elástico ausente (0), presente (1).

7. Fossa da pseudoglande ausente (0) presente (1).

6 REFERÊNCIAS

ANAYA-LÓPEZ, P.; RAMÍREZ-PINILLA, M. P. Clasper gland morphology and development in Potamotrygon magdalenae (Elasmobranchii: Potamotrygonidae). *Journal of Morphology*, v. 278, n. 3, p. 369–379, 2017.

ANDERSON, J. On the cloacal bladders and on the peritoneal canals in Chelonian. *Linn Soc Journal*, v. 12, n. November, p. 434–444, 1876.

BASSETTI, L. A. B.; VERDADE, L. M. Crocodylia (Jacarés e Crocodilos). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Org.). *Tratado de animais silvestres - Medicina veterinária.* São Paulo: Roca, 2014. p. 154–169.

BENTON, M. J.; CLARCK, J. M. Archosaur phylogeny and the relationships of the Crocodylia. In: BENTON, M. J. (Org.). *The phylogeny and classification of the tetrapods*. Oxford: Claredon Press, 1998. p. 295–338.

BENTON, M. J.; CLARK, J. M. *Archosaur phylogeny and the relationships of the Crocodylia*. [S.l: s.n.], 1988. v. 1.

BLACKBURN, S. C.; STANTON, M. P. Anatomy and physiology of the peritoneum. *Seminars in Pediatric Surgery*, v. 23, n. 6, p. 326–330, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2014.06.002>.

BRENNAN, P. L. R. Genital evolution: Cock-a-Doodle-Don't. *Current Biology*, v. 23, n. 12, p. R523–R525, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.035>.

BRENNAN, P. L. R. *et al.* Independent evolutionary reductions of the phallus in basal birds. *Journal of Avian Biology*, v. 39, n. 5, p. 487–492, 2008.

BRENNAN, P. L. R.; PRUM, R. O. The erection mechanism of the ratite penis. *Journal of Zoology*, v. 286, n. 2, p. 140–144, 2011.

BRENNAN, P. L. R.; PRUM, R. O. The limits of sexual conflict in the narrow sense: new insights from waterfowl biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 367, n. 1600, p. 2324–2338, 2012.

BRISKIE, J.; MONTGOMERIE, R. Sexual selection and intromitent organ of birds. *Journal of Avian Biology*, v. 28, p. 73–86, 1997.

BROCHU, C. A. Crocodylian snouts in space and time : Phylogenetic approaches toward adaptive radiation. *American Zoologist*, v. 41, n. 3, p. 564–585, 2001.

BROCHU, C. A. Crocodylians (Crocodylia). In: HEDGES, S. B.; KUMAR, S. (Org.). *The timetree of life*. [S.l.]: Oxford University Press, 2009. p. 402–406.

BROCHU, C. A. Morphology, fossils, divergence timing, and the phylogenetic relationships of gavialis. *Systematic Biology*, v. 46, n. 3, p. 479–522, 1997.

BROCHU, C. A. Phylogenetic approaches toward crocodilian history. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, v. 31, p. 295–304, 2003.

BROCHU, C. A. Phylogenetic relationships and divergence timing of *Crocodylus* based on morphology and fossil record. *Copeia*, v. 58, n. 3, p. 657–673. 2000. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3744490&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em 19 mar. 2014.

BROCHU, C. A. Phylogenetics, taxonomy, and historical biogeography of Alligatoroidea. *Journal of Vertebrate Paleontology*, v. 19, n. sup002, p. 9–100, 14 jun. 1999. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02724634.1999.10011201>. Acesso em: 19 mar. 2014.

BUFFETAUT, E. The evolution of the crocodyllians. *Scientific American*. v. 241, v.4, p.130-144, 1979.

BURGESS, L. J. Biochemical analysis of pleural, peritoneal and pericardial effusions. *Clinica Chimica Acta*, v. 343, n. 1–2, p. 61–84, 2004.

CABRERA, F. J. A. *et al.* Características histológicas del aparato genital masculino de la baba (*Caiman crocodilus*). *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias.*, v. 17, p. 123–130, 2007.

CABRERA, F. J. A.; GARCIA, G. C. C. Anatomical Characteristics of the Male Genital Tract of the *Caiman crocodilus crocodilus*. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, v. 45, n. 2, p. 55–63, 2004.

CABRERA, F. J. A.; GARCIA, G. C. C. Morphology of the urinary pathway's of the male spectacled cayman (*Caiman crocodilus crocodilus*). *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias.*, v. 51, n. 1, p. 9–15, 2010.

CAMPBELL, H. A. *et al.* Estuarine crocodiles ride surface currents to facilitate long-distance travel. *Journal of Animal Ecology*, v. 79, n. 5, p. 955–964, 2010.

CAMPOS, Z.; SANAIOTTI, T.; MAGNUSSON, W. Maximum size of dwarf caiman, *Paleosuchus palpebrosus* (Cuvier, 1807), in the Amazon and habitats surrounding the Pantanal, Brazil. *Amphibia-Reptilia*, v. 31, n. 3, p. 439–442, 2010. Disponível em: <http://booksandjournals.brillonline.com/content/journals/10.1163/156853810791769392>.

CANNATELLA, D. C.; HILLIS, D. M. Amphibian relationships: phylogenetic analysis of morphology and molecules. *Herpetological Monographs*, v. 7, n. 1993, p. 1–7, 1993. Disponível em: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:AMPHIBIAN+RELATIONSHIPS+:+PHYLOGENETIC+ANALYSIS+OF+MORPHOLOGY+AND+MOLECULES#0>.

COFFEY, J. C.; O'LEARY, D. P. The mesentery: structure, function, and role in disease. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, v. 1, n. 3, p. 238–247, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30026-7>.

COHN, M. J. Development of the external genitalia: conserved and divergent mechanisms of appendage patterning. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, v. 240, n. 5, p. 1108–15, maio 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21465625>. Acesso em: 30 jul. 2014.

COSTA, W. J. E. M.; AMORIM, P. F.; MATTOS, J. L. O. Molecular phylogenetics and evolution molecular phylogeny and evolution of internal fertilization in South American seasonal Cynopoeciline killifishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 95, p. 94–99, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2015.11.011>.

CRAWFORD, N. G. *et al.* A phylogenomic analysis of turtles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 83, n. November, p. 250–257, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2014.10.021>.

CRAWFORD, N. G. *et al.* More than 1000 ultraconserved elements provide evidence that turtles are the sister group of archosaurs. *Biology Letters*, v. 8, n. 5, p. 783–786, 2012. Disponível em: <http://rsbl.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsbl.2012.0331>.

DEL-CLARO, K. *Comportamento animal: Uma introdução à ecologia comportamental*. Jundiaí: Conceito, 2004.

DENSMORE, L. D. Biochemical and immunological systematics of the order Crocodilia. In: HECHT, M. K.; WALLACE, B.; PRANCE, G. T. (Org.). . *Evolutionary Biology*. New York: Plenum, 1983. v. 16. p. 397–465. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-41324-2>.

DENSMORE, L. D.; WHITE, S. P. The systematics and evolution of the Crocodilia as suggested by restriction endonuclease analysis of mitochondrial and nuclear ribosomal DNA. *Copeia*, v. 1991, n. 3, p. 602–615, 1991.

DUPRET, V. *et al.* A primitive placoderm sheds light on the origin of the jawed vertebrate face. *Nature*, v. 507, n. 7493, p. 500–503, 2014.

DYCE, K. M.; SACK, M. O.; WESTING, C. J. G. *Tratado de anatomia veterinária*. 3. ed. Rio Janeiro: [s.n.], 2004.

EBERHARD, W. G. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Cambridge: Harvard Univ. Press, 1985.

FARRIS, J. S. *The logical basis of phylogenetic analysis*. [S.l: s.n.], 1983.

FUJIHARA, N. Accessory reproductive fluids and organs in male domestic birds. *Poultry Science*, v. 48, n. 3, p. 39–56, 1992.

GADOW, H. Remarks on the cloaca and on the copulatory organs of the Amniota. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 178, n. January, p. 5–37, 1 jan. 1887. Disponível em: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rstb.1887.0002>. Acesso em: 30 out. 2013.

GADOW, H.; SELENKA, E. Vögel: Anatomischer theil. In: GADOW, H.; SELENKA, E. (Org.). . *Bronn´s klassen und ordnungen des thier-reichs*. 6. ed. Leipzig: CF Winter, 1981. .

GARCIA-RUBIO, S. *et al.* Reptilian chemistry: volatile compounds from paracloacal glands of the american crocodile (*Crocodylus acutus*). *Journal of Chemical Ecology*, v. 28, n. May, p. 769–781, 2002.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de histologia em cores.* [S.l.]: Elsevier Health Sciences Brazil, 2007.

GATESY, J. *et al.* Combined support for wholesale taxic atavism in Gavialine Crocodylians. *Systematic Biology*, v. 52, n. 3, p. 403–422, 2003.

GATESY, J.; AMATO, G. The rapid accumulation of consistent molecular support for intergeneric crocodylian relationships. *Molecular phylogenetics and evolution*, v. 48, n. 3, p. 1232–1237, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18372192>. Acesso em: 30 out. 2013.

GATESY, J.; DESALLE, R.; WHEELER, W. Alignment-ambiguous nucleotide sites and the exclusion of systematic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 2, n. 2, p. 152–157, 1993.

GERHARDT, U. Kloake und begattungsorgane. In: BOLK, L. *et al.* (Org.). *Hanbuch der vergleichenden anatomie der wirbeltiere.* Berlin: [s.n.], 1933. p. 267–350.

GOODRICH, E. S. *Studies on the structure and development of vertebrates*. Chicago: University of Chicago Press, 1986.

GREDLER, M. L. Developmental and evolutionary origins of the amniote phallus. 2016, [S.l: s.n.], 2016. p. 694–704.

GREDLER, M. L. *et al.* Evolution of external genitalia: insights from reptilian development. *Sexual Development*, p. 311–326, 2014.

GREDLER, M. L.; SEIFERT, W.; COHN, M. J. Morphogenesis and patterning of the phallus and cloaca in the american alligator, *Alligator mississippiensis*. *Sexual Development*, 2014.

GRIGG, G.; GANS, C. Fauna of Australia. *Fauna of Australia Volume 2A*, p. 1–25, 1993.

HEALY, J. C.; REZNEK, R. H. The peritoneum , mesenteries and omenta: normal anatomy and pathological processes. *European Radiology,* v. 900, p. 886–900, 1998.

HERRERA, A. M.; BRENNAN, L. R.; COHN, M. J. Development of avian external genitalia :

interspecific differences and sexual differentiation of the male and female phallus. *Sexual Development*, 2014.

HERRERA, A. M.; SHUSTER, S. G.; PERRITON, C. L. Developmental basis of phallus reduction during bird evolution. *Current Biology*, v. 23, n. 12, p. 1065–1074, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.062>.

HYNES, P. .; FRAHER, J. . The development of the male genitourinary system. I. The origin of the urorectal septum and the formation of the perineum. *British Journal of Plastic Surgery*, v. 57, n. 1, p. 27–36, jan. 2004. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000712260300465X>. Acesso em: 25 set. 2014.

HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. *Essentials of domestic animal embriology*. [S.l: s.n.], 2010.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. *Nomina Anatomica Veterinaria*. [S.l: s.n.], 2017. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-0813.1975.tb09378.x>.

IUCN. *The IUCN red list of threatened species*. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 22 set. 2017.

JANKE, A *et al.* The mitochondrial genomes of the iguana (*Iguana iguana*) and the caiman (Caiman crocodylus): implications for amniote phylogeny. *Proceedings of The Royal Society London B. Biological sciences*, v. 268, n. 1467, p. 623–31, 22 mar. 2001. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1088649&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 13 fev. 2014.

JOHNSTON, S. D. *et al.* One-sided ejaculation of echidna sperm bundles. *The American Naturalist*, v. 170, n. 6, p. 162–165, 2007.

JOHNSTON, S. D. *et al.* Semen collection and seminal characteristics of the Australian saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*). *Aquaculture*, v. 422–423, p. 25–35, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.002>.

JONES, F. W. The chelonian type of genitalia. *Journal of anatomy and physiology*, v. 49, n. Pt 4, p. 393–406, 1915. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17233042%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1288982>.

KARDOONG, K. V. *Vertebrates: comparative anatomy, function, evolution*. 6. ed. New York: McGraw-Hill, 2012.

KELLY, D. A. Penile anatomy and hypotheses of erectile function in the American Alligator (*Alligator mississippiensis*): muscular eversion and elastic retraction. *The Anatomical Record*, v. 296, p. 488–494, 2013.

KELLY, D. A. The functional morphology of penile erection: tissue designs for increasing and maintaining stiffness. *Integrative and Comparative Biology*, v. 42, p. 216–221, 2002.

KELLY, D. A. Turtle and mammal penis designs are anatomically convergent. *Proceedings of The Royal Society London B. Biological sciences*, v. 271 Suppl, p. S293-5, 7 ago. 2004. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1810052&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 30 out. 2013.

KING, A. S. Apparatus urogenitalis. In: BAUMEL, J. J. *et al.* (Org.). *Handbook of avian anatomy: Nomina Anatomica Avium*. 2. ed. Cambridge, Massachusetts.: Nuttall Ornithological Club, 1993. p. 329–397.

KING, A. S. Cloaca. In: KING, A. S.; MCLELLAND, J. (Org.). *Form and function in birds*. London: Academic press, 1981. p. 63–106.

KING, A. S.; MCLELLAND, J. Form and function in birds. [S.l.]: Academic Press, 1979. p. 459.

KLUGE, A. G. Testability and the refutation and corroboration of cladistic hypotheses. *Cladistics*, v. 13, n. 1–2, p. 81–96, 1997. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1096-0031.1997.tb00242.x>.

KLUTH, D.; HILLEN, M.; LAMBRECHT, W. The principles of normal and abnormal hindgut development. *Journal of Pediatric Surgery*, v. 30, n. 8, p. 1143–1147, 1995.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. *Anatomia dos animais domésticos*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

KÜHNEL, S.; REINHARD, S.; KUPFER, A. Evolutionary reproductive morphology of amphibians: an overview. *Bonn Zoological Bulletin*, v. 57, n. 2, p. 119–126, 2010.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v. 227, n. 5259, p. 680–685, 1970.

LAKE, P. E. Male genitals organs. In: KING, A. S.; MCLELLAND, J. (Org.). *Form and function in birds*. London: Academic press, 1981. p. 1–62.

LAMARCA, M. J. The functional anatomy of the clasper and clasper gland of the yellow stingray, *Urolophus Jamaicensis* (Cuvier). *Journal of Morphology*, v. 114, n. 2, p. 303–323, 1964.

LANG, J. W. Amphibious behavior of *Alligator mississippiensis*: roles of a circadian rhythm and light. *Science*, v. 6, n. February, p. 575–577, 1976.

LANKESTER, F.; HERNANDEZ-DIVERS, S. J. Paraphimosis and amputation in a Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 36, n. 4, p. 698–701, dez. 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17312729>.

LARKINS, C. E.; COHN, J. Phallus development in the turtle *Trachemys scripta*. *Sexual Development*, 2014.

LEAL, F.; COHN, M. J. Development of hemipenes in the ball python snake *Python regius*. *Sexual development : genetics, molecular biology, evolution, endocrinology, embryology, and pathology of sex determination and differentiation*, 20 jun. 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24970309>. Acesso em: 24 set. 2014.

LEONARD, J. L.; CORDOBA-AGUILAR, A. *The evolution of primary sexual characters in animals*. [S.l: s.n.], 2008.

LIEM, K. F. *et al. Anatomia funcional dos vertebrados*. 3. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

LONG, J. A. *et al.* Copulation in antiarch placoderms and the origin of gnathostome internal fertilization. *Nature*, v. 517, n. 7533, p. 196–199, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature13825>.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis*. . [S.l: s.n.]. , 2018

MAGNUSSON, W. E.; SILVA, E. V.; LIMA, A. P. Diets of amazonian crocodilians. *Journal of Herpetology*, v. 21, n. 2, p. 85–95, 1987. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/1564468>.

MAHECHA, G. A. B.; OLIVEIRA, C. A. Técnica modificada de diafanização e coloração diferencial de cartilagem e osso em pequenos vertebrados. *Revista Brasileira de Ciências Morfológicas*, v. 11, p. 204–207, 1994.

MANN, T.; LUTWAK-MANN, C. *Male reproductive function and semen*. Berlin: Springer Verlag, 1981.

MARTIN, J. E.; BENTON, M. J. Crown clades in vertebrate nomenclature: correcting the definition of Crocodylia. *Systematic biology*, v. 57, n. 1, p. 173–81, fev. 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18300130>. Acesso em: 12 mar. 2014.

MCALILEY, L. R. *et al.* Are crocodiles really monophyletic?--Evidence for subdivisions from sequence and morphological data. *Molecular phylogenetics and evolution*, v. 39, n. 1, p. 16–32, abr. 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16495085>. Acesso em: 23 out. 2013.

MCGRAW, L. A.; SUAREZ, S. S.; WOLFNER, M. F. On a matter of seminal importance: The emerging influence of seminal plasma components on fertility and future progeny. *Bioessays*, v. 37, n. 2, p. 142–147, 2016.

MCMANUS, J. F. A. Histological demonstration of mucin after peridic acid. *Nature*, v. 158, p. 202, 1946.

MEREDITH, R. W. *et al.* Impacts of the Cretaceous terrestrial revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science*, v. 334, p. 521–524, 2011.

MEYER, A.; LYDEARD, C. The evolution of copulatory organs, internal fertilization, placentae and viviparity in killifishes (Cyprinodontiformes) inferred from a DNA phylogeny of the tyrosine kinase gene X-src. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 254, n. 1340, p. 153–162, 1993.

MICHALANY, J. *Técnica histológica em anatomia patológica*. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária, 1980.

MONTEIRO, L. R.; SOARES, M. Allometric analysis of the ontogenetic variation and evolution of the skull in caiman Spix, 1825 (Crocodylia: Alligatoridae). *Herpetologica*, v. 53, n. 1, p. 62–69, 1997.

MONTGOMERIE, R.; BRISKIE, J. V. Anatomy and evolution of copulatory structures. In: JAMIESON, B. G. M. (Org.). *Reproductive biology and phylogeny of birds. Part A: Phylogeny, morphology, hormones and fertilization*. Enfield, NH: Science Publishers., 2007. p. 115–148.

MOORE, B. C. *et al.* Morphological characteristics regulating phallic glans engorgement in the American alligator. *Integrative and Comparative Biology*, p. icw012, 2016. Disponível em: <http://icb.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/icb/icw012>.

MOORE, B. C.; KELLY, D. A. Histological investigation of the adult alligator phallic sulcus. *South American Journal of Herpetology*, v. 10, n. 1, p. 32–40, 2015.

MOORE, B. C.; MATHAVAN, K.; GUILLETTE, L. J. J. Morphology and histochemistry of juvenile male American Alligator (*Alligator mississippiensis*) phallus. *The Anatomical Record*, v. 295, n. December 2011, p. 328–337, 2012.

MOWRY, R. W. Alcian blue technics for the histhochemical studied of acidic carbohydrates. *Journal histhochemical cytochemical*, v. 4, p. 407, 1965.

MUTSAERS, S. E. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair. *Respirology*, v. 7, n. 3, p. 171–191, 2002.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. The viscera of the domestic mammals. *The Viscera of the Domestic Mammals*. [S.l: s.n.], 1973. v. OS_23. p. 173–196. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1016/S0074-2740%2875%2980019-5>.

NOGUEIRA, J. C. *et al.* Morphology of the male genital system of *Chironectes minimus* and comparison to other didelphid marsupials. *Journal of Mammalogy*, v. 85, n. 5, p. 834–841, 2004.

NORELL, M. A. The higher level relationships of the extant Crocodylia. *Journal of Herpetology*, v. 23, n. 4, p. 325–335, 1989.

NORELL, M. A.; CLARK, J. M. A reanalysis of *Bernissartia fagesii*, with comments on its phylogenetic position and its bearing on the origin and diagnosis of the Eusuchia. *Bulletin - Institut royal des sciences naturelles de Belgique. Sciences de la terre*, v. 60, p. 115–128, 1990. Disponível em: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=19656862>.

NORELL, M. A.; CLARK, J. M.; HUTCHISON, J. H. The Late Cretaceous alligatoroid *Brachychampsa montana* (Crocodylia): new material and putative relationships. *American Museum Novitates*, v. 3116, p. 1–26, 1994.

O'SHAUGHNESSY, K. L.; DAHN, R. D.; COHN, M. J. Molecular development of chondrichthyan claspers and the evolution of copulatory organs. *Nature Communications*, v. 6, p. 6698, 2015. Disponível em: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ncomms7698>.

OGINO, Y.; KATOH, H.; YAMADA, G. Androgen dependent development of a modified anal fin, gonopodium, as a model to understand the mechanism of secondary sexual character expression in vertebrates. *FEBS Letters*, v. 575, n. 1–3, p. 119–126, 2004.

OLIVEIRA, C. A. *et al.* Location of the ureteral openings in the cloacas of tinamous, some ratite birds, and crocodilians: a primitive character. *Journal of morphology*, v. 260, n. 2, p. 234–46, maio 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15108162>. Acesso em: 11 fev. 2014.

OLIVEIRA, C. A.; MAHECHA, G. A. B. Cloacal morphology of Nothura maculosa (Temminck, 1815), Aves tinamiformes. *Annals of Anatomy*, v. 178, n. 5, p. 471–476, 1996.

OLIVEIRA, C. A.; MAHECHA, G. A. B. Morphology of the copulatory apparatus of the spotted tinamou *Nothura maculosa* (Aves:Tinamiformes). *Annals of Anatomy*, p. 161–169, 2000.

OWEN, R. 1860. *Palaeontology, or a systematic summary of extinct animals and their geological remains*. Adam & Charles Black, Edinburgh.

PARENTI, L. R. A phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 168, n. 4, p. 335–357, 1981.

PARENTI, L. R. Phylogenetic systematics and biogeography of phallostethid fishes (Atherinomorpha, Phallostethidae) of northwestern Borneo, with description of a new species. *Copeia*, v. 3, p. 703–712, 1996.

PIERCY, A.; GELSLEICHTER, J.; SNELSON JR, F. F. Morphological changes in the clasper gland of the atlantic stingray, *Dasyatis sabina*, associated with the seasonal reproductive cycle. *Journal of Morphology*, v. 268, p. 254–274, 2006.

PIÑA, C. I. *et al.* The temperature-sensitive period (TSP) during incubation of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) eggs. v. 28, p. 123–128, 2007.

POL, D.; TURNER, A. H.; NORELL, M. A. Morphology of the late Cretaceous Crocodylomorph *Shamosuchus djadochtaensis* and a discussion of Neosuchian phylogeny as related to the origin of Eusuchia. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 324, n. 324, p. 1–103, 2009. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1206/0003-0090-324.1.1>.

PORTO, M. *et al.* The evolutionary implications of hemipenial morphology of rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Laurent, 1768) (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). *PloS One*, v. 8, n. 6, p. e66903, jan. 2013. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3694123&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 22 out. 2013.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. *A vida dos vertebrados*. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2006. v. 15.

PREVIATTO, D. M. *et al.* Morphology of the copulatory organ in *Ortalis canicollis* (Aves: Cracidae) and early evolution of the phallus in birds. *Acta Zoologica*, n. March, p. 1–10, 2017. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/azo.12191>.

PŘIKRYL, T. *et al.* Pelvic and thigh musculature in frogs (Anura) and origin of anuran jumping locomotion. *Journal of Anatomy*, v. 214, n. 1, p. 100–139, 2009.

RATTRAY, L. F. *The development of the chick an introduction to embriology*. New York: [s.n.], 1908.

ROMANOFF, A. *The avian embryology*. New York: MacMillan, 1960.

ROMER, A. S.; PARSONS, T. S. *Anatomia comparda*. 3. ed. Cidade do Mexico: Nueva Editorial Interamericana, 1981.

SALISBURY, S. W. *et al.* The origin of modern crocodyliforms: new evidence from the Cretaceous of Australia. *Proceedings of The Royal Society London B. Biological sciences*, v. 273, n. 1600, p. 2439–2448, 7 out. 2006. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1634899&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 21 out. 2013.

SALISBURY, S. W.; WILLIS, P. M. A. A new crocodilylian from the early Eocene of southeastern Queensland and a preliminary investigation of the phylogenetic relationships of crocodyloids. *Alcheringa*, v. 20, n. 3, p. 179–226, 1996.

SANGER, T. J. *et al.* Resurrecting embryos of the tuatara, *Sphenodon punctatus*, to resolve vertebrate phallus evolution. *Biology Letters*, 2015.

SANTOS, T. C. *et al.* Morfologia dos órgãos genitais masculinos e da cloaca da ema (*Rhea americana americana*). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, v. 31, n. 5, p. 430–440, 2011.

SERENO, P. C. *et al.* A new Notosuchian from the early Cretaceous of Niger. *Journal of Vertebrate Paleontology*, v. 23, n. 2, p. 477–482, 2003.

SEVER, D. M. *et al.* Sperm storage in the oviduct of the internal fertilizing frog *Ascaphus truei*. *Journal of Morphology*, v. 248, n. 1, p. 1–21, 2001.

SHIBUKAWA, K.; TRAN, D. D.; TRAN, L. X. *Phallostethus cuulong*, a new species of priapiumfish (Actinopterygii: Atheriniformes: Phallostethidae) from the Vietnamese Mekong. *Zootaxa*, v. 51, n. 3363, p. 45–51, 2012.

SIDDALL, M. E.; KLUGE, A. G. Probabilism and phylogenetic inference: Cladistics. *Cladistics*, v. 13, p. 313–336, 1997. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1096-0031.1997.tb00322.x/abstract>.

SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. The Anatomy of the Domestic Animals. *The anatomy of the domestic animals*. 5. ed. [S.l.]: W. B. Saunders Company, 1975. p. 1209.

SOARES, D. An ancient sensory organ in crocodilians. *Nature*, v. 417, p. 241–242, 2002.

THOISY, B. DE *et al.* Genetic structure, population dynamics, and conservation of Black caiman (*Melanosuchus niger*). *Biological Conservation*, v. 133, n. 4, p. 474–482, 2006.

TRINAJSTIC, K. *et al.* Pelvic and reproductive structures in placoderms (stem gnathostomes). *Biological Reviews*, v. 90, n. 2, p. 467–501, 2014.

VAN DER WAL, J. B. C.; JEEKEL, J. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. *Colorectal Disease*, v. 9, n. SUPPL. 2, p. 9–13, 2007.

VAN DIJK, D. E. On the cloacal region of Anura in particular of larval *Ascaphus*. *Annals of the University of Stellenbosch*, v. 35, n. 4, p. 69 – 249, 1959.

WAKE, M. H. Evolutionary morphology of the caecilian urogenital system. *Acta Anat.*, v. 75, p. 321–358, 1970.

WANG, Z. *et al.* The draft genomes of soft-shell turtle and green sea turtle yield insights into the development and evolution of the turtle-specific body plan. *Nature Genetics*, v. 45, n. 6, 2014.

WASSERSUG, R. J. A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates. *Stain Technology*, v. 51, n. 2, p. 131–134, 1976.

WELDON, P. J.; FERGUSON, M. W. J. Chemoreception in Crocodilians: anatomy, natural history, and empirical results. *Brain Behavior Evolution*, v. 41, p. 239–245, 1993.

ZHANG, G. R. *et al.* A basal antiarch (placoderm fish) from the Silurian of Qujing, Yunnan, China. *Palaeoworld*, v. 19, n. 1–2, p. 129–135, 2010.

ZIEGLER, T.; OLBORT, S. Genital structures and sex identification in crocodiles. *Crocodile specialist group newsletter*, v. 26, n. 3, p. 16–17, 2007.