

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**MORFOLOGIA DA CLOACA E DO APARELHO COPULADOR DE
CRACIDAE (AVES: GALLIFORMES) E SUAS IMPLICAÇÕES
EVOLUTIVAS.**

DIEGO MATIUSSI PREVIATTO

Belo Horizonte
Agosto de 2017

DIEGO MATIUSSI PREVIATTO

TESE DE DOUTORADO

**MORFOLOGIA DA CLOACA E DO APARELHO COPULADOR DE
CRACIDAE (AVES: GALLIFORMES) E SUAS IMPLICAÇÕES
EVOLUTIVAS.**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas, na área de Zoologia.

ORIENTADOR: PROF. DR. SÉRGIO ROBERTO POSSO

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese à minha amada família

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio Roberto Posso pela orientação, paciência e amizade. Essa parceria conserva-se desde a época da minha graduação e ele é uma das pessoa que mais teve influência na minha formação profissional. Me considero uma pessoal de grande sorte por ter aprendido com esse excelente professor e pesquisador.

Ao Prof. Dr. Germán Arturo Bohorquez Mahecha pela orientação durante parte do doutorado e por ter aberto as portas do Laboratório de Biologia da Reprodução para mim.

Ao Prof. Dr. Alfredo Hannemann Wieloch pela amizade, parceria e por ter cedido espaço em seu laboratório para o desenvolvimento de parte do meu projeto de doutorado.

Ao Prof. Dr. Luís Fábio Silveira, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, pela ajuda e doação de espécimes para esse estudo.

Ao Criadouro de Aves – Poços de Caldas, ao Jardim Zoológico – Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte e ao Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros pela doação de espécimes para essa tese.

À Estação Ecológica da Universidade Federal de Minas Gerais e à Base de Estudos do Pantanal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela parceria e auxílio na obtenção de espécimes para esse projeto.

Aos amigos da secretaria, tutores, professores e coordenadores do curso de Biologia de Educação a Distância da Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade, aprendizado e parceria ao longo do meu doutorado. A experiência conquistada no EAD foi fundamental para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao coordenador Prof. Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia e ao secretário da Pós-Graduação Eduardo Guimarães Peixoto pela ajuda e esclarecimento de dúvidas durante a minha formação no doutorado.

Ao Laboratório de Apoio Didático da Universidade Federal de Minas Gerais pelo confecção de parte das lâminas histológicas desse estudo.

Ao Centro de Aquisição e Processamento de Imagens do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais pelo excelente serviço prestado no escaneamento das lâminas histológicas desse projeto.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de doutorado durante os três últimos anos da minha pesquisa.

Aos amigos, Daniel de Melo Casali, Gustavo Leite Gonçalves, Carla Danielle de Melo-Soares e Marcela Carvalho Ortiz, pela colaboração na execução e revisão dos capítulos dessa tese.

Aos amigos Thiago Quintão Araújo e Igor Rodrigues Fernandes pela parceria e pelo auxílio na aquisição de fotos anatômicas para essa tese.

Aos amigos da Zoologia pela amizade, discussões construtivas, brincadeiras e cervejas ao longo desses quatro anos.

Aos amigos do LABRE pela companhia, paciência, ajuda e discussões durante o desenvolvimento do doutorado.

À minha amada família, meu pai Sérgio Previatto, minha mãe Cleide Matiussi Previatto, minha irmã Mariana Matiussi Previatto, minha sogra Marli Aparecida Bim, minhas avós Dona Zaira e Dona Antônia, meus tios, tias e primos, pelo amor, paciência,

auxílio, e apoio durante essa bela e difícil etapa da minha vida. Infelizmente passei muito tempo longe de vocês, mas logo conseguiremos arranjar um jeito de morarmos mais perto.

À minha linda e amada esposa, Camila Bim, que foi a minha família na maior parte do doutorado, sendo a minha principal incentivadora na pós-graduação em Belo Horizonte. Muito do que sou hoje, tanto pessoalmente quanto profissionalmente, devo a ela. Obrigado por todo carinho, paciência, parceria, dedicação, ajuda e amor.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	9
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
Capítulo 1.....	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.1. A FAMÍLIA CRACIDAE E SUA DISTRIBUIÇÃO.....	12
3.1.1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA.....	12
3.1.2. ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E REPRODUTIVOS.....	14
3.1.3. STATUS ATUAL DE CONSERVAÇÃO DOS CRACÍDEOS.....	15
3.2. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS.....	16
3.2.1. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DE CRACIDAE EM RELAÇÃO AOS DEMAIS GALLIFORMES.....	16
3.2.2. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DENTRO DE CRACIDAE.....	19
3.3. CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO DA CLOACA E ÓRGÃO COPULADOR.....	23
3.3.1. CLOACA.....	23
3.3.1.1. A CLOACA DOS AMNIOTAS.....	25
3.3.1.2. A CLOACA DAS AVES.....	26
3.3.2. ÓRGÃO COPULADOR.....	29
3.3.2.1. O ÓRGÃO COPULADOR DE AMNIOTAS.....	29
3.3.2.2. O ÓRGÃO COPULADOR DAS AVES.....	35
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
Capítulo II.....	54

Morphology of the copulatory organ in <i>Ortalis canicollis</i> (Aves: Cracidae) and early evolution of the phallus in birds.....	54
Capítulo III.....	65
Morfologia e evolução dos caracteres cloacais e fálcos em Cracidae (Aves: Galliformes).....	65
5. INTRODUÇÃO.....	67
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	69
6.1. Animais e Autorização.....	69
6.2. Procedimentos anatômicos.....	70
6.3. Procedimentos histológicos.....	71
6.4. Reconstrução de estados ancestrais.....	71
6.5. Nomenclatura.....	72
7. RESULTADOS.....	73
7.1. Anatomia da cloaca dos cracídeos.....	73
7.2. Anatomia do órgão copulador dos cracídeos.....	76
7.3. Histologia da cloaca dos cracídeos.....	80
7.4. Histologia do órgão copulador dos cracídeos.....	83
7.5. Reconstrução de estados ancestrais.....	87
8. FIGURAS.....	90
9. DISCUSSÃO.....	115
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	122
11. ANEXOS.....	129

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os Cracidae representam a única família da ordem Galliformes que possuem órgão copulador intromitente (King 1981b). As demais famílias da ordem ou possuem órgão copulador não-intromitente, como Phasianidae, Numididae, Odontophoridae e alguns Megapodiidae (Montmerie e Briskie 2007), ou não possuem estrutura fálica, como é o caso dos gêneros *Megapodius* e *Leipoa*, representantes da família Megapodiidae (Brennan *et al.* 2008).

Motivados por essa intrigante variedade morfológica no órgão copulador dos Galliformes e pela escassez de trabalhos morfológicos (King 1981a), esse estudo objetivou descrever a anatomia e histologia da cloaca e do órgão copulador das espécies de Cracidae para entender como essas estruturas evoluíram.

Essa tese está dividida em três capítulos que serão publicados independentemente. O primeiro capítulo representa a revisão bibliográfica da tese. Essa revisão é dividida em três partes principais. A primeira visa apresentar os aspectos morfológicos, comportamentais, reprodutivos e o atual status de conservação da família Cracidae. A segunda objetiva apresentar as relações filogenéticas de Cracidae em relação as demais Galliformes bem como as relações filogenéticas dentro da família Cracidae. A terceira parte visa apresentar a caracterização da cloaca e órgão copulador, de maneira geral em de Craniata e mais detalhadamente em Aves. Parte desse capítulo está sendo preparado para publicação, e o tema será Evolução do Órgão Copulador.

O segundo capítulo apresenta detalhadamente a descrição morfológica do órgão copulador de *Ortalis canicollis*, representante da família Cracidae. Nesse capítulo também são identificados importantes caracteres discutidos na literatura e é analisado

como eles evoluíram na classe das Aves. Esse capítulo foi publicado em março de 2017 na revista *Acta Zoológica* (Stockholm) DOI: 10.1111/azo.12191.

O foco do terceiro capítulo é a descrição da anatomia e histologia da cloaca e do órgão copulador das espécies da família Cracidae e a análise de reconstrução de estados ancestrais dos caracteres nesta família. Para diferir do capítulo II, além de apresentarmos também a descrição morfológica da cloaca e resumirmos nossa análise evolutiva apenas em Cracidae, nós também evitamos abordar os assuntos discutidos no capítulo anterior. Após a defesa, nós acrescentaremos as contribuições da banca, faremos as correções e adequaremos o artigo para submetê-lo para a revista *Journal of Zoology*.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brennan P. L. R., Birkhead, T. R., Zyskowski, K., Waag, j. Van der and Prum, R. O.

Independent evolutionary reductions of the phallus in basal birds. *Journal of Avian Biology* 39: 487–492. 2008.

King A. S. *Cloaca*. In: King A. S., Mclelland J. (Ed.) *Form and function in birds*. London: Academic Press. 63-105. 1981a.

King A. S. *Phallus*. In: King A. S., Mclelland J. (Ed.). *Form and function in birds*. London: Academic Press. 107-147. 1981b.

Montgomerie R., Briskie J. *Anatomy and Evolution of Copulatory Structures*. - In: Jamieson, B. G. M. (ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Birds*. Part A: *Phylogeny, Morphology, Hormones and Fertilization*. Science Publishers. 115-148. 2007.

Capítulo I

Revisão bibliográfica

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A FAMÍLIA CRACIDAE E SUA DISTRIBUIÇÃO

Os cracídeos (**Fig. 1**) são aves exclusivamente neotropicais compostos por onze gêneros distribuídos em aproximadamente cinquenta e seis espécies, sendo os únicos Galliformes arborícolas (Pereira e Baker 2009, Hosner *et al.* 2016, IUCN 2016). Esta é uma das famílias mais antigas do hemisfério sul, tendo o representante fóssil mais antigo de 50 milhões de anos encontrado nos Estados Unidos (Del Hoyo 1994). Os representantes dos cracídeos se distribuem do sul dos Estados Unidos ao Uruguai (Sick 1997), embora ainda existem lacunas quanto à distribuição de várias espécies (Pereira e Brooks 2006).

3.1.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

A família Cracidae (Vigors 1825) apresenta espécies com tamanhos que variam desde 42 cm, no gênero *Ortalis* (Merrem 1786), até 92 cm, em *Crax* (Linnaeus 1758). As aves dos gêneros *Crax*, *Nothocrax* (Burmeister 1856), *Pauxi* (Temminck 1813) e *Mitu* (Lesson 1831), passam boa parte do seu tempo em solo e apresentam o corpo mais robusto, pesado e com a cintura pélvica mais comprida quando comparado com as aves do gênero *Ortalis* e *Penelope* (Merrem 1786), que são principalmente arborícolas (Del Hoyo 1994).

Os cracídeos possuem cauda, asas e pescoço longos, sendo que os dedos dos pés são compridos e adaptados para o deslocamento entre os galhos. Suas asas são auxiliadas por uma musculatura peitoral desenvolvida, porém a habilidade para o voo é pouco desenvolvida e utilizada principalmente para fugir de predadores. A traqueia apresenta uma anatomia característica em formato de alça, que se estende até a musculatura peitoral

e conseqüentemente aumenta o volume da vocalização dessas aves (Del Hoyo 1994, Sick 1997).

Figura 1



Figura 1. Representação dos gêneros da família Cracidae. (a) *Aburria aburri* (Lesson 1828). (b) *Chamaepetes goudotti* (Lesson 1828). (c) *Crax fasciolata* (Von Spix 1825). (d) *Oreophasis derbianus* (Gray 1844). (e) *Nothocrax urumutum* (Von Spix 1825). (f) *Mitu tuberosum* (Von Spix 1825). (g) *Ortalis canicollis* (Wagler 1830). (h) *Penelope pileata* (Wagler 1830). (i) *Pauxi pauxi* (Linnaeus 1766). (j) *Pipile jacutinga* (Von Spix 1825). (k) *Penelopina nigra* (Fraser 1852). Fotos modificadas a partir de: (a) C.A. Villalba. (d) Weltvogelpark Walsrod. (e) Vladimír Motyčka. (i) TJB. (k) Josep del Hoyo. (b), (c), (f), (g), (h), (j) Nick Athanas.

Suas cabeças são proporcionalmente pequenas em relação ao restante do corpo e em muitas espécies apresentam cristas e barbas, sempre muito brilhantes (Sick 1997). O bico apresenta o formato semelhante ao de muitos Galliformes, porém em alguns gêneros existem projeções ósseas coloridas, que são utilizados como atrativo sexual e se tornam mais evidentes em época reprodutiva (Delacour *et al.* 2004).

Os machos são um pouco maiores que as fêmeas, com exceção do gênero *Penelopina* (Reichenbach 1861) (Sick 1997). Como órgão copulador, os machos possuem um falo do tipo intromitente, que tem a função de penetrar na cloaca da fêmea e transferir espermatozoides (Montgomerie e Briskie 2007).

A plumagem apresenta padrões diferentes entre os diferentes gêneros. *Penelope* e *Ortalis* possuem um aspecto críptico, sendo difícil a distinção entre os sexos. Já em *Crax*, a diferença na coloração entre machos e fêmeas é conspícua, sendo mais chamativa nos machos (Delacour *et al.* 2004). A plumagem dos jovens possui aspecto semelhante à encontrada nos adultos (Sick 1997).

3.1.2 ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E REPRODUTIVOS

Os cracídeos são diurnos e geralmente vocalizam para estabelecerem seus territórios. São aves sociais que vivem em casais ou pequenos grupos, sendo encontrados em bandos de até 30 indivíduos, como em algumas espécies do gênero *Ortalis* (Delacour *et al.* 2004).

Apresentam hábitos herbívoros, sendo importantes dispersores de sementes. Porém, também predam pequenos anfíbios, artrópodes e moluscos, sobretudo na estação reprodutiva, quando precisam de proteína para gerar e alimentar os filhotes. Alguns gêneros, como *Crax* e *Penelope*, possuem um poderoso estômago mecânico, capaz de esmagar alimentos duros como sementes e nozes (Del Hoyo 1994).

Os cracídeos aparentemente são monogâmicos (Delacour e Amadon, 2004), e embora não existam registros de dois ou mais machos copulando uma mesma fêmea, alguns estudos reportaram duas ou mais fêmeas de *Crax daubentoni* (Del Hoyo *et al.*, 1994), *C. globulosa* (Leite *et al.*, 2017), *C. blumenbachii* (Srbek-Araujo *et al.*, 2012) e *Penelope supercilialis* (Toledo-Lima *et al.*, 2013) caminhando com um único macho, sugerindo poligamia. Algumas espécies do gênero *Crax* possuem território de dois a três quilômetros quadrados. O casal constrói os ninhos em árvores, sobre a água ou em ninhos abandonados por outras aves. Algumas espécies nidificam em grupo. Geralmente eclodem de dois a três filhotes nidífugos, com plumagem críptica, e são protegidos pelos pais por alguns meses (Del Hoyo 1994).

3.1.3 STATUS ATUAL DE CONSERVAÇÃO DOS CRACÍDEOS

Os cracídeos são ótimos indicadores biológicos do estado de conservação de um ecossistema, pois principalmente aqueles de maior porte, como os mutuns, são dependentes de grandes áreas florestais, primárias ou secundárias, em avançado estado de regeneração. Já a maioria dos jacus, jacutinga e aracuãs, são um pouco mais tolerantes à ambientes alterados. Mesmo no caso das espécies mais tolerantes, o desmatamento, conduzido por indústrias madeireiras e agropecuaristas, e a caça, exercida por comunidades indígenas e caçadores profissionais, são as principais causas de redução de populações de Cracidae (Silveira *et al.* 2008).

Atualmente, existem por volta de 56 espécies de cracídeos. Destas, 33 espécies não correm risco de extinção, cinco estão quase ameaçadas de extinção, nove são vulneráveis, sete estão em perigo, seis estão criticamente em perigo e uma (*Mitu mitu*) está considerada extinta na natureza. Dentre as espécies criticamente em perigo, incluem: *Penelope albipennis* (Taczanowski 1878), *Pipile pipile* (Jacquin 1784), *Crax alberti*

(Fraser 1852), *C. pinima* (Pelzeln 1870), *Pauxi unicornis* (Bond e Meyer de Schauensee 1939) e *P. koepckeae* (Weske e Terborgh 1971) (IUCN 2017).

3.2 RELAÇÕES FILOGENÉTICAS

A família Cracidae (Aves: Galliformes), assim como os demais Galliformes, está agrupada junto com os Anseriformes na superordem Galloanserae (Prum *et al.* 2015) (**Fig. 2**). O parentesco próximo entre essas duas ordens é corroborado por trabalhos utilizando tanto dados morfológicos (Dzerzhinsky 1995, Livezey 1997, Mayr e Clarke 2003) quanto moleculares (Bleiweiss *et al.* 1994, Van Tuinen *et al.* 2000, Chubb 2004).

Figura 2

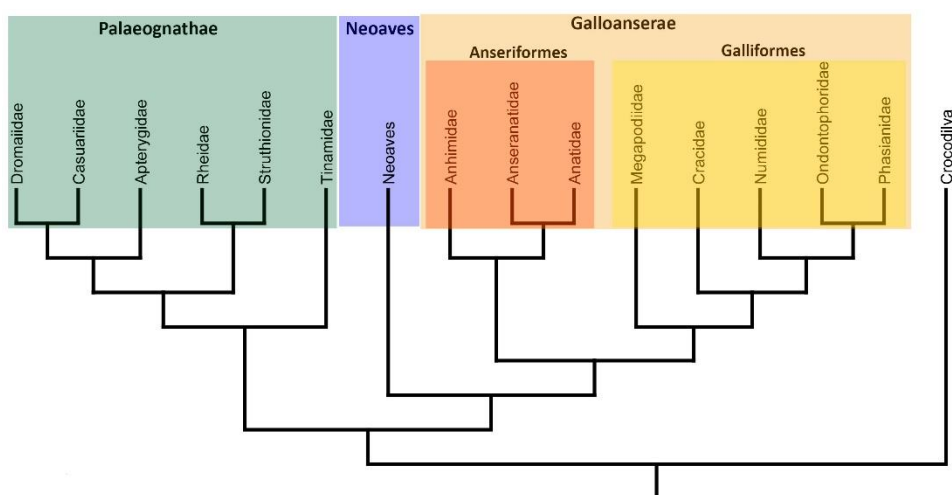


Figura 2. Filogenia simplificada das Aves evidenciando a posição de Galloanserae. Modificado a partir de Prum *et al.* (2015).

3.2.1 RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DE CRACIDAE EM RELAÇÃO AOS DEMAIS GALLIFORMES

Os Galliformes foram inicialmente divididos em dois grupos, baseado sobretudo na morfologia dos pés. As famílias Cracidae e Megapodiidae foram reunidas no grupo Peristeropodes, com o hálux situado no mesmo nível dos outros dedos, enquanto as

demais famílias de Galliformes foram inseridas no grupo Alectoropodes, com o hálux em um nível mais elevado que os demais dedos (Huxley 1868). Posteriormente, estudos morfológicos utilizando principalmente caracteres osteológicos, corroboraram o parentesco mais próximo entre Cracidae e Megapodiidae em relação aos demais Galliformes (Seebohm 1888, Verheyen 1956).

As controvérsias em relação à posição dos cracídeos dentro de Galliformes, surgiram a partir de estudos inovadores com técnicas moleculares. Trabalhos utilizando uma variedade de proteína como caracteres, reduziram os status de Cracidae para uma subfamília de Phasianidae (Sibley 1960), colocaram os cracídeos como uma superfamília, denominada Cracoidea, sendo grupo irmão das demais famílias de Galliformes (Prager e Wilson 1976) (**Fig. 3a**), elevaram os cracídeos, para o status de ordem, sendo considerada grupo irmão de Galliformes e Anseriformes (Jollès *et al.* 1976) (**Fig. 3b**) ou agruparam a família Cracidae, junto com Megapodiidae, em uma ordem denominada Craciformes, sendo esta, grupo irmão dos demais Galliformes compostos pelas famílias Phasianidae (Horsfield 1821), Numididae (Longchamps 1842) e Odontophoridae (Gould 1844) (Sibley e Ahlquist 1990) (**Fig. 3c**).

Apesar de alguns poucos estudos considerarem Cracidae e Megapodiidae como um grupo monofilético, sendo este, grupo irmão dos demais Galliformes (Mourer-Chauviré 1992, Feduccia 1999), a maioria dos recentes estudos com caracteres morfológicos, comportamentais e moleculares consideram que Megapodiidae está na base dos Galliformes e que Cracidae é grupo irmão do clado (Numididae (Odontophoridae Phasianidae)) (Dyke *et al.* 2003, Cracraft *et al.* 2004, Kimball e Braun 2008, Ksepka 2009, Wang *et al.* 2013, Burleigh *et al.* 2015, Prum *et al.* 2015, Hosner *et al.* 2016) (**Fig. 3d**).

Figura 3

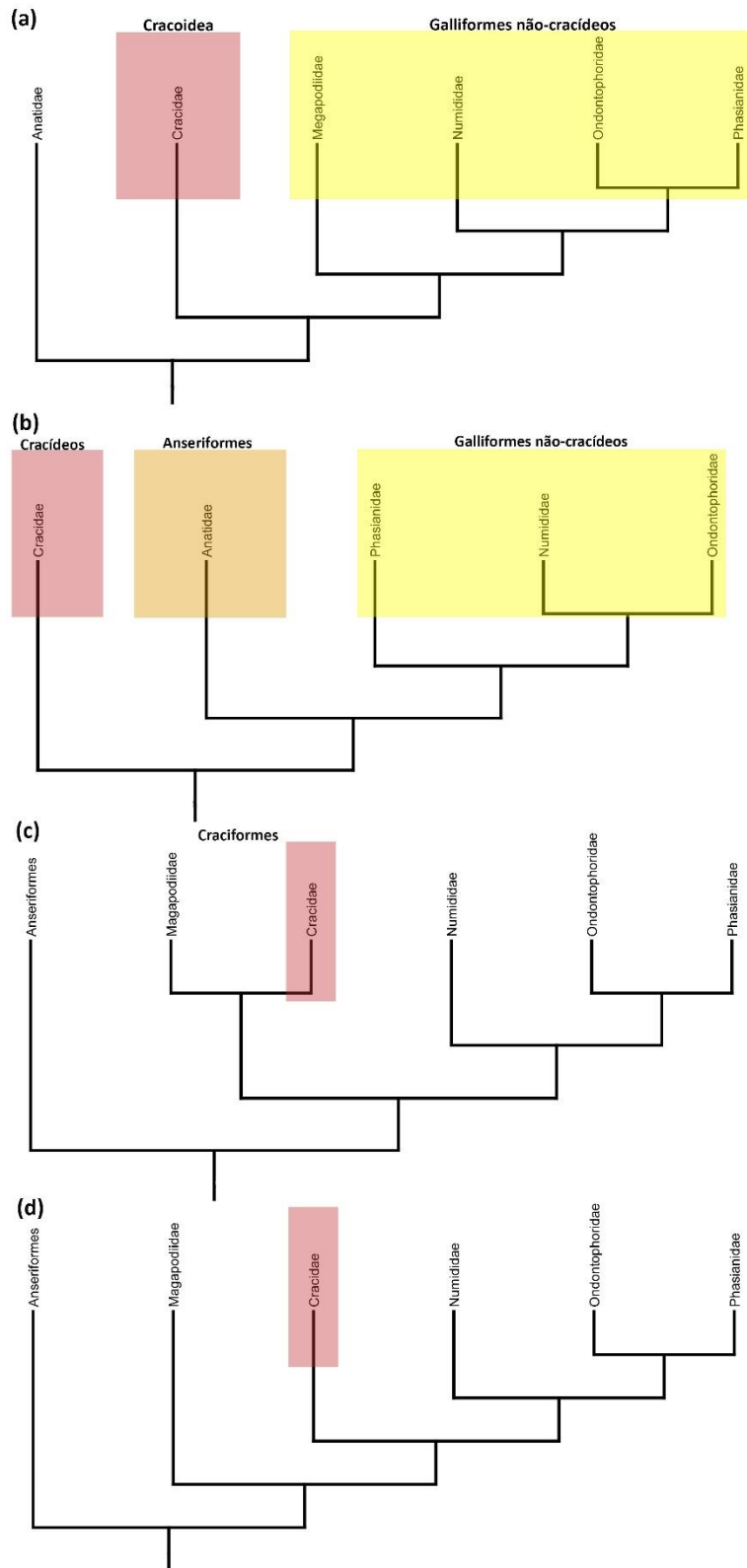


Figura 3. Relações filogenéticas de Galliformes, evidenciando a posição de Cracidae dentro da ordem. **(a)** Cracídeos considerado como superfamília Cracoidea. Modificado a partir de

Prager e Wilson 1976. (b) Cracídeos considerados como ordem. Modificado a partir de Jollès *et al.* 1976. (c) Cracídeos como grupo irmão de Megapodiidae na ordem Craciformes. Modificado a partir de Sibley e Ahlquist 1990. (d) Compilação da maioria dos recentes estudos filogenéticos sobre Galliformes. Modificado a partir de Burleigh *et al.* 2015.

3.2.2 RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DENTRO DE CRACIDAE

Uma das primeiras análises taxonômicas dentro da família Cracidae, se valeu de caracteres morfológicos e dividiu os cracídeos em dois grupos principais (Spix 1825). O primeiro era formado por representantes do gênero *Crax*, sendo caracterizados por possuírem o hálux reduzido, crista erétil, o bico curvo e grosso. As espécies, que pertencem hoje aos gêneros *Nothocrax* e *Mitu*, foram inicialmente incluídas no gênero *Crax*. Os representantes do segundo grupo foram reunidos no gênero *Penelope*. Essas espécies foram inseridas nesse grupo por não possuírem crista erétil e por terem o bico mais delgado e retilíneo que aqueles do gênero *Crax*. Os gêneros *Ortalis* e *Pipile* também estavam inseridos dentro de *Penelope*.

A família Cracidae foi posteriormente dividida em duas subfamílias, baseado em caracteres morfológicos da pelve. A subfamília Penelopinae foi reconhecida por ter a região pós-acetabular larga enquanto a subfamília Cracinae apresentava essa região mais estreita (Huxley 1868).

Posteriormente, os caracteres osteológicos foram utilizados para dividir os cracídeos em quatro tribos. A tribo Penelopini era composta pelos gêneros *Penelope*, *Ortalis* e *Penelopina*, a tribo Pipilini incluíam os gêneros *Pipile*, *Aburria* e *Chamaepetes*, a tribo Cracini era constituída pelos gêneros *Crax*, *Pauxi*, *Mitu* e *Nothocrax* e por fim, a tribo Oreophasini era formada pela espécie *Oreophasis derbianus* (Verheyen 1956).

Para tentar esclarecer a origem dos cracídeos, Vaurie (1968) utilizou um conjunto de caracteres morfológicos e de distribuição geográfica de fósseis de espécies viventes. Os resultados mostraram que as subfamílias extintas Filholornithinae e Gallinuloidinae foram reunidas em uma politomia juntamente com Cracinae, que era representada pelos cracídeos viventes. As análises concluíram que Cracinae deveria ser dividida nas tribos Cracini, Penelopini e Oreophasini, sendo que as duas últimas compartilhavam um ancestral comum e exclusivo. As espécies do gênero *Pipile*, *Aburria* e *Chamaepetes* foram inseridas em Penelopini.

Com os avanços tecnológicos e científicos no começo do século XXI, principalmente no melhoramento das técnicas de biologia molecular e na elaboração de modelos evolutivos mais realistas para o sequenciamento de DNA, estudos com filogenia molecular se tornaram uma ferramenta útil para se somar aos estudos morfológicos e ajudar a esclarecer as relações filogenéticas na família Cracidae (Pereira *et al.* 2002, Grau *et al.* 2005, Kimball *et al.* 2011).

A análise filogenética de caracteres obtidos a partir do sequenciamento de genes nuclear e mitocondrial (Pereira *et al.* 2002), dividiu os cracídeos em dois grupos taxonômicos. No primeiro, o gênero *Ortalis* é basal em relação ao clado (*Oreophasis* (*Crax* (*Nothocrax* (*Mitu Pauxi*)))), enquanto no segundo, os gêneros *Chamaepetes* e *Penelopina* formam um grupo irmão, e estes, estão mais relacionados ao clado (*Penelope* (*Aburria* *Pipile*)) (Pereira *et al.* 2002). No entanto, a partir de análises utilizando caracteres moleculares ultra conservados em conjunto com introns e DNA mitocondrial, o gênero *Oreophasis* torna-se basal em relação ao clado (*Ortalis* (*Crax* (*Nothocrax* (*Mitu Pauxi*)))) e o gênero *Penelopina* torna-se basal em relação ao clado (*Chamaepetes* (*Penelope* (*Pipile* *Aburria*))) (Hosner *et al.* 2016).

Na família Cracidae, somente parece existir consenso na literatura quanto à composição dos clados (*Mitu Pauxi*) e (*Pipile Aburria*), independentemente se as análises filogenéticas são feitas com caracteres moleculares ou morfológicos (Silveira 2003, Frank *et al.* 2007, Pereira *et al.* 2009, Hosner *et al.* 2016). Porém, o relacionamento desses clados com os demais gêneros de cracídeos, ainda gera muita controvérsia na literatura.

Dentre os gêneros que apresentam confusão em relação a sua posição dentro da família Cracidae, o gênero *Ortalis* é particularmente debatido. Nas análises filogenéticas, *Ortalis* pode estar na base do clado (*Oreophasis (Crax (Nothocrax (Mitu Pauxi)))*) (Pereira *et al.* 2002, Kimball *et al.* 2011) (**Fig. 4a**), ser grupo irmão de *Chamaepetes* (Silveira 2003) (**Fig. 4b**), ser grupo irmão do clado (*Aburria (Nothocrax Crax)*) (Dyke *et al.* 2003), estar na base do clado (*Chamaepetes (Penelopina (Penelope (Aburria Pipile)))*) (Frank *et al.* 2007) (**Fig. 4c**), compor uma politomia com os clados (*Penelope Aburria*) e (*Crax (Mitu Nothocrax)*) (Ksepka 2009) ou ser basal ao clado (*Crax (Nothocrax (Mitu Pauxi)))*) (Hosner *et al.* 2016) (**Fig. 4d**), não havendo consenso sobre a posição de *Ortalis* dentro da família.

Figura 4

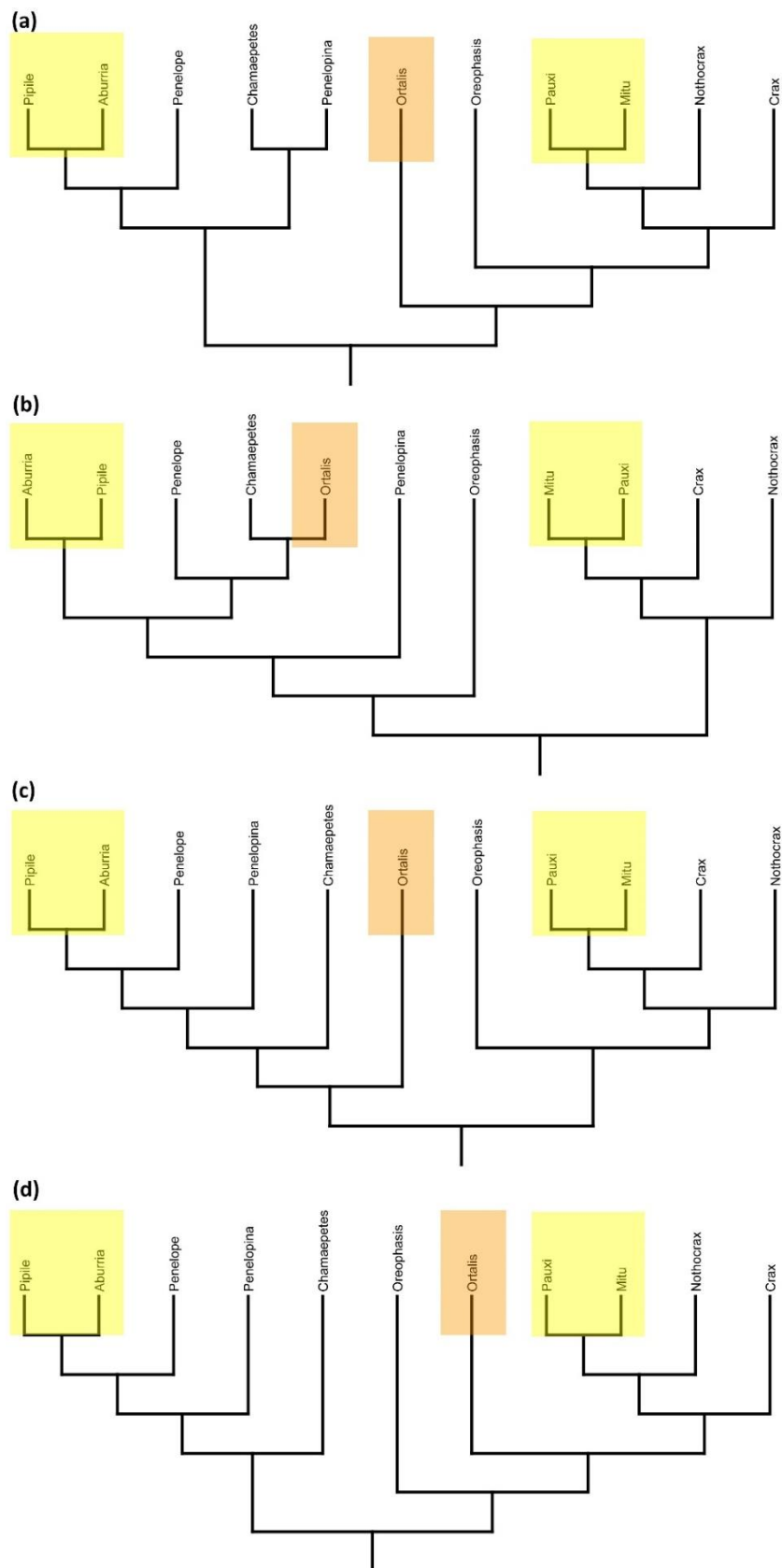


Figura 4. Relacionamentos filogenéticos de Cracidae, evidenciando as diferentes posições do gênero *Ortalis* dentro da família. **(a)** *Ortalis* inserida na base do clado (*Oreophasis* (*Crax* (*Nothocrax* (*Mitu Pauxi*))))). Modificado a partir de Kimball *et al.* 2011. **(b)** *Ortalis* como grupo irmão de *Chamaepetes*. Modificado a partir de Silveira 2003. **(c)** *Ortalis* inserida na base do clado (*Chamaepetes* (*Penelopina* (*Penelope* (*Aburria Pipile*))))). Modificado a partir de Frank *et al.* 2007. **(d)** *Ortalis* inserida na base do clado (*Crax* (*Nothocrax* (*Mitu Pauxi*))))). Modificado a partir de Hosner *et al.* 2016.

3.3. CARACTERIZAÇÃO E EVOLUÇÃO DA CLOACA E ÓRGÃO COPULADOR

3.3.1. CLOACA

A cloaca é uma dilatação do reto em forma de sino que dilata e contrai periodicamente (McLeod *et al.* 1964, King 1981a). O formato da cloaca é influenciado por três funções. A primeira função é a recepção de fezes, o que favoreceu o aparecimento de uma câmara fecal, o coprodeu. A segunda é a recepção de excretas nitrogenadas, abrindo espaço para o surgimento de uma câmara urinária, o urodeu. E a terceira função é a reprodução, possibilitando o aparecimento de uma região que abriga o órgão copulador dos Amniotas, o proctodeu (King 1981b, Montgomerie e Briskie 2007). Em muitos grupos, essas câmaras estão limitadas por pregas da mucosa (Gadow 1887, King 1981a, Oliveira *et al.* 2004).

Embriologicamente a cloaca dos vertebrados tem origem endodérmica, a partir da porção caudal do intestino, e ectodérmica, a partir da porção anterior do proctodeu (King 1981a, Kardong 2012). No desenvolvimento embrionário, esses dois componentes são inicialmente separados por uma membrana, mas quando esta membrana se rompe, o componente ectodérmico é incorporado na cloaca (Gerhardt 1933, Gredler *et al.* 2014a).

Com a necessidade do controle de defecação, urina e cópula, o ambiente selecionou o aparecimento de uma musculatura específica para essas funções. Em vertebrados basais, essa musculatura é formada por músculos lisos, relacionados com o intestino e dutos urogenitais, já em Amniotas, ela é constituída principalmente por musculatura estriada (Gerhardt 1933, King 1981a).

Filogeneticamente, a cloaca é ancestral para Craniata (**Fig. 5**), presente em feiticeiras (Mixynoidea), porém ela se perde independentemente em vários grupos: Petromyzontoidea, Holocephali, Actinopterygii, Actinistia e Mammalia (Eutheria) (King 1981a, Kardong 2012). Nos Amniotas que não possuem cloaca ao longo do desenvolvimento embrionário, a câmara cloacal é posteriormente dividida em duas regiões: o seio urogenital, que recebe os dutos do sistema urogenital; e o ânus, que se comunica com a porção caudal do intestino (Kardong 2012).

Figura 5

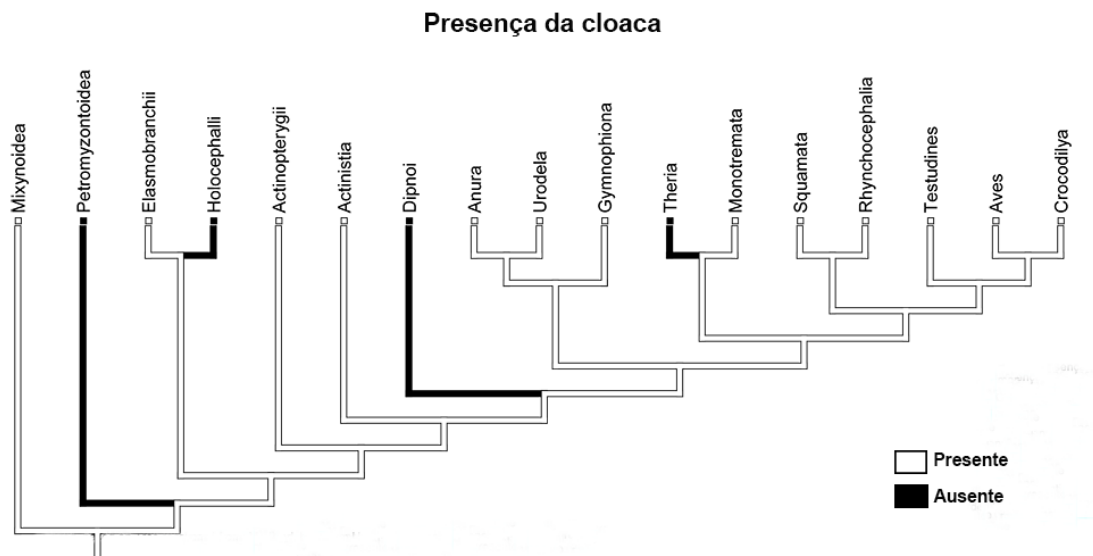


Figura 5. Evolução da cloaca em Craniata. Nessa figura foi realizada a análise da reconstrução do estado ancestral do caráter “Presença da cloaca” utilizando o programa Mesquite 3.11 (Maddison e Maddison 2017). Filogenia modificada a partir de Janke *et al.* (2001) e Pough (2013).

3.3.1.1. A CLOACA DOS AMNIOTAS

A cloaca dos Amniotas apresenta um padrão semelhante ao encontrado em muitos vertebrados, sendo dividida em três câmaras (Gerhardt 1933, King 1981a). Em mamíferos, a cloaca está desenvolvida em monotremados, o qual apresenta o coprodeu separado do urodeu pela prega coprourodeal e o urodeu separado do proctodeu pela prega uroproctodeal. Os dutos urogenitais se abrem no seio urogenital e conectam a bexiga ao urodeu. Em marsupiais a cloaca está presente, mas é reduzida. Em eutérios ela desaparece totalmente nos adultos (Gadow 1887, King 1981a, Kardong 2012).

Em Squamata, a cloaca está separada em coprodeu, urodeu e proctodeu. O coprodeu é separado do reto pela prega retocoprodeal, e do urodeu pela prega coprourodeal. O urodeu é separado do proctodeu pela prega uroproctodeal. Os dutos urogenitais desembocam na região do urodeu (Gadow 1887, King 1981a).

Em Testudines, a delimitação entre as três câmaras cloacais é pouco conspícua, porém entre o reto e coprodeu existe uma desenvolvida prega retocoprodeal circular. O seio urogenital está presente e abre-se dorsalmente no urodeu (King 1981a). Em *Trachemys*, o coprodeu segue contínuo ao proctodeu e estes se encontram separados do seio urogenital. Os dutos deferentes e os ureteres desembocam nesse seio (Grondona 2015).

Em Crocodylia, o coprodeu e o urodeu se fusionam e formam a câmara coprourodeal, que é separada do reto pela prega retocoprodeal. A câmara coprourodeal é separada do proctodeu pela prega uroproctodeal. Os ureteres se abrem dorsolateralmente

na câmara coprourodeal e os dutos deferentes desembocam no proctodeu (Gadow 1887, King 1981a).

3.3.1.2. A CLOACA DAS AVES

Nas aves, o coprodeu é o compartimento mais cranial da cloaca, contínuo ao reto (Oliveira e Mahecha 1996), e se distingue deste por meio de uma dilatação em seu diâmetro e mudança no aspecto da mucosa (King 1981a). Em alguns grupos, como em Anseriformes e Struthionidae (Vigors, 1825), ele pode ser separado do reto por meio de uma musculosa prega retocoprodeal (Gadow 1887, Komárek 1970, Oliveira *et al.* 2004), porém na maioria das aves essa prega parece estar ausente (King 1981a, Oliveira e Mahecha 1996, Oliveira *et al.* 2004).

A mucosa do coprodeu é revestida por epitélio simples cilíndrico (Oliveira e Mahecha 1996, Fehlberg 2015) e vilosidades podem estar presentes, embora sua distribuição e formato apresente variações entre as espécies (Johnson e Skadhauge, 1975). As vilosidades do coprodeu são menos conspícuas que as do reto, e sua presença pode estar relacionada com a absorção de água da urina, devido ao aumento na área de absorção (Johnson e Skadhauge, 1975).

O coprodeu tem como função principal a recepção de fezes provenientes do reto (King 1981a, Kardong, 2012), porém em algumas aves das famílias Rheidae (Bonaparte 1849), Tinamidae (Gray 1840) e Falconidae (Leach 1820) o ureter se abre no coprodeu, semelhante ao que ocorre em Crocodylia e diferente do restante das aves em que o ureter se abre no urodeu (Oliveira *et al.* 2004). Esse local peculiar de abertura do ureter no coprodeu, pode ser um caráter primitivo ligando Aves à Crocodylia, e talvez apresentar funções secundárias de absorção de água das excretas nitrogenadas no coprodeu ou

permitir a separação das fezes e excretas nitrogenadas do sêmen (Johnson e Skadhauge, 1975, Oliveira *et al.* 2004).

O urodeu é o menor dos três compartimentos cloacais e se situa entre o coprodeu e o proctodeu, sendo separado destes por meio das pregas coprourodeal e uroproctodeal, respectivamente (Oliveira e Mahecha 1996). A prega coprourodeal está presente na maioria das espécies (King 1981a), apresentando formato circular (Gadow 1887, Gadow e Selenka 1891).

O urodeu é o local onde desembocam os dutos do sistema urogenital (Wolfson 1954, King 1981a) e sua mucosa é revestida por epitélio pseudoestratificado colunar em Anseriformes e Tinamiformes (Oliveira e Mahecha 1996, Fehlberg 2015) ou epitélio simples colunar em Rheidae (Santos *et al.* 2011).

Os ureteres abrem-se dorsalmente na parede do urodeu. Em algumas espécies, como *Anodorhynchus hyacinthinus* (Latham, 1790), *Casuaris casuaris* (Linnaeus, 1758) e *Cochlearius cochlearius* (Linnaeus, 1766) os ureteres se abrem, através de papilas cônicas pouco proeminentes, porém na maioria das espécies de aves eles se abrem através de pequenos orifícios, sendo difícil a sua identificação (Oliveira *et al.* 2004).

Os dutos deferentes, abrem-se lateralmente ou ventralmente em relação às aberturas dos ureteres, através de um par de papilas cônicas (Gadow 1887, King 1981a). Antes de desembocar através de papilas, a porção caudal do duto deferente se dilata formando a ampola do duto deferente ou vesícula seminal (Wolfson 1954, Kudo *et al.* 1975, Kardong 2012). Em alguns Passeriformes, a vesícula seminal se torna muito proeminente e desenvolve uma protuberância cloacal, que auxilia na cópula (Wolfson 1954, Lake 1957).

O corpo vascular paracloacal, se situa no assoalho do urodeu e sua função é promover a ereção do órgão copulador por meio do preenchimento linfático (Guzsal 1974). São estruturas pares, compactas, de cor avermelhada, localizadas caudolateralmente às ampolas do ducto deferente e medialmente ao músculo esfíncter cloacal e retrator do falo (Guzsal 1974, Kudo *et al.* 1975). Eles são constituídos por cinco estruturas interconectadas, a cápsula, a trabécula, o cordão capilar, o espaço linfático periférico e o espaço linfático interno (Kudo *et al.* 1975).

O proctodeu é o mais caudal dos três compartimentos da cloaca e se comunica com o exterior através da abertura cloacal (King 1981a). A mucosa do proctodeu é revestida por epitélio estratificado pavimentoso em Galliformes (Marvan 1969) ou epitélio pseudoestratificado colunar em Tinamiformes e Anseriformes (Oliveira e Mahecha 1996, Fehlberg 2015). O órgão copulador, quando presente, se origina a partir da parede ventral do proctodeu (King 1981b, Oliveira e Mahecha 2000, Montgomerie e Briskie 2007).

A porção final da cloaca é constituída pela a abertura cloacal, que é limitada pelos lábios dorsal e ventral. Cada lábio é constituído de duas porções, uma plana e outra rugosa. Os lábios cloacais são revestidos por epitélio estratificado pavimentoso com grande número de corpúsculos de Herbst (King 1981a, Oliveira e Mahecha 1996).

Nas aves, três músculos geralmente estão associados à cloaca. O esfíncter cloacal circunda o proctodeu e a abertura cloacal, sendo composto por duas camadas, uma externa e outra interna. O transverso da cloaca se origina na porção caudal dos ossos pélvicos ou vértebras coccígeas e segue ventralmente para o proctodeu, onde se une ao músculo esfíncter cloacal. O elevador da cloaca, origina-se na superfície ventral da cauda e se insere na parede ventral do proctodeu. Em machos com falo, esse músculo se insere no

órgão de cópula e também é denominado como retrator caudal do falo (Knight 1969, King 1981b, King 1993).

3.3.2. ÓRGÃO COPULADOR

O órgão copulador é encontrado em muitos grupos de vertebrados e sua principal função é tornar eficiente a transferência de espermatozoides para o trato reprodutivo da fêmea durante a fecundação interna (Kardong 2012). Em Cordados não-Amniotas, o órgão copulador é homoplástico e se originou várias vezes na evolução desse grupo a partir de diferentes estruturas (**Fig. 8**) (Gredler *et al.* 2014a).

O órgão copulador pode se originar a partir de nadadeiras pélvicas, formando um clásser ósseo em Placordermi (**Fig. 6a**) (Long *et al.* 2015) ou cartilaginoso em Elasmobranchii (**Fig. 6b**) (O'Shaughnessy *et al.*, 2015). Em Actinopterygii, o órgão copulador está presente na linhagem dos peixes Poecillidae, e se origina a partir da nadadeira anal, formando o gonopódio ósseo (**Fig. 6c**) (Ogino *et al.* 2004, Heinen-Key e Langerhans 2013).

Em anfíbios, os únicos anuros que apresentam órgãos copuladores, são aqueles do gênero *Ascaphus* (Stejneger, 1899). Eles possuem protuberâncias cloacais que tem a função de auxiliá-los na transferência de espermatozoides dos machos para as fêmeas (Van Dijk 1959). Em Gymnophiona, os machos apresentam a cloaca dividida em urodeu e falodeu (**Fig. 6d**), sendo que no momento da cópula, essas estruturas se evertem e funcionam como um órgão copulador em forma de tubo (Wake 1972, Gower e Wilkinson 2002).

3.3.2.1. O ÓRGÃO COPULADOR DE AMNIOTAS

Em Amniota, o órgão copulador é uma estrutura homóloga e se origina a partir do tubérculo genital, presente nos embriões em desenvolvimento (**Fig. 7 e 8**) (Herrera *et al.*

2013, Gredler *et al.* 2014a, Sanger *et al.* 2015). No entanto, apesar de ser homólogo no grupo, nos adultos existem importantes diferenças estruturais e três tipos podem ser distinguidos, o pênis com uretra tubular, o hemipênis e o falo com sulco aberto (Gerhardt 1933, King 1981b, Moore *et al.* 2012, Gredler *et al.* 2014a).

Nos mamíferos, o pênis é o órgão copulador. O tubérculo genital (**Fig. 7f**) é o precursor tanto do pênis quanto do clitóris e no início do desenvolvimento embrionário ele apresenta formato similar em ambos os sexos. A diferenciação sexual da genitália externa ocorre posteriormente, após a diferenciação das gônadas e expressão dos receptores de esteroides sexuais no tubérculo genital (Haraguchi *et al.* 2007; Herrera e Cohn 2014).

Morfologicamente o pênis (**Fig. 6e**) é caracterizado por apresentar dois corpos cavernosos dorsolaterais, revestidos por uma espessa camada de tecido conjuntivo não expansível, e um corpo esponjoso ventromedial, o qual circunda o sulco fechado ou uretra (Kardong 2012, Tortora e Nielsen 2013). Em sua porção distal, o corpo esponjoso se dilata para formar a glândula, que é simples em eutérios, bifurcada em metatérios e dividida em até quatro extremidades em monotremados (Nogueira *et al.* 2004, Hildbrand e Goslow 2006, Kardong 2012).

O pênis dos mamíferos se torna ereto por meio de sangue, mas em alguns eutérios, como roedores, morcegos, carnívoros e primatas não humanos, o pênis possui uma estrutura ossificada, o báculo, que se situa na extremidade distal do corpo cavernoso e estende-se até a glândula, auxiliando o enrijecimento do órgão copulador (Hamilton 1949, Kardong 2012, Souza *et al.* 2014).

Em Squamata, apenas os lagartos e cobras (Lepidossauria) possuem órgão de cópula, o qual é denominado hemipênis (Rosenberg *et al.* 1989, Porto *et al.* 2013, Leal e

Cohn 2014). O hemipênis se desenvolve a partir de brotamentos genitais (**Fig. 7d e 7e**) que surgem próximos aos brotamentos dos membros inferiores. Esses brotamentos emergem lateralmente à membrana cloacal e se diferenciam em hemipênis (Gredler *et al.* 2014b). Embriologicamente, o hemipênis se distingue do falo e do pênis por não apresentar a fusão mediana dos brotamentos genitais em um único tubérculo genital, e conseqüentemente não apresentar contribuição endodérmica ao órgão copulador (Gredler *et al.* 2014a).

O hemipênis (**Fig. 6f**) é formado por um par de órgãos, situados no interior de longos sacos, que se abrem no exterior do corpo na porção lateral da abertura cloacal (Hildebrand e Goslow 2006). Cada hemipênis possui um sulco espermático aberto em sua porção dorsal, por onde é transferido o espermatozoide para a cloaca da fêmea. A ereção desse órgão se dá por mecanismos sanguíneo e muscular (Kardong 2012). Nas extremidades laterais dos hemipênis, existem espinhos ou projeções que tem a função de maximizar o tempo de duração da cópula e remover espermatozoides rivais (Moyes e Shulte 2010, Moura *et al.* 2013).

Em Rhynchocephalia, o órgão copulador está ausente, porém nos embriões em desenvolvimento é formado um brotamento genital, precursor do tubérculo genital e do órgão copulador em Amniotas, que não se desenvolve e regride nos adultos (Sanger *et al.* 2015), processo semelhante ao que ocorre em aves da família Phasianidae (Galliformes) (Herrera *et al.* 2013).

Os Archosauria e os Testudines desenvolveram o falo, 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 (King 1981b, Hildebrand e Goslow 2006, Porto *et al.* 2013).

Em Testudines, o falo se desenvolve a partir do surgimento de um par de brotamentos genitais (**Fig. 7a**) que se localiza entre os brotamentos dos membros inferiores, na parede ventral, adjacente à crista onde está situada a membrana cloacal. A membrana cloacal se situa na região mediana do falo em desenvolvimento. Os brotamentos genitais crescem e se fusionam medialmente para formar o tubérculo genital. Na parte final do desenvolvimento do tubérculo genital, a membrana cloacal se rompe e dá origem ao sulco uretral (Larkins e Cohn 2014).

O falo das tartarugas (**Fig. 6g**) é intromitente, protudente e 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. O sangue é responsável pela ereção do falo, levando ao aumento do seu diâmetro e rigidez (Gadow 1887, Kelly 2004, Grondona 2015).

O falo de Crocodilya (**Fig. 7b**) se desenvolve de maneira muito semelhante ao de Testudines. Inicialmente surgem brotamentos genitais que se situam entre os brotamentos dos membros inferiores. Esses brotamentos crescem e se fusionam medialmente formando o tubérculo genital, que dará origem ao falo. A membrana cloacal se rompe medialmente e dá origem ao sulco uretral (Gredler *et al.* 2014b).

Em Crocodilya, o falo (**Fig. 6h**) é simples, curvo, com forma cilíndrica e se ancora na parede ventral do proctodeu (Ziegler e Olbort 2007, Moore e Kelly 2015). Ele é constituído principalmente por tecido conjuntivo denso, repleto de fibras colágenas. Sua eversão ocorre devido a ação muscular. Apenas a glande e o sulco espermático

intumescem com sangue, a base e o corpo do falo não inflam durante a cópula (Kelly 2013).

Figura 6

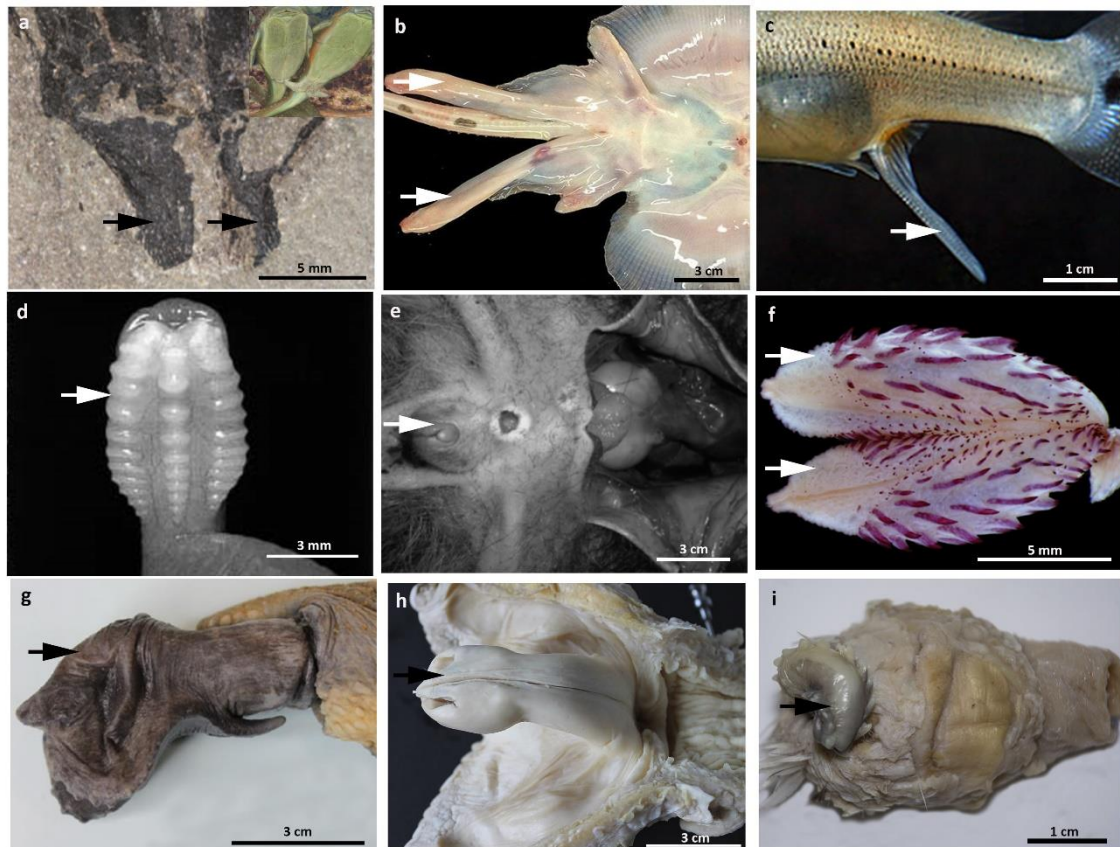


Figura 6. Órgãos copuladores dos vertebrados representados pela seta. **a)** Clássper ósseo em Placodermi. *Microbrachius dicki* (Traquair 1888). **b)** Clássper cartilaginoso em Elasmobranchii. *Leucoraja erinacea* (Mitchill 1825). **c)** Gonopódio em Actinopterygii. *Belonesox belizanus* (Kner 1860). **d)** Falodeu em Gymnophiona. *Schistometopum gregorii* (Boulenger 1895). **e)** Pênis em Mammalia. *Tamandua tetradactyla* (Linnaeus 1758). **f)** Hemipênis de Squamata. *Bothrops sazimai* (Barbo, Gasparini, Almeida, Zaher, Grazziotin, Gusmão, Ferrarini e Sawaya 2016). **g)** Falo em Testudines. *Mesoclemmys hogei* (Mertens 1967). **h)** Falo em Crocodilya. *Caiman crocodilus* (Linnaeus 1758). **i)** Falo em Aves. *Crax fasciolata*. Figura a) modificada a partir de Kelly 2013.

Long *et al.* (2015). Figura b) modificada a partir de O'Shaughnessy *et al.* (2015). Figura c) retirada a partir de Havard Store Andresen. Figura d) modificada a partir de Gower e Wilkinson (2002). Figura e) modificada a partir de Rossi *et al.* (2013). Figura f) modificada a partir de Barbo *et al.* (2016). Figura g) modificada a partir de Grondona (2015). Figura h) fotografada por Gustavo Leite Gonçalves. Figura i) fotografada por Thiago Quintão Araújo.

Figura 7

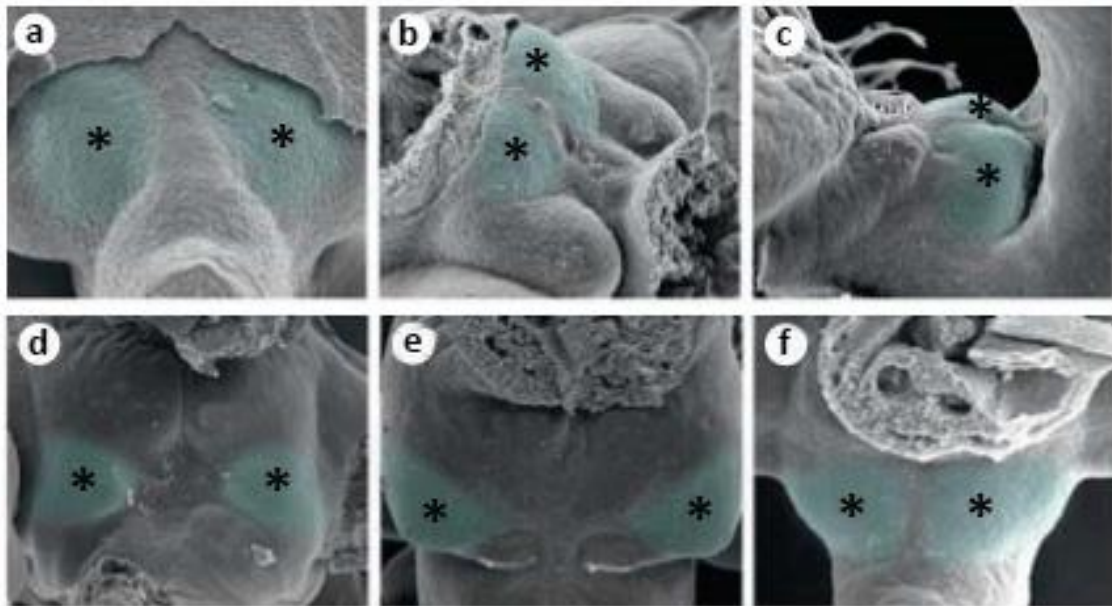


Figura 7. Origem embriológica do órgão copulador em Amniota, evidenciando os brotamentos genitais (*). **a)** Testudines. **b)** Crocodylia. **c)** Aves. **d)** Squamata, *Anole*. **e)** Squamata, *Python*. **f)** Mammalia. Modificado a partir de Gredler *et al.* 2014a.

Figura 8

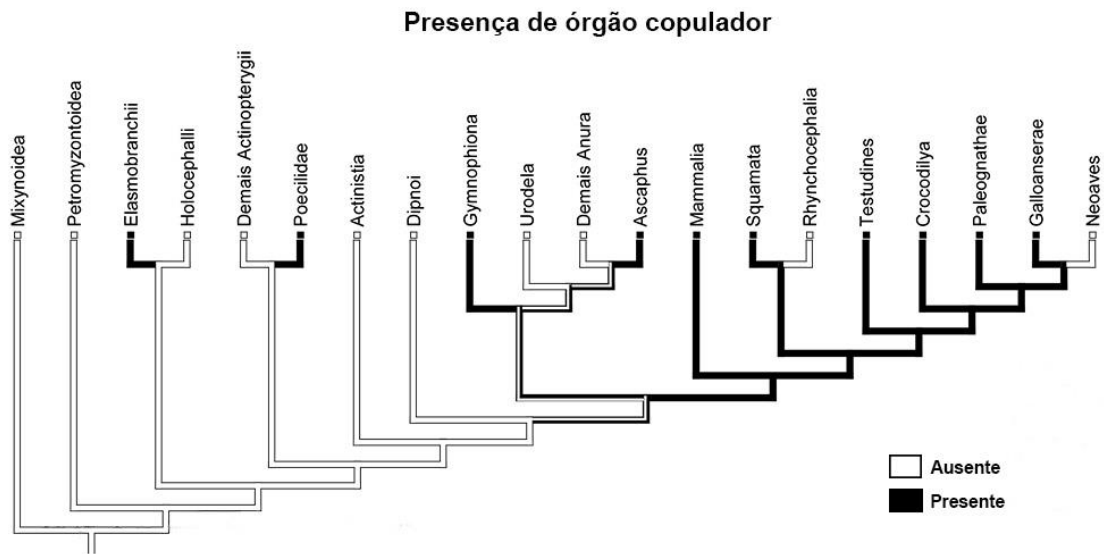


Figura 8. Evolução do órgão copulador em Craniata. Conforme apresentado no texto, o órgão copulador é homólogo apenas em Amniota, nos demais táxons se trata de estruturas não-homólogas. O objetivo desta figura é identificar a presença de órgão copulador em Craniata, desconsiderando as homologias. O programa utilizado para a plotagens dos dados foi o Mesquite 3.11 (Maddison e Maddison 2017). Filogenia modificada a partir de Janke *et al.* (2001) e Pough (2013).

3.3.2.2. O ÓRGÃO COPULADOR DAS AVES

Apenas 3% das aves apresentam órgão copulador, o qual é denominado falo (King 1981b, Briskie e Montgomerie 1997, Brennan *et al.* 2007). Nessas aves, o órgão copulador se origina a partir de um par de brotamentos genitais (**Fig. 7c**) formados por populações de células progenitoras que surgem nas extremidades laterais do embrião, lateralmente à membrana cloacal e entre os membros posteriores. O par de brotamentos genitais se funde medialmente para formar o tubérculo genital. Dois pares adicionais de brotamentos cloacais, se desenvolvem e se fundem nos lábios cloacais anterior e posterior (Herrera *et al.* 2013, Herrera *et al.* 2014, Gredler *et al.* 2014a). A maioria das

aves, com órgão copulador, estão inseridas no grupo das Paleognathae e Galloanserae, sendo que apenas alguns representantes de Neoaves possuem um órgão copulador vestigial (Oliveira e Mahecha 2004, Montgomerie e Briskie 2007).

O falo das aves (**Fig. 6i**) pode ser dividido em dois tipos, o falo intromitente, que adentra na cloaca da fêmea, e o falo não-intromitente, que não penetra na cloaca da fêmea (King 1981b, Oliveira e Mahecha 2000, Brennan *et al.* 2008). 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* (Brabourne e Chubb, 1914) (Tinamiformes) (Oliveira *et al.* 2004, Montgomerie e Briskie 2007, Brennan *et al.* 2008, Brennan e Prum 2011, Previatto *et al.* 2017). O falo intromitente é classificado de acordo com a presença ou ausência de cavidade tubular. Em estado de flacidez, essa cavidade é uma estrutura semelhante ao dedo invaginado de uma luva, porém quando ela se torna intumescida com linfa, ela se everte apresentando um formato espiralado (Montgomerie e Briskie 2007).

O falo intromitente das aves apresenta algumas estruturas semelhantes ao de Crocodylia e Testudines, sendo composto por um corpo fibroso, tecido erétil, que se origina a partir da parede ventral do proctodeu, e um sulco ejaculatório dorsal. Quando o falo está ereto, os lábios do sulco ejaculatório se tornam intumescidos e impedem o desperdício de espermatozoides (Oliveira e Mahecha 2000, Montgomerie e Briskie 2007, Kelly 2013). 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 e Mahecha 2000).

O mecanismo de ereção do falo ocorre através de intumescimento dos tecidos eréteis com linfa, e a estrutura responsável pela produção de linfa é o corpo vascular

paracloacal, que se localiza na parede ventral do urodeu (Guzsal 1974, Yamano 1981, Knight 1984). A base do falo também tem função secretora, possuindo glândulas produtoras de muco que são responsáveis pela lubrificação e facilitação da cópula (Komárek e Marvan 1969).

Muitos grupos de aves possuem a porção tubular do falo coberta com pequenas projeções e sulcos estreitos, que tem importância pós-copulatória e agem na manutenção da cópula e remoção de espermatozoides rivais do trato reprodutivo da fêmea. A quantidade e desenvolvimento dessas estruturas estão diretamente relacionadas com a competição espermática entre os machos (Coker *et al.* 2002).

Em Tinamiformes, o falo de *Crypturellus cinnamomeus* (Lesson 1842) foi inicialmente descrito como sendo intromitente e sem cavidade tubular (Von Müller 1836, Gerhardt 1933). Porém, recentes estudos anatômicos mostraram que o falo de *Crypturellus* é pequeno e do tipo não-intromitente (Brennan *et al.* 2008). Em *Nothura maculosa* (Temminck 1840), o falo é intromitente e possui cavidade tubular. Nessa espécie, o falo é composto por uma base fixa, com corpo fibroso, e por uma porção tubular livre, com a cavidade tubular. A porção tubular do falo é posteriormente dividida em eversiva e fixa. Quando o falo está em repouso, ele se mantém dentro da bolsa fállica, localizada no assoalho do proctodeu. Quando ele está ereto, ele se everte a partir da bolsa fállica como uma estrutura em espiral. A base e a porção tubular do falo são revestidas principalmente por tecido epitelial estratificado pavimentoso (Oliveira e Mahecha 2000).

Os falos das aves Apterygidae (Gray 1840), Casuariidae (Kaup 1847) e Dromaiidae (Vieillot 1816) foram descritos anatomicamente com poucos detalhes. Eles são caracterizados como intromitente, assimétrico e inclinado para a esquerda, possuindo

um sulco ejaculatório, disposto dorsomedialmente (Von Müller 1836, Gerhardt 1933, Caithness 1971).

O falo de Struthionidae é do tipo intromitente e em repouso, possui 20 cm de comprimento, permanecendo no interior da bolsa fálica. Quando ereto, as paredes do sulco ejaculatório, compostas por tecido erétil, se tornam entumecidas e o falo aumenta seu tamanho para 40 cm de comprimento (Gerhardt 1933). A base do falo é fixa e ligada ao assoalho do proctodeu, enquanto o corpo do falo é a porção mais distal e livre. O corpo do falo é constituído por três componentes principais, um par de corpo fibroso que se origina na base do falo, um corpo vascular elástico e um sulco ejaculatório disposto dorsomedialmente (King 1981b, Brennan e Prum 2011).

O falo de Rheidae, é um órgão fibroso, linfático e constituído por duas porções, a base, fixa, rígida e revestida por tecido epitelial estratificado pavimentoso, e a porção tubular, que é livre, espiralada e composta principalmente por tecido conjuntivo modelado rico em fibras colágenas e entremeados por vasos linfáticos (Santos *et al.* 2011). Em repouso, o falo apresenta um orifício na extremidade distal que leva a cavidade tubular, que se encontra invaginada dentro da bolsa fálica. Quando ereto, essa cavidade tubular se everte em formato espiral. Ao contrário de outras aves Palaeognathae, as emas apresentam o corpo fibroso espiralado na base do falo (Von Müller 1836, Gerhardt 1933).

O grupo das Neognathae é dividido em dois clados. O primeiro é o clado das aves Galloanserae, que compõem as ordens Anseriformes e Galliformes, já o segundo é o das Neoaves, que reúne todas as ordens restantes de Neognathae (Cracraft *et al.* 2004, Prum *et al.* 2015). Destes, apenas Galloanserae apresenta um falo homólogo ao encontrado em Palaeognathae (Montgomerie e Briskie 2007).

Em Anseriformes, o falo da família Anatidae (Vigors 1825) foi o mais estudado (Guzsal 1974, King 1981b, Coker *et al.* 2002), sendo que essa família é distinta por apresentar o falo mais longo, em relação ao tamanho do corpo, dentre as aves (McCracken 2000). O falo dos anatídeos é do tipo intromitente com cavidade tubular (King 1981b) e é formado por uma base fixa, sustentada por um corpo fibrocartilaginoso, e por uma porção tubular dividida em duas porções, uma fixa e uma eversível. O sulco ejaculatório está localizado na porção dorsomedial do falo, e se estende da base até a extremidade distal da porção tubular do falo (Fehlberg 2015).

Quando o falo dos anatídeos está em repouso, a porção tubular fica enovelada e armazenada dentro da bolsa fállica. No falo ereto, a porção tubular everte de forma espiralada (Coker *et al.* 2002). Histologicamente, a base e a porção tubular eversiva do falo é revestida por epitélio estratificado pavimentoso, já a porção tubular fixa é revestida por epitélio pseudoestratificado cilíndrico com aspecto secretor (Fehlberg 2015).

A morfologia dos falos de Anseranatidae e Anhimidae ainda não foi descrita na literatura, mas acredita-se que seja semelhante aos encontrados em Anatidae (Montgomerie e Briskie 2007).

Em Galliformes, existem grupos com falo intromitente e outros com falo não-intromitente, e estes são homólogos aos falos intromitentes presentes em Palaeognathae e Neognathae (Montgomerie e Briskie 2007, Herrera *et al.* 2013). Em Phasianidae, o falo é do tipo não-intromitente. Em galo doméstico (*Gallus gallus*) ele é formado por quatro pequenos corpos fállicos, dois laterais e dois mediais, já em peru (*Meleagris gallopavo*) o falo é constituído somente pelos dois corpos fállicos laterais. O sulco ejaculatório está presente e se situa entre esses corpos. Durante a cópula, ocorre o intumescimento dos

corpos fállicos e liberação de espermatozoides, embora não haja penetração do falo na cloaca da fêmea (Nishiyama 1955, King 1981b).

O falo de Numididae e Odontophoridae não foi descrito na literatura, mas supõe-se que ele seja não-intromitente e semelhante ao encontrado em Phasianidae (Montgomerie e Briskie 2007).

Em Megapodiidae, o órgão copulador foi descrito apenas nos gêneros *Alectura* (Latham, 1824). O falo de *Alectura* é do tipo não-intromitente e é composto por dois pequenos corpos fállicos laterais e por um sulco ejaculatório, em formato de Y, localizado entre esses corpos. O formato do falo de *Alectura* apresenta ápice duplo, sendo semelhante ao de peru. A cloaca de *Leipoa* (Gould 1840) também foi descrita, porém o falo ou qualquer estrutura fállica está ausente (Brennan *et al.* 2008).

O falo de Cracidae foi descrito como um órgão espiralado, que se origina a partir do assoalho da cloaca, formado por dois corpos rígidos assimétricos eversíveis, um sulco ejaculatório dorsal situado entre esses corpos, um músculo inserido na base do falo e uma abertura na extremidade do falo, semelhante à encontrada em Anseriformes (Gadow e Selenka 1891, Gerhardt 1933).

Por fim, os estudos anatômicos com a cloaca e órgão copulador em Cracídeos são antigos, e, portanto, foram utilizadas técnicas pouco elucidativas. Além disso, são raros, pontuais e pouco detalhados, de modo que há uma clara lacuna no conhecimento morfológico e evolutivo destas estruturas dentro da família. Isto motivou esta tese, além de se tratar de um grupo de aves com importância ecológica notável, principalmente para dispersão de sementes no Neotrópico e por ser uma das famílias de aves mais ameaçadas de extinção na região Neotropical.

Acreditamos que o estudo detalhado da cloaca e do órgão copulador com o enfoque morfológico apresentado aqui, poderá elucidar a evolução de caracteres e consequentemente corroborar relações filogenéticas já estabelecidas, além de fornecer subsídios em reprodução para estratégias de conservação e reintrodução destas aves em seus respectivos habitats.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbo F. E., Gasparini J. L., Almeida A. P., Zaher H., Graziotin F. G., Gusmão R. B., Ferrarini J. M. G., Sawaya R. J. Another new and threatened species of lancehead genus *Bothrops* (Serpentes, Viperidae) from Ilha dos Franceses, Southeastern Brazil. *Zootaxa* 4097 (4): 511-529. 2016.
- Bleiweiss R., Kirsch J. A. W., Lapointe F. J. DNA–DNA hybridization-based phylogeny for ‘higher’ nonpasserines: reevaluating a key part of the avian family tree. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3: 248-255. 1994.
- Brennan P. L. R., Prum R. O., McCracken K. G., Sorenson M. D., Wilson R. E., Birkhead T. R. Coevolution of Male and Female Genital Morphology in Waterfowl. *Plos One* 2(5): e418. 2007.
- Brennan P. L. R., Birkhead, T. R., Zyskowski, K., Waag, j. Van der and Prum, R. O. Independent evolutionary reductions of the phallus in basal birds. *Journal of Avian Biology* 39: 487-492. 2008.
- Brennan P. L. R., Prum R. O. The erection mechanism of the ratite penis. *Journal of Zoology*. 286 (2): 140-144. 2011.
- Briskie J. V., Montgomerie R. Sexual selection and the intromittent organ of birds. *Journal of Avian Biology* 28: 73-86.

- Burleigh J. G., Kimball R. T., Braun E. L. Building the avian tree of life using a large-scale, sparse supermatrix. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 84: 53-63. 2015.
- Caithness T. A. Sexing kiwis. *International Zoo Yearbook* 11: 206-208. 1971.
- Chubb A. L. New nuclear evidence for the oldest divergence among neognath birds: the phylogenetic utility of ZENK (I). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 140-151. 2004.
- Coker C. R., Mckinney F., Hays H., Briggs S. V., Cheng, K. M. Intromittent Organ Morphology and Testis Size in Relation To Mating System in Waterfowl. – *The Auk* 119: 403-413. 2002.
- Cracraft J., Barker F. K., Braun M. J., Harshman J., Dyke G. J., Feinstein J., Stanley S., Cibois A., Schikler P., Beresford P., García-Morena J., Sorenson M. D., Yuri T., Mindell D. P. Phylogenetic relationships among modern birds (Neornithes): toward an avian tree of life. In: Cracraft J, Donoghue MJ, eds. *Assembling the tree of life*. New York: Oxford University Press. 468-489. 2004.
- Delacour J., Amadon D. *Curassows and related birds, sec. ed.* Barcelona and New York: Lynx Edicions and the National Museum of Natural History. 476p. 2004.
- Del Hoyo J. Family Cracidae. In: del Hoyo J., Elliot A., Sargatal J., eds. *Handbook of the birds of the world. New World vultures to guineafowl*. 2: 310-364, Barcelona, Lynx Editions. 1994.
- Dyke G. J., Gulas B. E., Growe T. M. Suprageneric relationships of galliform birds (Aves, Galliformes): a cladistic analysis of morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society* 137: 227-244. 2003.
- Dzerzhinsky F.Y. Evidence for common ancestry of the Galliformes and Anseriformes. *Courier Forschungsinstitut Senckenberg* 181: 325-336. 1995.

- Fehlberg B. H. B. *Morfologia da cloaca e do aparelho copulador de cairina moschata (Anatidae: Anseriformes) com implicações sistemáticas*. 2015. 91p. Dissertação de Mestrado em Zoologia – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Frank-Hoeflich K., Silveira L. F., Estudillo-López J., García-Koch A. M., Ongay-Larios L., Piñero D. Increased taxon and characters sampling reveals novel intergeneric relationships in the Cracidae (Aves: Galliformes). *Journal of Zoological Systematic and Evolutionary Research* 45(3): 242-254. 2007.
- Feduccia A. *The origin and evolution of birds*. 2. ed., Yale: New Haven. 466 p. 1999.
- Gadow H. Remarks on the cloaca and copulatory organs of the amniota. *Philosophical Transactions of the Royal Society Serie B* 178: 5-37. 1887.
- Gadow, H., Selenka, E. Vögel: Anatomischer Theil. Vol. 6. In *Bronn's klassen und ordnungen des Thier-Reichs*. Winter. Leipzig. 1008 p. 1891.
- Gerhardt U. Kloake and Begattungsorgane. *Handbuch Der Vergleichenden Anatomie Der Wirbeltiere*. Berlin: *Urban und Schwarzenber* 6: 267-350. 1933.
- Gower D. J., Wilkinson M. Phallus morphology in caecilians (Amphibia, Gymnophiona) and its systematic utility. *Bulletin of the Natural History Museum Zoology* 68(2): 143-154. 2002.
- Grau E. T., Pereira S. L., Silveira L. F., Hofling E., Wajntal A. Molecular phylogenetics and biogeography of Neotropical piping guans (Aves: Galliformes): *Pipile* Bonaparte, 1856 is synonym of *Aburria* Reichenbach, 1853. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35: 637-645. 2005.
- Gredler M. L., Larkins C. E., Leal F., Lewis A. K., Herrera A. M., Perriton C. L., Sanger

- T. J., Cohn M. J. Evolution of External Genitalia: Insights from Reptilian Development. *Sexual Development* 8: 311–326. 2014a.
- Gredler M. L., Sanger T. J., Cohn M. J. Development of the Cloaca, Hemipenes, and Hemiclitores in the Green Anole, *Anolis carolinensis*. *Sexual Development* 9: 21-33. 2014b.
- Grondona, G. B. *Características morfológicas da cloaca e do aparelho copulador de trachemys scripta (testudines) com implicações sistemáticas*. 2015. 72p. Dissertação de Mestrado em Zoologia – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Guzsal E. Erection apparatus of the copulatory organ of ganders and drakes. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae* 24: 361-373. 1974.
- Hamilton Jr W. J. The Bacula of Some North American Vespertilionid Bats. *Journal of Mammalogy* 30: 97-102. 1949.
- Haraguchi R., Motoyama J., Sasaki H., Satoh Y., Miyagawa S., Nakagata N., Moon A., Yamada G. Molecular analysis of coordinated bladder and urogenital organ formation by Hedgehog signaling. *Development* 134: 525-533. 2007.
- Herrera A. M., Shuster S. G. Perriton C. L. Cohn M. J. Developmental basis of phallus reduction during bird evolution. *Current Biology*. 23: 1065-1074. 2013.
- Herrera A. M., Brennan P. L. R., Cohn M. J. Development of Avian External Genitalia: Interspecific Differences and Sexual Differentiation of the Male and Female Phallus. *Sexual Development* 9(1): 43-52. 2014.
- Herrera A. M., Cohn M. J. Embryonic origin and compartmental organization of the external genitalia. *Scientific Reports* 4: 6896: 1-6. 2014.

- Heinen-Kay J. L., Langerhans R. B. Predation-associated divergence of male genital morphology in a livebearing fish. *Journal of Evolutionary Biology* 26: 2135-2146. 2013.
- Hildebrand M., Goslow G. *Análise da estrutura dos Vertebrados*. São Paulo: Atheneu. 637 p. 2006.
- Hosner P. A., Braun E. L., Kimball R. T. Rapid and recent diversification of curassows , guans , and chachalacas (Galliformes : Cracidae) out of Mesoamerica : Phylogeny inferred from mitochondrial, intron and ultraconserved element sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 102: 320-330. 2016.
- Huxley T. H. On the classification and distribution of the Alectoromorphae and Heteromorphae. *Proceedings of the Royal Society of London* 294-319. 1868.
- Hyung E. O. S., Olaf R. P., Bininda-Emonds., Carrol J. P. A phylogenetic supertree of the fowls (Galloanserae, Aves). *Zoologica Scripta* 38: 465-481. 2009.
- IUCN 2017. *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1*. <<http://www.iucnredlist.org>>. Visualizado dia 05 de Março de 2017.
- Janke A., Erpenbeck D., Nilsson M., Amason U. The mitochondrial genomes of the iguana (*Iguana iguana*) and the caiman (*Caiman crocodylus*): Implications for amniote phylogeny. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* 268:623-631. 2001.
- Johnson O. W., Skadhauge E. Structural-functional correlations in the kidneys and observations of colon and cloacal morphology in certain Australian birds. *Journal of Anatomy* 120: 495-505. 1975.
- Jollès J. Schoentgen F., Jollds P., Prager E. M., Wilson A.C. J. Amino acid sequence and immunological properties of chachalaca egg White lysozyme. *Journal of Molecular Evolution* 8, 59-78. 1976.

- Kardong K. V. *Vertebrates: Comparative anatomy, function and evolution*. 6^a ed. New York. McGraw-Hill. 794p. 2012.
- Kelly D. A. Turtle and mammal penis designs are anatomically convergent. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* 271: S293-S295. 2014.
- Kelly D. A. Penile Anatomy and Hypotheses of Erectile Function in the American Alligator (*Alligator mississippiensis*): Muscular Eversion and Elastic Retraction. *The Anatomical Record* 296: 488-494. 2013.
- Kimball R. T., Braun E. L. A multigene phylogeny of Galliformes supports a single origin of erectile ability in non-feathered facial traits. *Journal of Avian Biology* 39: 438-445. 2008.
- Kimball R.T., St. Mary C. M., Braun E.L. A Macroevolutionary Perspective on Multiple Sexual Traits in the Phasianidae (Galliformes). *International Journal of Evolutionary Biology* 423938. 2011.
- King A. S. *Cloaca*. In: King A. S., Mclelland J. (Ed.) Form and function in birds. London: Academic Press. 63-105. 1981a.
- King A. S. *Phallus*. In: King A. S., Mclelland J. (Ed.). Form and function in birds. London: Academic Press. 107-147. 1981b.
- King A. S. *Apparatus urogenitalis*. In: Baumel, J. J. (ed.). Handbook of avian anatomy. Cambridge: Nuttal Ornithological Club. 329-397. 1993.
- Komarek V., Marvan F. Beitrag zur mikroskopischen anatomie des kopulationsorganes der entenvagel. *Anatomischer Anzeiger* 124: 467-476. 1969.
- Knight C. E., Lucas A. M., Ringer R. K. Anatomy of structures involved in the production of seminal fluids in the chicken. *Poultry Science* 48 (5): 1830-1831. 1969.
- Knight C. E., Bakst N. R., Cecil H. C. Anatomy of the *corpus vasculare paracloacale* of the male turkey. *Poultry Science* 63: 1883-1891. 1984.

- Ksepka D. T. Broken gears in the avian molecular clock: new phylogenetic analyses support stem galliform status for *Gallinuloides wyomingensis* and rallid affinities for *Amitabha urbsinterdictensis*. *Cladistics* 25: 173–197. 2009.
- Komarek V. The cloaca of the turkey-cock and of the cock. *Acta Veterinaria Brno* 39: 227-234. 1970.
- Kudo N., Sugimura M., Yamano S. Anatomical studies of corpus paracloacalis vascularis in cocks. *Japanese Journal Veterinary Research* 23: 1-10. 1975.
- Lake P.E. The male reproductive tract of the fowl. *Journal of Anatomy* 91: 116-129, 1957.
- Larkins C. E., Cohn M. J. Phallus Development in the Turtle *Trachemys scripta*. *Sexual Development* 9: 34-42. 2014.
- Leal F., Cohn M. J. Development of Hemipenes in the Ball Python Snake *Python regius*. *Sexual development* 9 (1): 6-20. 2014.
- Leite G. A., Farias I. P., Peres C. A., Brooks D. M. Reproductive biology of the endangered wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia. *Journal of Natural History* 51: 677-687. 2017.
- Livezey B.C. A phylogenetic analysis of basal Anseriformes, the fossil *Presbyornis*, and the interordinal relationships of waterfowl. *Zoological Journal of the Linnean Society* 121: 361-428. 1997.
- Long J. A., Mark-Kurik E., Johanson Z., Lee M. S. Y., Young G. C., Min Z., Ahlberg P. E., Newman M., Jones R., Blaauwen J., Choo B., Trinajstić K. Copulation in antiarch placoderms and the origin of gnathostome internal fertilization. *Nature* 517: 196-199. 2015.
- McCracken K. G. The 20-cm Spiny Penis of the Argentine Lake Duck (*Oxyura vittata*). *The Auk* 117(3): 820-825. 2000.

- McLeod W. M., Trotter D. M., Lumb J. W. Avian anatomy. Minneapolis: Burge Publishing Company, 143p. The digestive system. 57-68. 1964
- Maddison W. P., Maddison D. R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis: 3.2. Obtido a partir da página da internet <http://mesquiteproject.org>. 2017.
- Marvan F. Postnatal development of the male genital tract of the *Gallus domesticus*. *Anatomischer Anzeiger*: 124: 443-462. 1969
- Mayr G., Clarke, J. The deep divergences of neornithine birds: a phylogenetic analysis of morphological characters. *Cladistics* 19: 527-553. 2003.
- Montgomerie R., Briskie J. *Anatomy and Evolution of Copulatory Structures*. - In: Jamieson, B. G. M. (ed.), Reproductive Biology and Phylogeny of Birds. Part A: Phylogeny, Morphology, Hormones and Fertilization. Science Publishers. 115-148. 2007.
- Moore B. C., Kelly D. A. Histological Investigation of the Adult Alligator Phallic Sulcus. *South American Journal of Herpetology* 10(1): 32-40. 2015.
- Moore B. C., Mathavan K., Guillette-Jr L. J. Morphology and Histochemistry of Juvenile Male American Alligator (*Alligator mississippiensis*) Phallus. *The anatomical record* 295: 328-337. 2012.
- Moura M. R., Costa H. C., Pirani R.M. Rediscovery of *Phalotris concolor* (Serpentes: Dipsadidae: Elapomorhini). *Zoologia* 30: 430-436. 2013.
- Mourer-Chauviré C. The Galliformes (Aves) from the phosphorites du Quercy (France): systematics and biogeography. In: Campbell Jr., K. E. ed. *Papers in Avian Palaeontology*. Natural History Museum of Los Angeles County 36: 67-95. 1992.
- Moyes C. D., Schulte P.M. *Princípios de Fisiologia Animal*. 2ª Edição. Porto Alegre: Artmed. 756p. 2010.

- Von Müller, J. Über zwei verschiedene typen in dem bau der erectilen männlichen geschlechtsorgane bei den straufsartigen vögeln die entwicklungsformen dieser organe unter den wirbelthieren überhaupt. *Akademisch Wissenschaft Physicalische Abhandlugen* 13: 137-177. 1836.
- Nishiyama H. Studies on the accessory reproductive organs in the cock. *Journal of the Faculty of Agriculture* 10(3): 277-306. 1955.
- Nogueira J. C., Castro A. C. S., Câmara E. V. C., Câmara B. G. O. Morphology of the male genital system of *Chironectes minimus* and comparison to other didelphid marsupials. *Journal of Mammalogy* 85(5): 834–841. 2004
- 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* 575: 119-126. 2004
- Oliveira C. A., Mahecha G. A. B. Cloacal morphology of *Nothura maculosa* (Temminck, 1815), Aves Tinamiformes. *Annals of Anatomy* 178: 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* 182: 161-169. 2000.
- Oliveira C. A., Silva R. M., Santos M. M., Mahecha G. A. B. Location of ureteral openings in the cloacas of tinamous, some ratite birds, and crocodylians: A primitive character. *Journal of Morphology* 260: 234-246. 2004.
- Pereira S. L., Baker A. J., Wajntal A. Combined nuclear and Mitochondrial DNA Sequences Resolve Generic Relationships within the Cracidae (Galliformes, Aves). *Systematic Biology* 51(6): 946-958. 2002.

- Pereira S. L., Baker A. J. A molecular timescale for galliform birds accounting for uncertainty in time estimates and heterogeneity of rates of DNA substitutions across lineages and sites *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 499-509. 2006.
- Pereira S. L., Brooks D. M. *Conservando os cracídeos: A família de aves mais ameaçadas das Américas*. Nº 6. Houston: Miscellaneous Publications of the Houston Museum of Natural Science. 116p. 2006.
- Pereira S. L., Baker A. J. *Waterfowl and gamefowl (Galloanserae)*. *The Timetree of Life* S. B. Hedges and S. Kumar, Eds. 415-418. 2009.
- Pereira S. L., Baker A. J., Wajntal A. Did increased taxon and character sampling really reveal novel intergeneric relationships in the Cracidae (Aves: Galliformes)? *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 47: 103–104. 2009.
- Porto M., Oliveira M. A., Pissinatti L., Rodrigues R. L., Rojas-Moscoso J. A., Cogo J. C., Metze K., Antunes E., Nahoum C., Mónica F. Z., De-Nucci G. The Evolutionary Implications of Hemipenial Morphology of Rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Laurent, 1768) (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). *Plos One* 8(6): e66903. 2013.
- Pough H., Janis C. M., Heiser J. B. *Vertebrate Life (9th ed.)*. Glenview: Pearson Education. 720 p. 2013.
- Prager E. M., Wilson A. C. Congruency of phylogenies derived from different proteins – a molecular analysis of the phylogenetic position of cracid birds. *Journal of Molecular Evolution* 9: 45-57. 1976.
- Prum R. O., Berv J. S., Dornburg A., Field D. J., Townsend J. P., Lemmon E. M., Lemmon A. R. A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature* 526: 569-573. 2015.
- Rosenberg H. I., Bauer A. M., Russel A. P. External morphology of the developing

- hemipenes of the dwarf chameleon, *Bradypodion pumilum* (Reptilia: Chamaeleonidae). *Canadian Journal of Zoology* 67: 884-890. 1989.
- Rossi L. F., Calderón R., Alonso F.M., Luaces J.P., Merani M. S. Observaciones anatómicas e histológicas del sistema reproductor masculino y femenino en *Tamandua tetradactyla* (Myrmecophagidae: Xenarthra). *Investigación Veterinaria* 15(1): 17-28. 2013.
- Sanger T. J., Gredler M. L., Cohn M. J. Resurrection embryos of the tuatara, *Sphenodon punctatus*, to resolve vertebrate phallus evolution. *Biology Letters*. 11: 20150694. 2015.
- Santos T. C., Sousa J. A., Oliveira M. F., Santos J. M., Parizzi R. C., Miglino M. A. Morfologia dos órgãos genitais masculinos e da cloaca da ema (*Rhea americana americana*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31: 430-440. 2011.
- Seebohm H. An attempt to diagnose the suborders of the great Gallino-Gralline group of birds by the aid of osteological characters alone. *Ibis* 30(4): 415-435. 1888.
- O'Shaughnessy K. L., Dahn R. D., Cohn M. J. Molecular development of chondrichthyan claspers and the evolution of copulatory organs. *Nature Communication* 6: 6698. 2015.
- Sick, H. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Nova fronteira. 862 p. 1997.
- Sibley C. G. The electrophoretic patterns of avian egg-white proteins as taxonomic characters. *Ibis* 102: 215-284. 1960.
- Sibley C. G., Ahlquist J. E. *Phylogeny and classification of birds*. New Haven & London: Yale University Press. 1111 p. 1990.

- Silveira L. F., Soares E. S., Bianchi C. A. Plano de ação nacional para a conservação de Galliformes ameaçados de extinção (aracuãs, jacus, jacutingas, mutuns e urus). Séries ameaçadas número 6. Brasília: ICMBIO - MMA. 90 p. 2008.
- Souza A. F., Costa S. G. A. L., Morais D. B., Molina W. F. Diversidade morfológica dos órgãos copulatórios dos vertebrados: uma revisão. *Biota Amazonia* 4 (4): 114-122. 2014.
- Spix J. B. *Avium species novae, quas in itinere per Brasiliam anis 1817-1820*, Berlim: Hubschmanni, 85 p. 1825.
- Srbek-Araujo A. C., Silveira L.F., Chiarello A.G. The Red-Billed Curassow (*Crax blumenbachii*): Social Organization, and Daily Activity Patterns. *The Wilson Journal of Ornithology* 124: 321-327. 2012.
- Toledo-Lima G. S., Oliveira-Junior T. M., Macario P., Oliveira D. V., Pichorim M. Notes on reproductive biology of two species of cracids in northeastern Brazil. *The Wilson Journal of Ornithology* 125: 665–669. 2013.
- Tortora J., Nielsen M.T. *Princípios de Anatomia Humana*. 12ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1110 p. 2013.
- Van Dijk D. E. On the cloacal região of anura in particular of larval *Ascaphus*. *Annals of the University of Stellenboch* 35: 169-249. 1959.
- Van Tuinen M., Sibley C. G., Hedges S. B. The early history of modern birds inferred from DNA sequences of nuclear and mitochondrial ribosomal genes. *Molecular Biology and Evolution* 17: 451-457. 2000.
- Vaurie C. Taxonomy of the Cracidae (Aves). *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 138(4): 135-259. 1968.

- Verheyen R. Contribution a l'anatomie et la systématique des galliformes. *Bulletin Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique* 32(42): 1-24. 1956.
- Wake M. H. Evolutionary Morphology of the Caecilian Urogenital System IV. The cloaca. *Journal of Morphology* 136: 353-366. 1972.
- Wang N., Kimball R. T., Braun E. L., Liang B., Zhang Z. Assessing Phylogenetic Relationships among Galliformes: A Multigene Phylogeny with Expanded Taxon Sampling in Phasianidae. *Plos One* 8(5): e64312. 2013.
- Wolfson A. Notes on the cloacal protuberance, seminal vesicles, and a possible copulatory organ in male passerine birds. *Bulletin of the Chicago Academy of Sciences* 10(1): 1-23. 1954.
- Yamano S. Development of the corpus vasculare paracloacale in the male chick embryo. *Japanese Journal of Veterinary* 43(4): 459-468. 1981.
- Ziegler T., Olbort S. Genital structures and sex identification in crocodiles. *Crocodile Specialist Group Newslett* 26: 16-7. 2007.

Capítulo II

**Morphology of the copulatory organ in *Ortalis canicollis*
(Aves: Cracidae) and early evolution of the phallus in birds.**

Morphology of the copulatory organ in *Ortalis canicollis* (Aves: Cracidae) and early evolution of the phallus in birds

Diego Matussi Previatto¹  | Gustavo Leite Gonçalves¹ | Marcela Carvalho Ortiz¹ | Carla Danielle de Melo-Soares¹ | Sérgio Roberto Posso²

¹Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

²Laboratório de Ecologia, Sistemática e Conservação de Aves Neotropicais, CPTL, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brazil

Correspondence

Diego Matussi Previatto, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Email: diegompreviatio@yahoo.com.br

Funding information

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Abstract

We studied the morphology of the copulatory organ of *Ortalis canicollis* and its evolution in birds. The phallus of *O. canicollis* is intromittent, with a blind tubular cavity and two distinct regions when erect: the base of the phallus, which shows the mucosa smooth and lined by a pseudostratified columnar epithelium, and the tubular portion, which shows the mucosa lined by a keratinized stratified squamous epithelium with little knobs. The phallus includes two vascular bodies at the cranial portion in the urodeum. A fibrocartilaginous body anchors the tubular portion therefrom up to the eversible portion. A branched elastic ligament inserts on different regions of the tubular portion. The phallus is plesiomorphic in birds and it has disappeared in *Megapodius*, *Leipoa* and Neoaves. The asymmetric phallus evolved early and it was retained in the basal branches of birds. The intromittent phallus is plesiomorphic in birds (found in Archosauria's ancestor), but *Crypturellus*, Numididae, Odontophoridae and Phasianidae have developed a non-intromittent phallus a posteriori. The blind tubular cavity and the fibrocartilaginous body evolved as an adaptive convergence many times in birds. Therefore, this study shed some light on morphological aspects of the phallus and contributed to understand its evolution in birds.

KEYWORDS

anatomy, cloaca, Galloanserae, histology, phallus

1 | INTRODUCTION

The Chaco chachalaca *Ortalis canicollis* (Wagler, 1839) is a Neotropical bird belonging to the Cracidae, Galliformes (Delacour & Amadon, 2004). The Galliformes and Anseriformes are grouped in the superorder Galloanserae (Livezey & Zusi, 2007), and the close relationship between them is corroborated by studies using morphological (Ksepka, 2009; Livezey & Zusi, 2007; Mayr & Clarke, 2003) and molecular data (Chubb, 2004; Prum et al., 2015; van Tuinen, Sibley, & Hedges, 2000).

The taxonomic position of Cracidae amongst Galloanserae was subject of debate in twentieth century. Cracidae was

grouped with Megapodiidae into the superfamily Cracoidea (Prager & Wilson, 1976) or it was classified in the particular order Craciformes, including also the Megapodiidae (Jin & Smillie, 1994). Some studies considered Cracidae and Megapodiidae as a monophyletic group, and it was considered as a sister group of the rest of the Galliformes (Feduccia, 1999). However, the morphological and molecular studies suggest that cracids are a sister taxon of the clade (Numididae (Phasianidae Odontophoridae)) and the Megapodiidae is a sister group of other families (Dyke, Gulas, & Growe, 2003; Hosner, Braun, & Kimball, 2016; Stein, Brown, & Mooers, 2015).

Although the birds reproduce by internal fertilization, only 3% of them possess a copulatory organ, known as phallus

(Montgomerie & Briskie, 2007). The phallus reduction is a convergent character in the evolution of birds (Brennan, Birkhead, Zyskowski, Van der Waag, & Prum, 2008), and it is expected that this is not a result of the same selective force which led to the disappearance of the phallus in all groups of birds (Brennan, 2013).

The phallus of birds shows polymorphism (Brennan et al., 2008; Herrera, Brennan, & Cohn, 2014; Oliveira, Silva, Santos, & Mahecha, 2004). Some species, as roosters and turkeys, possesses a small and non-intromittent phallic organ (King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007), while in other groups such as ratites (Brennan & Prum, 2011; Santos et al., 2011), many Tinamiformes (Oliveira & Mahecha, 2000; Oliveira et al., 2004), Anseriformes (Brennan et al., 2007; Coker, McKinney, Hays, Briggs, & Cheng, 2002) and cracids (Gadow & Selenka, 1891; Gerhardt, 1933), the copulatory organ is intromittent.

The phallus of cracids was initially described as a spiral copulatory organ divided into two rigid halves, a middle groove on the floor of proctodeum, a muscle inserted at the base of the phallus and an opening at the distal end of the phallus (Gadow & Selenka, 1891) or as a copulatory organ asymmetrically developed and eversible (Gerhardt, 1933).

The advances in the anatomical and histological studies have contributed to detail the functional and evolutionary aspects of the copulatory organ in many Palaeognathae, Galliformes and Anseriformes (Brennan, Clark, & Prum, 2010; Brennan & Prum, 2011; Brennan et al., 2008; Oliveira & Mahecha, 2000), but the morphological evolution of the copulatory organ of many groups of birds remains unknown. The genital morphology of birds has been useful to provide morphological characters to understand how these structures evolved in birds (Brennan et al., 2008; Gredler et al., 2014; Montgomerie & Briskie, 2007). As Cracidae is the only family with intromittent phallus in Galliformes (King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007), the anatomical and histological studies of the phallus of cracids are crucial to understand the phallus of these species and the evolution of the phallus in Galloanserae.

In fact, the histology, the detailed anatomy and the evolution of the phallus in cracids remain poorly studied. Thus, the cloaca of the *O. canicollis* was studied to describe the anatomy and histology of the copulatory organ and compare it with the copulatory organ of the other birds to discuss some evolutionary aspects of the phallus.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Animals and authorization

We have collected seven male specimens of *Ortalis canicollis* in the South Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil,

under the authorization of the System of Authorization and Information on Biodiversity, SISBIO, number 38761-1.

2.2 | Anatomical studies

The reproductive stages of six adult males were confirmed by morphological analyses and spermatogenic activity of the tests. In addition, we described the phallus of one juvenile specimen.

As to macroscopic studies, we placed the specimens in dorsal decubitus and we made an incision around the cloaca. Then, we sectioned the rectum transversely and the peritoneal wraps to remove the cloaca. We made a longitudinal incision from the rectum to the cloacal opening to expose the cloacal and phallic structures. Then, we dissected and described and the Diego M. Previatto photographed the cloaca and the copulatory organ with a Canon Eos t3[®] digital camera and a Leica M205A stereomicroscope equipped with the Leica DFC450 digital camera.

2.3 | Histological studies

We performed the fixation of the cloacal fragments with Bouin's fluid or 10% neutral buffered formalin (NBF). After the fixation, we embedded the tissues in paraffin (Histosec Pastilles, Merck, Darmstadt, Germany) or glycol-methacrylate embedding (Technovit 7100, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany). Tissues embedded in paraffin were sectioned in semiserial 3–8 μm , using Microm HM 310[®] microtome. Then, we stained the tissue with haematoxylin and eosin (H&E), Mason's trichrome and toluidine blue. We analysed the cross-sectional histological slides of the tissue at the base, in the middle and on the tip of the body of the copulatory organ and the longitudinal histological slides of the cloaca and phallus.

2.4 | Evolutionary studies

We choose some characters described and widely discussed by the current literature: the pattern of the phallus (intromittent phallus, non-intromittent phallus or non-existent phallus), the blind tubular cavity, the phallus support and the symmetry of the phallus (Brennan & Prum, 2011; Brennan et al., 2008; Gerhardt, 1933; King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007; Oliveira & Mahecha, 2000; Owen, 1841; Santos et al., 2011). These characters were mapped in a consensus phylogeny tree from the literature (Montgomerie & Briskie, 2007; Wang, Kimball, Braun, Liang, & Zhang, 2013), and we performed a reconstruction of the ancestral state adopting the maximum parsimony method by using the software Mesquite 3.2 (Maddison & Maddison, 2016). There are no descriptions of the phallus in the Anhimidae and Anseranatidae, and thus, we did not analyse these families in this software.

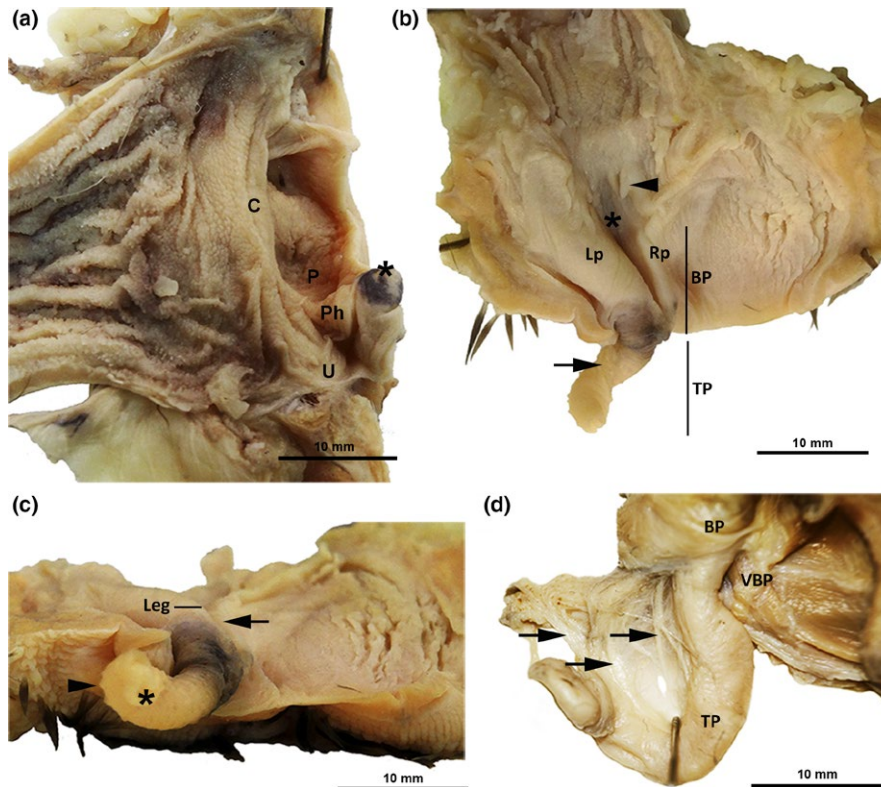


FIGURE 1 Dissected cloaca and phallus of *Ortalis canicollis*. (a) Dorsal view of the cloaca, showing a non-erect phallus. C, coprodeum; P, proctodeum; Ph, phallus; U, urodeum; *: opening of the base of the phallus. (b) Dorsal view of the cloaca, showing the erect phallus. Arrow: phallic groove, arrowhead: papilla of ductus deferens, *: ejaculatory fossa, BP, base of the phallus; Lp, left portion of the base of the phallus; Rp, right portion of the base of the phallus; TP, tubular portion of the phallus. (c) Frontal view of the erect phallus. Arrow: ejaculatory groove, arrowhead: knobs, *: opening of the tubular portion of the phallus, Leg, lips of the ejaculatory groove. (d) Dissected tubular portion of the phallus. Arrow: elastic ligament. BP, base of the phallus; TP, tubular portion of the phallus; VBP, region of the vascular body of the phallus

2.5 | Nomenclature

This study followed, whenever possible, *Nomina Anatomica Avium* (King, 1993) for the nomenclature of structures here described. For new nomenclatures, we have followed Oliveira and Mahecha (2000) and Brennan et al. (2008).

3 | RESULTS

3.1 | Anatomy and histology of the phallus

The phallus of *Ortalis canicollis* (Figures 1–5) has approximately 25 mm on erection and protrudes from the ventral floor of the proctodeum. The phallus is intromittent, eversible, with a blind tubular cavity. It has two different regions, a cranial fixed base of the phallus and a caudal tubular portion.

The ejaculatory fossa, on the floor of the urodeum, the ejaculatory groove, in the dorsal medium wall of the phallus, and the cranial and caudal retractor muscles of the phallus are associated with the copulatory organ.

The base of the phallus (*basis phalli*; Figures 1b,d and 3c,d) is the cranial portion of the copulatory organ and it is

localized on the ventral floor of the proctodeum. It has a conical shape and protrudes caudally, occupying a large area of the proctodeum. The cranial half of the base of the phallus is fixed on the ventral floor of the proctodeum, and is larger than its caudal half, which is free.

The surface of the base of the phallus is lined by a pseudostratified columnar epithelium (Figure 3d). The subepithelial portion is formed by loose connective tissue with sparse collagen fibres and abundant fibroblasts. The deeper portion has dense connective tissue, with abundance of collagen fibres and sparse fibroblasts. Sparse blood vessels are present in this region.

More deeply, a region formed by loose connective tissue is present with bundles of collagen fibres arranged in several directions. Fibroblast cells and blood vessels are abundant in this region.

Two layers of musculature form the deepest region. The superficial layer is thick with muscular bundles arranged transversely, with fibres of skeletal striated muscle tissue and elongated cells with peripheral nuclei. The deeper layer is thin and formed by skeletal striated muscle fibres, arranged parallel in the longitudinal direction.

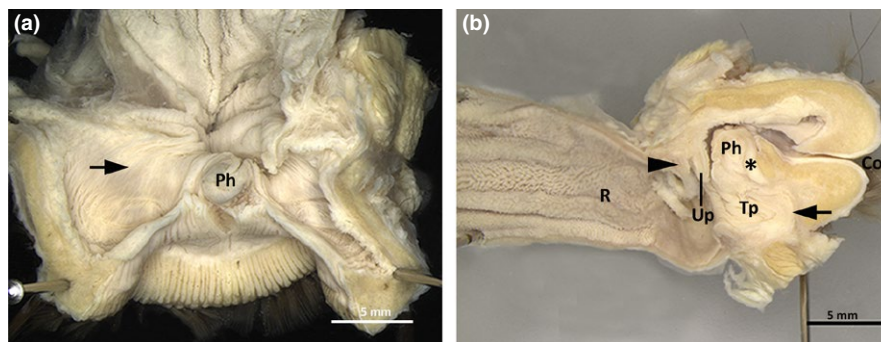


FIGURE 2 Dissected cloaca of *Ortalis canicollis*. (a) Dorsal view of the cloaca, showing a non-erect phallus. Arrow: phallic pouch, Ph, phallus. (b) Longitudinal view of the cloaca, showing the non-erect phallus. Arrow: phallic pouch, arrowhead: coprourodeal fold, Up, uroproctodeal fold; *: fibrocartilaginous body; Co, cloacal opening; Ph, phallus; TP, tubular portion of the phallus inside the phallic pouch; R, rectum

The fibrocartilaginous body (*corpus fibrocartilagineum*; Figures 2b, 4a and 5a,d) lies on the transition region between the base and the tubular portion of the phallus. At the base of the phallus, the fibrocartilaginous body is elongated and it has a lamina shape, arranged around the ejaculatory groove and the cranial portion of the tubular portion of the phallus. In the fibrocartilaginous body, collagen fibres and chondrocyte are abundant, but blood vessels are scarce. Sets of cells of adipose tissue are sparse in the fibrocartilaginous body. The fibrocartilaginous body serves as an insertion site for the elastic ligament and sustains the cranial part of the tubular portion of the phallus.

The cranial retractor muscle of the phallus (Figure 4a; *musculus retractor phalli cranialis*) and the caudal retractor muscle (*musculus retractor phalli caudalis*; Figure 4a) are associated with the fibrocartilaginous body. The cranial retractor muscle of the phallus is located between the vas deferens and the cloacal sphincter muscle. Its fibres are skeletal striated, arranged transversely and separated by septum of loose connective tissue. This muscle is associated with the connective tissue, which are in contact with the basal portion of the fibrocartilaginous body.

The caudal retractor muscle of the phallus lies between the phallus and the cloacal sphincter muscle. It is formed by skeletal striated muscle fibres, arranged transversely and separated by septa of loose connective tissue. These fibres insert on the ventrolateral portion of the fibrocartilaginous body.

The ejaculatory groove (*sulcus ejaculatorius*; Figure 1c) is present on the dorsal surface at the base of the phallus, running from its base to its distal tip. The ejaculatory groove extends from the base of the phallus until the tubular portion of the phallus. It has a slightly folded mucosa and the epithelium is pseudostratified columnar. The subepithelial layer consists of a thick layer of loose connective tissue, with collagen fibres, fibroblasts and blood vessels.

The edges of the ejaculatory groove form their lips (*labium sulci phalli*; Figure 1c), which are high and continuous along the edges of the ejaculatory fossa. The ejaculatory

groove dorsally divides the base of the phallus into two asymmetrical halves, the left and the right portions of the base of the phallus (Figure 1b). The left portion is larger and thicker than the right, and it protrudes along with the right portion towards the caudal direction.

The cranial portion of the ejaculatory groove and the ejaculatory fossa are continuous and attached to each other. This fossa (*fossa ejaculatoria*; Figures 1b and 3a) is localized on the ventral floor of the urodeum, and the receptacles of the ductus deferens open into the wall of the ejaculatory fossa through a paired papillae (*papilla ductus deferentis*; Figure 1b) stemming from the deferent ducts. The surface of the ejaculatory fossa is folded and it is lined by a pseudostratified columnar epithelium.

The caudal end of the base of the phallus possesses an opening (*ostium sacci cutaneiphalli*; Figure 1a). This structure is narrow and communicates internally with the tubular portion of the phallus.

The tubular portion of the phallus (*corpus phalli*; Figures 1b,d and 2b) is the caudal communication of the base of the phallus. It is a blind tube divided into two portions, one of which is eversible and the other is fixed. The fixed tubular portion and the eversible tubular portion are continuous and attached to each other. When the phallus is at rest, these two portions are found coiled and remain contained within a thin connective involucre, the phallic pouch.

The phallic pouch (*involucrum phalli*; Figure 2a,b) is located on the dorsal surface of the proctodeum, dorsally disposed regarding to the cloacal sphincter muscle. The phallic pouch consists of thin bands of loose connective tissue, with collagen fibres parallelly arranged.

The eversible tubular portion (*saccus cutaneus phalli*; Figures 4a and 5a) is internally lined by a pseudostratified columnar epithelium. In some regions of the eversible tubular portion, the surface is lined by a non-keratinized stratified squamous epithelium. The lamina propria consists of a thick layer of loose connective tissue, with collagen fibres and abundant fibroblasts.

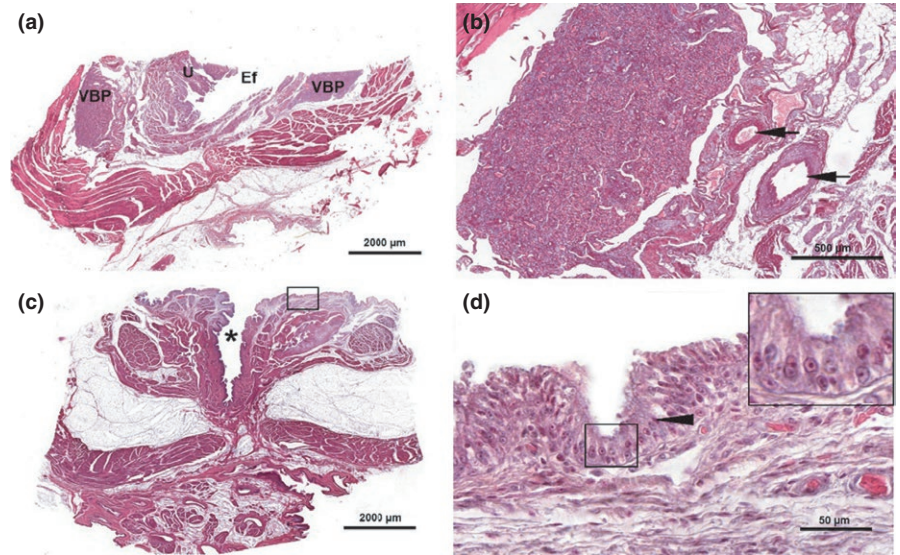


FIGURE 3 Histological cross-section of the cloaca and phallus of the *Ortalis canicollis*. (a) Cloaca. Ef, ejaculatory fossa; U, urodeum; VBP, vascular body of the phallus. (b) Vascular body of the phallus, arrow: blood vessels. (c) Base of the phallus showing the transition between the fossa and ejaculatory groove (*). (d) Base of the phallus showing the mucosa covered by pseudostratified columnar epithelium (arrowhead). (a–d) Masson's trichrome staining

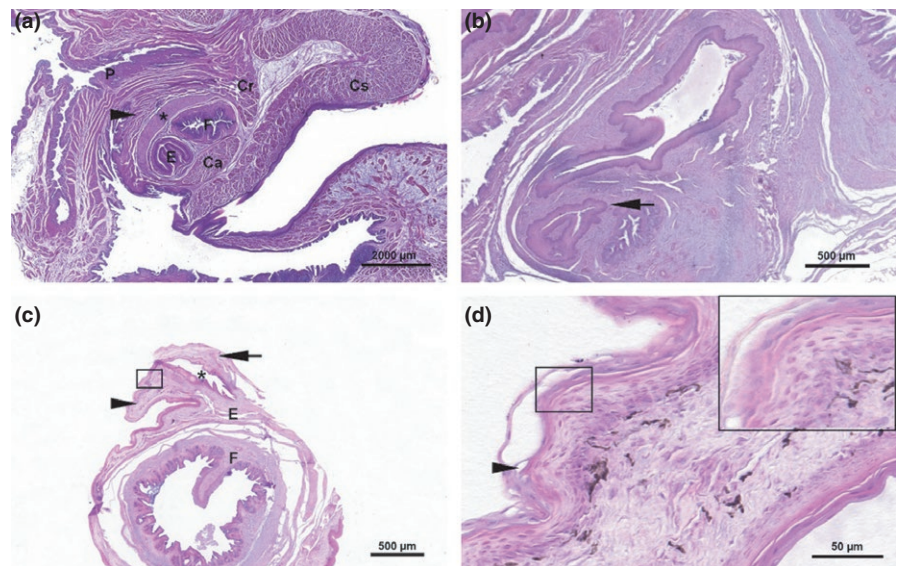


FIGURE 4 Histological longitudinal and cross-section of the cloaca and phallus of the *Ortalis canicollis*. (a) Cloaca. Co, cloacal opening; CS, cloacal sphincter muscle; P, proctodeum; Ph, phallus. (b) Tubular portion of the phallus showing the transition between the fixed and the eversible portion (arrow). (c) Caudal end of tubular portion. *: phallic groove, arrow: right half of eversible portion, arrowhead: left half of eversible portion, E, eversible portion of the tubular portion; F, fixed portion of the tubular portion. (d) Tubular portion showing the mucosa covered by keratinized stratified squamous epithelium (arrowhead). (a–d) Haematoxylin and eosin staining

The fixed tubular portion (*saccus glandularis phalli*; Figures 4a,c and 5a) and the eversible tubular portion are continuous and attached to each other. The fixed tubular portion is internally lined by pseudostratified squamous epithelial tissue and its subepithelial tissue is formed by a thick layer of loose connective tissue with sparse blood vessels. Collagen fibres and fibroblasts are present in this region.

Simple tubuloacinar branched glands are abundant in the fixed tubular portion, which gives a secretory aspect to this region. The epithelium of these glands is simple prismatic, showing strong haematoxylin staining at the base. The peripheral portion of this connective tissue has thin bands of irregular dense connective tissue, in which collagen fibres are predominant. Lymphatic spaces are present around this connective tissue layer, being lined by endothelium and crossed by trabeculae of dense connective tissue.

The elastic ligament (*ligamentum elasticum phalli*; Figure 1d) is fan-shaped and it is formed by condensations of the connective tissue, mainly elastic fibres. The elastic ligament arises from the ventral portion of the fibrocartilaginous body and inserts on the whole length of the tubular portion of the phallus, where the ligament attaches to the surrounding connective tissue.

The erect phallus (Figure 1b,c) possesses two distinct regions, the base of the phallus, which is fixed on the floor of the proctodeum, and the tubular portion of the phallus, which is free and is caudally evertible.

During the erection of the phallus, the tubular portion emerges from the caudal end of its base, through the opening of the base of the phallus. It protrudes caudally arranged as a spiral structure, consisting of an eversible portion, externalized during the erection, and of a fixed portion, which remains inside of the eversible portion. The phallic groove (*sulcus phalli*; Figure 5a) is present along the tubular portion.

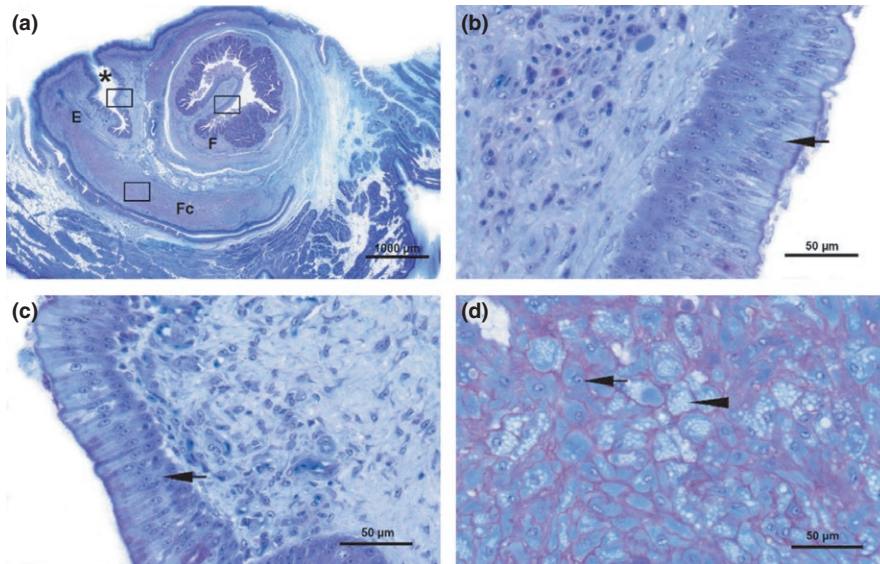


FIGURE 5 Histological cross-section of the phallus of the *Ortalis canicollis*. (a) Tubular portion of the phallus. *: Phallic groove. E, eversible portion; F, fixed portion; Fc, fibrocartilaginous body. (b) Detail of fixed portion showing the mucosa covered by pseudostratified columnar epithelium (arrow). (c) Detail of phallic groove showing the mucosa covered by pseudostratified columnar epithelium (arrow). (d) Detail of fibrocartilaginous body. Arrow: chondrocytes, arrowhead: adipose cell. (a–d) toluidine blue

The caudal portion of the ejaculatory groove and the cranial portion of the phallic groove are continuous and attached to each other. The phallic groove is narrow, deep and divides the tubular portion into two asymmetrical halves. The mucosa of the phallic groove (Figure 5c) is covered by pseudostratified columnar epithelium.

The surface of the tubular portion of the erect phallus (Figure 1c) is lined by a keratinized stratified squamous epithelium. In the subepithelial layer, the lamina propria is formed by loose connective tissue, with predominance of fibroblasts and abundant collagen fibres.

The projections of the tubular portion wall have the format of knobs (Figure 1c) and they are present in the surface of this region. They are arranged in two lines, which are closer to its cranial portion than to its caudal portion. These knobs are small and their epithelium is keratinized stratified squamous.

Histologically, the eversible portion of the erect phallus communicates internally with a lymphatic region, which is lined by endothelium. This region communicates internally with the fixed tubular portion through a dense connective tissue band, rich in collagen fibres, followed by a layer of loose connective tissue with abundant collagen fibres and lymphatic vessels.

The fixed tubular portion has the inner surface largely folded and it is lined by pseudostratified columnar epithelium (Figure 5b). The subepithelial tissue of the fixed portion consists of a thick layer of dense connective tissue.

The vascular bodies of the phallus (*corpus vasculare phalli*; Figure 3a,b) extend from the floor of the urodeum to the base of the phallus. They are formed by dense connective tissue, with many blood vessels and lymphatic spaces lined by endothelium.

Histologically, the vascular bodies of the phallus have two different portions. Both portions are formed by loose connective tissue, but in the portion, which is the closest one to

the ejaculatory fossa, abundant and narrow lymphatic spaces with blood vessels are present, while in the farthest portion of the ejaculatory fossa, the lymphatic spaces and the blood vessels are sparse.

3.2 | Ancestral state reconstruction

According to the cladogram obtained herein, the intromittent phallus was present in the ancestor of Archosauria, and it disappeared three times in the evolution of birds: in the genus *Crypturellus*, in the Neoaves and in the Megapodiidae. In the clade (Numididae (Phasianidae Odontophoridae)), *Crypturellus*, *Alecturae*, *Anseranatidae* and *Anhimidae*, it is present but non-intromittent, so it evolved independently (five steps; Figure 6a).

The blind tubular cavity was absent in the ancestor of Archosauria, and it has independently evolved many times during the evolution of birds. In this way, there are two hypotheses to explain the evolution of the blind tubular cavity. The first explains that the blind tubular cavity arises in the ancestor of Palaeognathae, in the Cracidae and in the Anseriformes, but disappeared in *Struthionidae* and *Crypturellus* (five steps). The second hypothesis is that the blind tubular cavity arises in the family Rheidae, in the genus *Nothura*, in the ancestor of clade (Apterygidae (Dromaiidae Casuariidae)), in the family Cracidae and in the order Anseriformes (five steps; Figure 6b).

The most parsimonious hypothesis (six steps; Figure 6c), regards to the fibrous body, was the phallus support in the ancestor of Archosauria. In Palaeognathae, the fibrous body disappeared in the *Crypturellus* (Tinamiformes) and the fibrocartilaginous body evolved in the family Rheidae. In the ancestor of Neognathae, the support of the phallus disappeared. The fibrocartilaginous body has independently evolved in the families Cracidae and Anatidae.

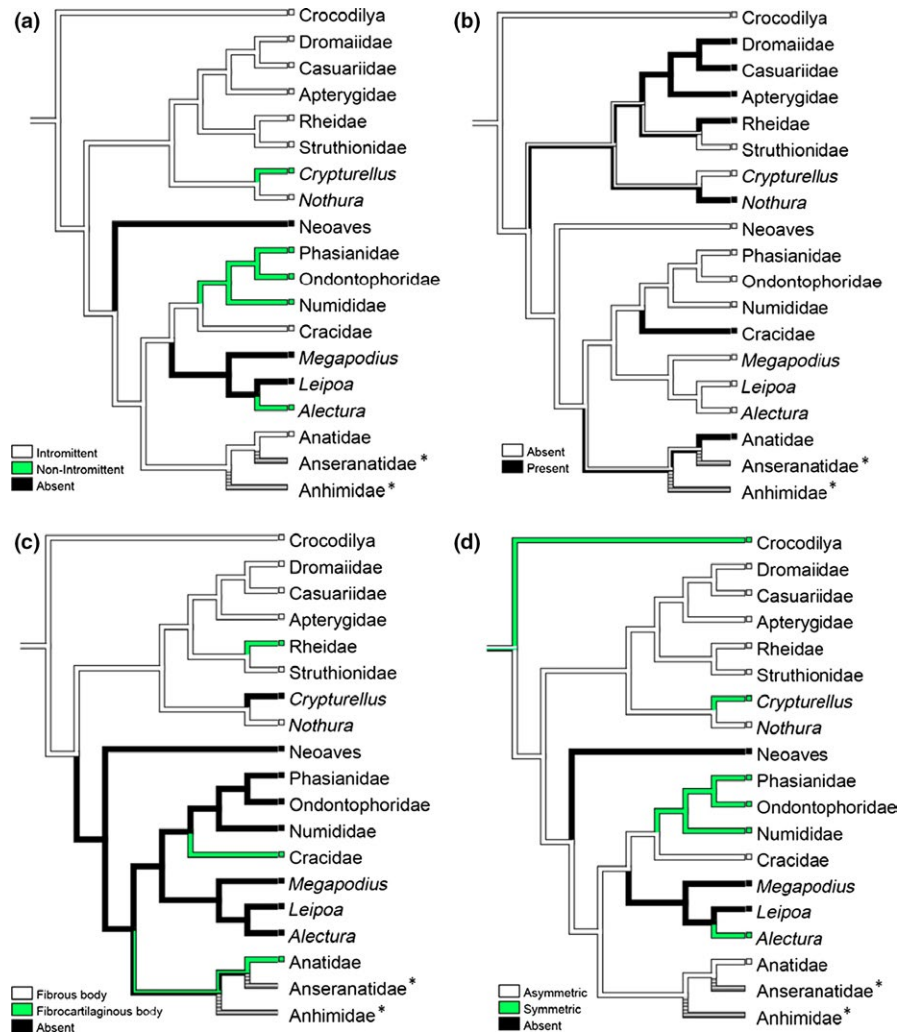


FIGURE 6 Ancestral state reconstruction of birds showing: (a) The copulatory organ evolution. (b) The blind tubular cavity evolution. (c) The phallus support evolution. (d) The evolution of the symmetry of the phallus. Phylogeny modified from Montgomerie and Briskie (2007). Galloanserae phylogeny modified from Wang et al. (2013). *There are no descriptions of the phallus of the Anhimidae and Anseranatidae, but according to Montgomerie and Briskie (2007), it is similar to the phallus of the Anatidae. Podicipedidae has a non-intromittent phallus, but we do not represent them in this cladogram

The symmetric phallus shows four minimum steps (Figure 6d). It is present in Crocodilya and evolved independently in *Crypturellus*, the (Numididae (Phasianidae Odontophoridae)) clade and *Alecturae*. The asymmetric phallus evolved in the early evolution of birds and it was retained in the others birds except the taxa mentioned above. In *Megapodius*, *Leipoa* and Neoaves, the phallus is absent, so this absence presents three minimum steps.

4 | DISCUSSION

We have observed an intromittent phallus in *Ortalis canicollis*, which is present in other cracids (Gadow & Selenka, 1891; Gerhardt, 1933). The intromittent phallus is the ancestral condition of the phallus in birds and it is present at almost all Palaeognathae and at many Galloanserae; however, some families of Galliformes, such as Numididae, Odontophoridae and Phasianidae, have developed a non-intromittent phallus (Montgomerie & Briskie, 2007). In Megapodiidae, there are species with non-intromittent phallus (*Alectura*) and species without any phallic structure (*Megapodius*; Brennan

et al., 2008). In Anseriformes and Palaeognathae, the intromittent phallus is generally observed; however, the non-intromittent phallus is present and described in *Crypturellus*, Tinamiformes (Brennan et al., 2008). In Neoaves, only the family Podicipedidae has a non-intromittent phallus (Oliveira et al., 2004). The data from literature and the reconstruction of the ancestral state suggest the phallus disappeared for at least two times and the non-intromittent phallus evolved independently for at least three times in the evolution of birds.

The intromittent phallus is classified into two categories: the first one has a blind tubular cavity, whereas the second one does not have this cavity (Montgomerie & Briskie, 2007). The blind tubular cavity has been described in this study as being the tubular portion of the phallus. In *Ortalis canicollis*, the blind tubular cavity is spiral-shaped, similar to those described in Anseriformes (Guzsal, 1974; King, 1981), Tinamiformes (Oliveira & Mahecha, 2000) and Rheidae (Santos et al., 2011).

The reconstruction of the ancestral state has suggested that there are two equally parsimonious hypotheses for the evolution of the blind tubular cavity in birds, both with five minimum steps. The first one explains that the blind tubular

cavity was absent in the common ancestor of birds, and it has independently evolved in Cracidae, Anatidae and Rheidae, in the ancestor of the clade (Apterygidae (Casuariidae Dromaiidae)) and in some Tinamiformes, such as in *Nothura*. The second one suggests that the blind tubular cavity evolved in Palaeognathae and has independently disappeared in Struthionidae and Crypturellus. In Galloanserae, this character has evolved independently in Cracidae and in the ancestor of Anseriformes. In the remaining groups of birds, the blind tubular cavity has disappeared together with the phallus reduction (King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007).

The intromittent phallus with blind tubular cavity of *Ortalis canicollis* is different from the non-intromittent phallus of many Palaeognathae and other Galliformes non-cracids. The general aspect of copulatory organ morphology is similar to those observed in Anatidae, Tinamidae and Rheidae, but the anatomy and histology of many characters, such as the elastic ligament, the location of the lymphatic spaces, the phallus support and the projections of the tubular portion wall, shared more similarities with Anatidae than with any other birds.

The fibrocartilaginous body is present only at the base of the phallus of *O. canicollis* and it supports the cranial portion of the tubular portion of the phallus, similar to that described in *Anas platyrhynchos* (Guzsal, 1974). In *Nothura maculosa* (Oliveira & Mahecha, 2000), the fibrous body is present at the base and in the tubular portion of the phallus, and it serves as a support for these regions. Histologically, the fibrocartilaginous body of Cracidae is similar to those of Anatidae (Guzsal, 1974) and Rheidae (Müller 1836; Santos et al., 2011) because of the presence of chondrocyte. However, this pattern is different from those described in Tinamidae (Oliveira & Mahecha, 2000) and Struthionidae (Brennan & Prum, 2011), which do not possess cartilaginous tissue. The presence of chondrocyte cells in the fibrous body is probably an adaptive convergence, and they have evolved for at least three times in the evolution of birds.

In birds that possess the elastic ligament of the phallus, it is formed by a condensation of connective tissue, arising from the ventral portion of fibrous or fibrocartilaginous body and inserting on the tubular portion (King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007; Oliveira & Mahecha, 2000). This study showed that the elastic ligament of *O. canicollis* is branched and inserted along the whole length of the tubular portion of the phallus. The same pattern of elastic ligament has been described in Rheidae and Anatidae (Montgomerie & Briskie, 2007). However, in Tinamidae (Oliveira & Mahecha, 2000), the elastic ligament has been condensed into a uniform structure attached to only a part of the tubular portion of the phallus.

We have observed lymphatic spaces through the eversible portion, but in the fixed tubular portion, we have not observed any lymphatic spaces. These results and the data from

literature (Guzsal, 1974; Oliveira & Mahecha, 2000) suggest that while the eversible portion becomes erect during erection, the fixed portion remains stable. The arrangement of the lymphatic spaces of Cracidae is similar to those described in Anatidae (Guzsal, 1974), but it is different from that described in Tinamidae (Oliveira & Mahecha, 2000), in which dilated lymphatic spaces on both eversible and fixed tubular portion have been observed.

The ejaculatory groove of the phallus of *O. canicollis* divides the phallus into two asymmetrical parts. The left part is larger than the right part and the former overlaps the latter. This pattern is usually observed in birds with intromittent phallus and blind tubular cavity (King, 1981; Oliveira & Mahecha, 2000). Even in birds, in which the phallus does not have a blind tubular cavity, the phallus is asymmetric (Montgomerie & Briskie, 2007). In Testudines and Crocodylia, the phallus is intromittent, symmetric and has sigmoidal curvature (Kelly, 2013). Only in groups of birds, in which the phallus has reduced and become non-intromittent, the phallus is symmetric without curvature (Brennan et al., 2008; King, 1981).

The projections of the tubular portion wall found in *O. canicollis* are present in all species that have blind tubular cavity (Coker et al., 2002; Oliveira & Mahecha, 2000; Santos et al., 2011), but the format of these projections varies in some groups. Whereas in Tinamidae and Rheidae these projections have the format of ridges (Oliveira & Mahecha, 2000; Santos et al., 2011), in Cracidae, our results have showed that these projections have the format of little knobs. The family Anatidae has species that possess phallus with knobs and ridges with different sizes, and the format and height of these projections may have been involved with sperm competition (Coker et al., 2002). The little knobs present in *O. canicollis* may have been related to low pressure of sperm competition in this specie. However, more genital studies with male and female specimens are necessary to corroborate this hypothesis.

The asymmetry and curvature of the phallus going towards the male's left have evolved in birds to facilitate the deposit of sperm into the female's left oviduct, which is the functional oviduct in female birds (King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007). Although Crocodylia have symmetric phallus (Gerhardt, 1933), the asymmetry and curvature of it is probably a character present in the ancestor of birds, according to the most parsimonious hypothesis, because it is found in many Palaeognathae and Galloanserae birds (King, 1981; Montgomerie & Briskie, 2007).

The reconstruction of the ancestral state of some characters studied in this work have shown that the intromittent phallus of Cracidae is homologous to those found in other birds with intromittent phallus and it probably derives from the copulatory organ of the ancestor of Archosauria (Gerhardt, 1933; Gredler et al., 2014). The asymmetric

phallus is homologous to those found in the ancestor of the Aves. However, the blind tubular cavity and the fibrocartilaginous body are homoplastic.

Finally, the anatomical and histological study of the phallus has shown to be an important tool for the understanding of the genital evolution. Nevertheless, more studies are necessary to perform a broader and deeper comparative analysis of genital characters in birds. We hope to have shed some light on some morphological and evolutionary aspects of the copulatory system of birds through the present work.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Germán Arturo Bohórquez Mahecha and Gabriel Campolina by the standard histological techniques and revision of this study. We also thank to Daniel de Melo Casali and Gilberto Marquers Arsiolli by the English revision.

REFERENCES

- Brennan, P. L. R. (2013). Genital evolution: Cock-a-doodle-don't. *Current Biology*, 23, R523–R525.
- Brennan, P. L. R., Birkhead, T. R., Zyskowski, K., Van der Waag, J., & Prum, R. O. (2008). Independent evolutionary reductions of the phallus in basal birds. *Journal of Avian Biology*, 39, 487–492.
- Brennan, P. L. R., Clark, C. J., & Prum, R. O. (2010). Explosive eversion and functional morphology of the duck penis supports sexual conflict in waterfowl genitalia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277, 1309–1314.
- Brennan, P. L. R., & Prum, R. O. (2011). The erection mechanism of the ratite penis. *Journal of Zoology*, 286, 140–144.
- Brennan, P. L. R., Prum, R. O., Mcracken, K. G., Sorenson, M. D., Wilson, R. E., & Birkhead, T. R. (2007). Coevolution of male and female genital morphology in waterfowl. *PLoS One*, 2, e418.
- Chubb, A. L. (2004). New nuclear evidence for the oldest divergence among neognath birds: The phylogenetic utility of ZENK. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30, 140–151.
- Coker, C. R., McKinney, F., Hays, H., Briggs, S. V., & Cheng, K. M. (2002). Intromittent organ morphology and testis size in relation to mating system in waterfowl. *The Auk*, 119, 403–413.
- Delacour, J., & Amadon, D. (2004). *Curassows and related birds* (476 pp.). Barcelona and New York: Lynx Edicions and the National Museum of Natural History.
- Dyke, G. J., Gulas, B. E., & Grove, T. M. (2003). Suprageneric relationships of galliform birds (Aves, Galliformes): A cladistic analysis of morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 137, 227–244.
- Feduccia, A. (1999). *The origin and evolution of birds* (2nd ed., 466 pp.). New Haven, CT: Yale.
- Gadow, H., & Selenka, E. (1891). Cloake und Begattungsorgane. In H. Gadow & E. Selenka (Eds.), *Vögel: Anatomischer Theil* (pp. 845–863). Leipzig: Winter'sche Verlagshandlung.
- Gerhardt, U. (1933). Kloake und Begattungsorgane. In L. Bolk, E. Goppert, E. Kallius & W. Lubosch (Eds.), *Hanbuch der vergleichenden anatomie der wirbeltiere* (pp. 267–350). Berlin: Urban and Schwarsenberg.
- Gredler, M. L., Larkins, C. E., Leal, F., Lewis, A. K., Herrera, A. M., Perriton, C. L., ... Cohn, M. J. (2014). Evolution of external genitalia: Insights from reptilian development. *Sexual Development*, 8, 311–326.
- Guzsal, E. (1974). Erection apparatus of the copulatory organ of ganders and drakes. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 24, 361–373.
- Herrera, A. M., Brennan, L. R., & Cohn, M. J. (2014). Development of avian external genitalia: Interspecific differences and sexual differentiation of the male and female phallus. *Sexual Development*, 9, 43–52.
- Hosner, P. A., Braun, E. L., & Kimball, R. T. (2016). Rapid and recent diversification of curassows, guans, and chachalacas (Galliformes: Cracidae) out of Mesoamerica: Phylogeny inferred from mitochondrial, intron, and ultraconserved element sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 102, 320–330.
- Jin, J., & Smillie, L. B. (1994). An unusual metal-binding cluster found exclusively in the avian breast muscle troponin T of Galliformes and Craciformes. *FEBS Letters*, 341, 135–140.
- Kelly, D. A. (2013). Penile anatomy and hypotheses of erectile function in the american Alligator (*Alligator mississippiensis*): Muscular eversion and elastic retraction. *The Anatomical Record*, 296, 488–494.
- King, A. S. (1981). Phallus. In A. S. King & J. McLelland (Eds.), *Form and function in birds* (pp. 107–147). London: Academic Press.
- King, A. S. (1993). Apparatus urogenitalis. In J. J. Baunlel, A. S. King, J. E. Breazile, H. E. Evans & J. C. Vanden Berge (Eds.), *Handbook of avian anatomy: Nomina anatomica avium* (pp. 329–397). Cambridge: Publications of Nuttall Ornithological Club.
- Ksepka, D. T. (2009). Cladistics Broken gears in the avian molecular clock: New phylogenetic analyses support stem galliform status for Gallinuloides wyomingensis and rallid affinities for Amitabha urb-sinterdictensis. *Cladistics*, 25, 173–197.
- Livezey, B. C., & Zusi, R. L. (2007). Higher-order phylogeny of modern birds (Theropoda, Aves: Neornithes) based on comparative anatomy. II. Analysis and discussion. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 149, 1–95.
- Maddison, W. P., & Maddison, D. R. (2016). *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis: 3.11*. Retrieved from <http://mesquite-project.org>
- Mayr, G., & Clarke, J. (2003). The deep divergences of neornithine birds: A phylogenetic analysis of morphological characters. *Cladistics*, 19, 527–553.
- Montgomerie, R., & Briskie, J. (2007). Anatomy and evolution of copulatory structures. In B. G. M. Jamieson (Ed.), *Reproductive biology and phylogeny of birds. part a: Phylogeny, morphology, hormones and fertilization* (pp. 115–148). Enfield: Science Publishers.
- Oliveira, C. A., & Mahecha, G. A. B. (2000). Morphology of the copulatory apparatus of the spotted tinamou *Nothura maculosa* (Aves: Tinamiformes). *Annals of Anatomy*, 182, 161–169.
- Oliveira, C. A., Silva, R. M., Santos, M. M., & Mahecha, G. A. B. (2004). Location of the ureteral openings in the cloacas of tinamous, some ratite birds, and crocodilians: A primitive character. *Journal of Morphology*, 260, 234–246.
- Owen, P. (1841). On the anatomy of the southern apteryx (*Apteryx australis*, Shaw). *The Transactions of the Zoological Society of London*, 2, 257–301.

- Prager, E. M., & Wilson, A. C. (1976). Congruency of phylogenies derived from different proteins. *Journal of Molecular Evolution*, 9, 45–57.
- Prum, R. O., Berv, J. S., Dornburg, A., Field, D. J., Townsend, J. P., Lemmon, E. M., & Lemmon, A. R. (2015). A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature*, 526, 569–573.
- Santos, T. C., Sousa, J. A., Oliveira, M. F., Santos, J. M., Parizzi, R. C., & Miglino, M. A. (2011). Morfologia dos órgãos genitais masculinos e da cloaca da ema (*Rhea americana americana*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, 430–440.
- Stein, R. W., Brown, J. W., & Mooers, A. Ø. (2015). A molecular genetic time scale demonstrates Cretaceous origins and multiple diversification rate shifts within the order Galliformes (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 92, 155–164.
- van Tuinen, M., Sibley, C. G., & Hedges, S. B. (2000). The early history of modern birds inferred from DNA sequences of nuclear and mitochondrial ribosomal genes. *Molecular Biology and Evolution*, 17, 451–457.
- Wang, N., Kimball, R. T., Braun, E. L., Liang, B., & Zhang, Z. (2013). Assessing phylogenetic relationships among galliformes: A multi-gene phylogeny with expanded taxon sampling in Phasianidae. *PLoS One*, 8, e64312.

How to cite this article: Previatto DM, Gonçalves GL, Ortiz MC, Melo-Soares CD, Posso SR. Morphology of the copulatory organ in *Ortalis canicollis* (Aves: Cracidae) and early evolution of the phallus in birds. *Acta Zool.* 2017;00:1–10.
<https://doi.org/10.1111/azo.12191>

Capítulo III

Morfologia e evolução dos caracteres cloacais e fálícos em Cracidae (Aves: Galliformes).

MORFOLOGIA E EVOLUÇÃO DOS CARACTERES CLOACAIS E FÁLICOS EM CRACIDAE (AVES: GALLIFORMES).

Diego Matiussi Previatto¹, Daniel de Melo Casali¹ e Sérgio Roberto Posso²

¹Pós-graduação em Zoologia na Universidade Federal de Minas Gerais

²Laboratório de Ecologia, Sistemática e Conservação das Aves Neotropicais – LESCOAN -
UFMS

RESUMO

Apesar de ser uma das raras famílias de aves com órgão copulador intromitente, a morfologia e evolução do aparelho reprodutor de Cracidae são praticamente desconhecidas. Desse modo, descrevemos a anatomia e histologia da cloaca e do órgão copulador e construímos hipóteses da evolução dos caracteres desses órgãos dentro da família. Os compartimentos cloacais são revestidos por epitélio pseudoestratificado cilíndrico e separados pelas pregas coprourodeal e uroproctodeal. A partir do proctodeu se origina o falo, dividido em base e porção tubular revestidos por epitélio estratificado pavimentoso, exceto *Ortalis* que possui a base do falo revestida por epitélio pseudoestratificado cilíndrico. Os corpos vasculares paracloacais estão presentes no urodeu e produzem a linfa, que é responsável pela ereção. O corpo fibrocartilagenoso, o ligamento elástico e os músculos retratores caudais e craniais foram observados e estão associados ao falo, auxiliando na cópula. O falo intromitente é encontrado em todos os cracídeos, porém a análise com parcimônia o indica como plesiomorfia para a família. Há sinapomorfias mais inclusivas que fornecem suporte adicional a táxons previamente reconhecidos dentro de Cracidae, como a curvatura suave nos lábios do sulco ejaculatório, exclusiva para Cracinae. A prega uroproctodeal não-proeminente, a base do falo com formato cilíndrico ou a curvatura acentuada da base do falo, embora sejam aquisições

evolutivas paralelas, são importantes para a definição de diversos táxons. As pregas e vilosidades na mucosa do coprodeu são plesiomorfias para os cracídeos, já que são importantes para isolar as fezes da urina e da postura dos ovos. Por fim, este estudo permitiu uma maior compreensão da morfologia e dos processos evolutivos relacionados à história evolutiva sexual e também suporte filogenético adicional para grupos já estabelecidos dentro de Cracidae

Palavras-chave: Órgão copulador, cloaca, anatomia, histologia, cracídeos.

5. INTRODUÇÃO

A cloaca das aves é uma câmara comum que recebe os dutos do sistema urogenital e a extremidade caudal do intestino (King, 1981a). Ela é dividida em três sub-câmaras, coprodeu, urodeu e proctodeu, que se intercomunicam em sentido craniocaudal e são delimitados por pregas da mucosa (Gadow, 1887; Oliveira & Mahecha, 1996). Essas pregas não estão presentes em todas as aves, sendo que a prega retocoprodeal só foi evidenciada em algumas ratitas (King, 1981a).

O coprodeu geralmente apresenta vilosidades e é o compartimento responsável pela recepção das fezes a partir do reto (King, 1981a; Oliveira & Mahecha, 1996). O urodeu é o menor dos três compartimentos e se situa entre o coprodeu e o proctodeu. Ele é o local onde desembocam os ductos urogenitais (Wolfson, 1954; Oliveira & Mahecha, 1996). O proctodeu é a região mais caudal da cloaca e se delimita com a abertura cloacal (Montgomerie & Briskie, 2007).

A partir da porção ventral do proctodeu, se desenvolve um órgão copulador ou falo (Oliveira *et al.*, 2004). Todavia, poucos grupos de aves apresentam órgão de cópula, o qual é erétil e apresenta morfologia variada entre as espécies (Gerhardt, 1933; King, 1981b; Montgomerie & Briskie, 2007). Dessa forma, as aves são os únicos vertebrados

com fertilização interna onde o órgão copulador desapareceu na maioria das espécies (Briskie & Montgomerie, 1997).

O falo das Ratitas, Tinamiformes, Anseriformes e Cracidae é proeminente, intromitente (*phallus protrudens*) e se protrai a partir da parede ventral do proctodeu (Montgomerie & Briskie, 2007; Brennan & Prum, 2011; Previatto *et al.*, 2017). Já o falo dos demais Galliformes, *Crypturellus* e Podicipedidae é pequeno, não intromitente (*phallus nonprotrudens*) e não se protrai a partir da parede proctodeal (Oliveira *et al.*, 2004; Brennan *et al.*, 2007; Montgomerie & Briskie, 2007). Nesse órgão, o sêmen é liberado das papilas dos ductos deferentes diretamente na fossa ejaculatória, seguindo por um sulco mediano dorsal do falo até atingir o exterior (Oliveira & Mahecha, 2000).

Nos Galiformes a ereção ocorre por ingurgitamento linfático do tecido erétil do falo, diferente dos mamíferos, onde o mecanismo de ereção é sanguíneo (Knight, Lucas & Ringer, 1969; Kudo, Sugimura & Yamano, 1975). A estrutura responsável pela produção da linfa, que promove a ereção do falo, é o corpo vascular paracloucal que está presente na parede ventrolateral do urodeu, sendo considerado um importante órgão reprodutor acessório (Yamano, 1981; Knight, Bakst & Cecil, 1984).

Apesar de séculos de estudos sobre morfologia genital das aves (Gerhardt, 1933; King, 1981b; Montgomerie & Briskie, 2007), poucos grupos foram descritos detalhadamente e muito pouco é conhecido, sendo necessário futuros trabalhos para uma compreensão mais ampla desse tema. Dessa forma, estudos descritivos sobre a cloaca e o falo das aves são importantes para o conhecimento detalhado dessa região e para testar hipóteses evolutivas relacionadas à perda e o reaparecimento das estruturas copulatórias (Brennan *et al.*, 2008).

Essa escassez de trabalhos é evidente para as espécies da família Cracidae, a única família de Galliformes que mantém um falo intromitente. A anatomia e histologia detalhada do órgão copulador dos cracídeos, foi descrita apenas em *Ortalis* (Previatto *et al.*, 2017), porém os demais gêneros seguem desconhecidos. Existem apenas poucas informações anatômicas da cloaca e órgão copulador em *Crax* e *Pipile* (Gerhardt, 1933; Gadow & Selenka, 1981), mas a histologia não foi investigada nessas espécies.

Sendo assim, esse trabalho objetivou descrever detalhadamente a anatomia e histologia comparada da cloaca e do órgão copulador dos cracídeos e identificar caracteres úteis para analisar a evolução destes órgãos dentro da família.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. Animais e Autorização

O órgão copulador e a cloaca dos cracídeos foram estudados com base em 49 espécimes, pertencentes a 14 espécies agrupadas em 6 gêneros: *Ortalis canicollis* (Wagler, 1830) (7 ♂ e 2 ♀), *O. motmot* (Linnaeus, 1766) (1 ♂), *Penelope superciliaris* (Temminck, 1815) (5 ♂ e 2 ♀), *P. obscura* (Temminck, 1815) (2 ♂), *P. ochrogaster* (Pelzeln, 1870) (2 ♂), *Pipile jacutinga* (von Spix, 1825) (3 ♂ e 2 ♀), *P. cujubi* (Pelzeln, 1858) (2 ♂ e 3 ♀), *P. cumanensis* (Jacquin, 1784) (1 ♀), *Crax fasciolata* (von Spix, 1825) (5 ♂), *Crax blumenbachii* (von Spix, 1825) (3 ♂), *Pauxi pauxi* (Linnaeus, 1766) (3 ♂), *Mitu tomentosum* (von Spix, 1825) (2 ♀), *Mitu tuberosum* (von Spix, 1825) (1 ♀), *Mitu mitu* (Linnaeus, 1766) (3 ♂). Em *M. mitu*, tivemos acesso apenas ao material da cloaca e órgão copulador incluídos em parafina, dessa forma analisamos somente os dados histológicos. Os espécimes fêmeas foram investigados para verificar se existia alguma estrutura fállica na região do proctodeu, semelhante às que ocorrem em Struthionidae (King, 1981b) (**Anexo 1**).

A cloaca e o falo de seis espécimes, pertencentes à duas espécies foram analisados com o intuito de utilizá-los como grupo externo nas análises filogenéticas: *Pavo muticus* (Linnaeus, 1766) (Família: Phasianidae; Ordem: Galliformes) (3 ♂) e *Cairina moschata* (Linnaeus, 1758) (Família: Anatidae; Ordem: Galliformes) (3 ♂). Para *C. moschata*, os espécimes foram analisados baseados em fotos não publicadas da anatomia da cloaca e do falo e em lâminas histológicas fornecidas (dados não publicados - Fehlberg 2015) (**Anexo 1**).

Doze espécimes de *Ortalis canicollis* (8) e *Penelope superciliaris* (4), foram coletados no estado do Mato Grosso do Sul e em Minas Gerais, sob autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade, SISBIO, número 38761-1. O restante do material é fruto de doação do Criadouro de Aves Poços de Caldas, do Jardim Zoológico – Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte (FZB-BH) e do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (PZMQB) (**Anexo 1**).

6.2. Procedimentos anatômicos

Os exemplares foram colocados em decúbito dorsal e dissecados de acordo com o método adotado por Previatto *et al.* (2017). O órgão copulador foi posteriormente descrito e fotografado. As fotografias foram tiradas com o auxílio de câmera fotográfica digital Canon Eos t3® e estereomicroscópio Leica M205A equipado com câmera digital Leica DFC450. As regiões cloacais - coprodeu, urodeu e proctodeu - foram mensuradas utilizando paquímetro digital Mitutoyo 150 mm/6". A delimitação de cada região foi baseada nos limites das pregas coprourodeal e uroproctodeal, bem como na diferenciação da mucosa. As medidas relativas apresentadas representam uma média dos espécimes analisados, embora a variação dentro de cada espécie tenha sido mínima.

6.3. Procedimentos histológicos

Os fragmentos da cloaca e do órgão copulador foram fixados em líquido de Bouin ou em formalina neutra tamponada a 10% (NBF). Depois da fixação, os tecidos foram incluídos em parafina (Histosec Pastilles, Merck, Darmstadt, Germany) ou glicolmetacrilato (Technovit 7100, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany). Todos os fragmentos foram seccionados em cortes semi-seriados de 3 a 8 µm, utilizando micrótomo Microm HM 310®. Após a microtomia, os cortes foram destinados a coloração histológica com hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson.

As lâminas histológicas foram analisadas com o auxílio do microscópio de luz Nikon Eclipse E600, fotografadas com a câmera digital acoplada Axio Cam ERc5s Zeiss, e escaneadas com o scanner de lâminas Panoramic Digital Slide Scanner 3D HISTECH no Centro de Aquisição e Processamento de Imagens, CAPI-ICB /UFMG. O software Panoramic Viewer 1.15.4 3D HISTECH foi utilizado para visualização e fotografia das imagens escaneadas.

A cloaca dos cracídeos apresentou características histológicas bastante homogêneas entre as diferentes espécies estudadas. Desse modo, não foram encontradas variações dos tecidos cloacais nos cracídeos analisados e nos resultados consta apenas a descrição geral da histologia de cada estrutura. Em relação ao órgão copulador, histologicamente a base do falo e a porção tubular são semelhantes, porém esse estudo descreve cada uma isoladamente para facilitar a distinção e registrar corretamente as especificidades de cada estrutura.

6.4. Reconstrução de estados ancestrais

A reconstrução de estados ancestrais foi realizada no software Mesquite 3.2 (Maddison e Maddison 2017), através de análise utilizando o método de máxima

parcimônia, considerando os caracteres como não-ordenados. Foram escolhidos 15 caracteres e seus respectivos estados entre todas as variações anatômicas e histológicas observadas entre os espécimes machos de Cracidae, sendo também codificados para os grupos externos *Pavo muticus* (Galliformes) e *Cairina moschata* (Anseriformes), quando aplicáveis. Estes caracteres e suas variações foram otimizados na topologia dos cladogramas obtidos em Pereira *et al.* (2009) e em Hosner *et al.* (2016).

Para analisar a regressão do falo em *Pavo muticus*, também foi realizada a reconstrução do estado ancestral utilizando o software Mesquite 3.2 (Maddison & Maddison, 2017) nas mesmas configurações apresentadas no parágrafo anterior, porém a topologia utilizada seguiu o estudo de Wang *et al.*, (2013). A cloaca e o falo dos espécimes de Cracidae, Anatidae e *Pavo muticus* foram analisados com base nos espécimes utilizados nesse trabalho. As demais informações sobre o falo de Megapodiidae, Numididae, Odontophoridae, além das espécies *Meleagris gallopavo* (Linnaeus, 1758) e *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758), foram baseadas na literatura (King, 1981b; Montgomerie & Briskie, 2007; Brennan *et al.*, 2008).

6.5. Nomenclatura

Para a nomenclatura das estruturas da cloaca e falo, foi seguida, sempre que possível, a *Nomina Anatomica Avium* (King, 1993). Para algumas estruturas não contempladas na *Nomina Anatomica Avium*, foi seguida as propostas por Oliveira e Mahecha (2000) e Brennan *et al.* (2008). A nomenclatura taxonômica utilizada segue o consenso atual da comunidade ornitológica, conforme apresentado nas listas revisadas para as aves do mundo pelo IOC World Bird List (Gill & Donsker, 2017).

7. RESULTADOS

7.1. Anatomia da cloaca dos cracídeos

A cloaca dos cracídeos está situada entre os ossos ísquio e púbis e dorsalmente aos músculos abdominais. Cranialmente, ela forma a continuação do reto, apresentando um aumento de 1/4 em seu diâmetro em relação ao reto. A cloaca se abre no meio exterior através da abertura cloacal e está dividida em três compartimentos delimitados por pregas da mucosa, que em sentido craniocaudal apresentam-se dispostos como coprodeu, urodeu e proctodeu.

O coprodeu (*coprodeum*) (**Figs. 1, 2, 3 e 5**) é a porção mais cranial da cloaca, e o seu limite com o reto não está bem definido, uma vez que não foi encontrada a prega retocoprodeal. No entanto, é possível estimar a extensão da região do coprodeu baseado na diferenciação tecidual da mucosa que possui pregas mais proeminentes no reto do que no coprodeu. A mucosa que reveste o coprodeu apresenta variação entre as espécies. Enquanto em *Pauxi pauxi*, *Pipile cunjubi*, *Crax fasciolata* e *C. blumenbachii*, a superfície do coprodeu é coberta apenas por pequenas vilosidades digitiformes (**Fig. 2 e 3**), no restante das espécies existem tanto pregas quanto vilosidades (**Fig. 2 e 3**). Nas espécies de cracídeos, as vilosidades estão mais desenvolvidas na região do reto, sendo pouco proeminentes no restante da cloaca (**Fig. 2**).

O urodeu (*urodeum*) (**Figs. 1, 2, 3 e 5**) ocupa uma estreita faixa entre o coprodeu e o proctodeu. Nos cracídeos, ele corresponde à aproximadamente 1/4 do tamanho do coprodeu, exceto no gênero *Penelope*, onde o urodeu apresenta 1/6 do tamanho do coprodeu.

O urodeu está limitado cranialmente pela região do coprodeu, por meio de uma proeminente prega coprourodeal (*plica coprourodealis*) (**Figs. 1, 2, 3 e 5**). Apenas em

Ortalis essa prega é pouco proeminente. A mucosa do urodeu apresenta-se mais lisa que a do coprodeu. Em *Penelope* o epitélio do urodeu se apresenta levemente pregueado. Já em *Pipile* (**Fig. 3B**) as vilosidades presentes na região do reto e do coprodeu se estendem até a região do urodeu, além disso, em *Pipile* a coloração da região do coprodeu e do urodeu se apresentaram claramente mais escura que a região do proctodeu. No restante dos gêneros, tanto as pregas quanto as vilosidades estão ausentes, conferindo um aspecto liso para essa região.

Os ductos deferentes (*ductus deferens*) percorrem a parede dorsolateral do urodeu, onde se apresentam ondulados. Eles seguem caudalmente, onde desembocam simetricamente dispostos na fossa ejaculatória, por meio de duas papilas (*papilla ductus deferentis*) (**Figs. 1 e 2**). Essas papilas são mais proeminentes em *Ortalis canicollis*, *Crax fasciolata* e *P. pauxi*. Em *O. canicollis* e em *C. fasciolata* elas apresentam formato cônico, já em *P. pauxi* elas apresentam formato globoso (**Figs. 2D e 5D**).

A fossa ejaculatória (*fossa ejaculatoria*) (**Figs. 1, 2, 3 e 5**) está localizada na região de transição entre o assoalho do urodeu e a base do falo. A porção mais cranial da fossa ejaculatória está delimitada caudalmente pelo sulco ejaculatório, se diferenciando deste por ser mais larga e profunda. A fossa ejaculatória está limitada lateralmente pelas porções direita e esquerda da base do falo e ventrolateralmente pelos corpos vasculares paracloacais. Sua mucosa se apresenta mais rugosa que a mucosa do sulco ejaculatório, apresentando pequenas vilosidades apenas em *Pipile cujubi* (**Figs. 3B e 16B**).

Ao dissecar a região do urodeu, observa-se os corpos vasculares paracloacais (*corpus vasculare phalli*) (**Fig. 6**) que são formados por duas estruturas situadas no assoalho dessa região. Sua porção cranial se situa ventrolateralmente à porção caudal da fossa ejaculatória. Dorsalmente eles se encontram em contato com parte da base do corpo

fibrocartilagenoso. Ventralmente e lateralmente seguem limitados pela porção profunda do músculo esfíncter cloacal. Os corpos vasculares paracloacais são constituídos por um aglomerado de vasos sanguíneos, linfáticos e são revestidos por septos de tecido conjuntivo. Não existe variação entre as espécies de Cracidae analisadas.

O proctodeu (*proctodeum*) (**Figs. 1, 2, 3 e 5**) é o compartimento caudal da cloaca e está situado entre o urodeu e a abertura cloacal. A região do proctodeu apresenta uma área maior que a do coprodeu, porém como a delimitação do coprodeu e do reto não está bem definida, é difícil mensurar o quão maior o proctodeu é em relação ao coprodeu. Nas espécies de cracídeos analisados, a mucosa do proctodeu é semelhante à do urodeu, e as estruturas que compõem o falo se originam a partir do assoalho proctodeal.

Cranialmente, o proctodeu está delimitado pelo urodeu por meio da prega uroproctodeal (*plica uroproctodealis*) (**Figs. 1, 2 e 3**). A prega uroproctodeal é bem proeminente na maioria das espécies, exceto em *P. pauxi* e *Pipile jacutinga*. Nos cracídeos, a prega uroproctodeal é tão proeminente quanto a prega coprourodeal, exceto em *P. cujubi* (**Fig. 3B**) e *Ortalis motmot* (**Fig. 3E**) onde a prega uroproctodeal apresenta-se mais proeminente que a coprourodeal. Em *P. pauxi* (**Fig. 2D**) a prega coprourodeal é claramente mais proeminente que a uroproctodeal.

Em todos os cracídeos a bolsa fálica (*involucrum phalli*) (**Figs. 1, 2 e 3**) é formada por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo localizada na superfície direita do proctodeu. Ela armazena a porção tubular do falo em repouso.

A abertura cloacal (**Fig. 5**) se situa na porção mais caudal da cloaca, caudalmente ao proctodeu. Ela é constituída pelos lábios dorsal e ventral, que são formados por duas porções, uma dorsal, externa e com rugosidades transversais proeminentes; e uma porção

ventral, interna e com rugosidades transversais pouco conspícuas. A abertura cloacal apresenta anatomia semelhante em todas as espécies analisadas.

O músculo esfíncter cloacal (**Figs. 2 e 3**), está localizado sob a pele e circunda externamente a cloaca desde a região do urodeu até a abertura cloacal. Ele apresenta duas camadas, uma superficial e uma profunda. Próximo à transição com o urodeu a camada superficial se apresenta mais estreita que a profunda, enquanto na região da abertura cloacal, a camada superficial se torna mais espessa que a profunda. Esse músculo é semelhante em todos os cracídeos.

Por fim, a cloaca das fêmeas de Cracidae se apresenta semelhantes à dos machos (**Fig. 7**). Ela é dividida em três compartimentos: coprodeu, urodeu e proctodeu. A prega retocoprodeal está ausente e as pregas coprourodeal e uroproctodeal estão presentes e são proeminentes. A mucosa cloacal se apresenta pregueada. Em *Pipile* e *Pauxi*, na região proctodeal correspondente ao local onde se desenvolve o falo nos machos, essas pregas se apresentam muito proeminentes. As estruturas fálicas estão ausentes em todas as fêmeas analisadas.

7.2. Anatomia do órgão copulador dos cracídeos

O falo dos cracídeos é eversível, do tipo intromitente e com cavidade tubular. Ele é formado por uma base fixa e uma porção tubular espiralada, ambas divididas em duas partes assimétricas. A fossa ejaculatória, o sulco ejaculatório e os músculos retratores do falo encontram-se associados ao órgão copulador. Nos cracídeos em repouso sexual, a porção tubular do falo apresenta-se enovelada e se encontra no interior da bolsa fállica.

A base do falo (*basis phalli*) (**Figs. 1, 2, 4, 5 e 6**) é a porção mais caudal do órgão copulador e está localizada no assoalho do proctodeu. Ela apresenta forma cônica na maioria das espécies, porém em *Crax blumenbachii* e *Ortalis motmot*, ela apresenta

formato cilíndrico. A base do falo projeta-se caudalmente ocupando grande parte da região ventral do proctodeu. A porção cranial da base do falo é fixa no proctodeu e é mais larga que sua porção caudal, que se apresenta livre. A base do falo nas espécies de cracídeos sempre apresenta uma leve curvatura para a direita, exceto em *Pauxi pauxi* (**Fig. 2D**) e *Pipile jacutinga* (**Fig. 3C**), em quem esta curvatura se apresenta mais acentuada.

Os cracídeos apresentam rugosidades transversais proeminentes na mucosa da base do falo (**Figs. 2 e 3**), exceto em *P. pauxi* (**Figs. 5D e 17D**), onde essas rugosidades estão ausentes, garantindo um aspecto liso a essa região. Manchas com colorações cinzas ou pretas de diferentes tamanhos e formatos são observados na base do falo dos cracídeos. Em *C. blumenbachii* e *P. pauxi* essas manchas estão dispostas pela maioria da superfície da base do falo, fazendo com que esta região adquira uma coloração escura (**Figs. 2D e 3A**).

Em todos os cracídeos estudados, o corpo fibrocartilaginoso (*corpus fibrocartilagineum*) (**Fig. 6**) apresenta formato laminar e está localizado ao redor do sulco ejaculatório, na região de transição entre a base e a porção tubular do falo. Esse corpo constitui a porção mais rígida do falo dos cracídeos e serve de suporte para a porção tubular do falo.

Os músculos retrator cranial do falo (*musculus retractor phalli cranialis*) (**Fig. 6D**) e retrator caudal do falo (*musculus retractor phalli caudalis*) (**Fig. 6C**) estão associados ao corpo fibrocartilaginoso. O músculo retrator cranial está localizado entre o vaso deferente e o músculo esfíncter cloacal, já o músculo retrator caudal está localizado entre o falo e o músculo esfíncter cloacal. Esses músculos são semelhantes em todos os cracídeos analisados.

O sulco ejaculatório (*sulcus ejaculatorius*) (**Figs. 1, 2, 3 e 5**) se situa na superfície dorsal da base do falo e se estende até a extremidade caudal do órgão copulador. Ele está delimitado cranialmente pela fossa ejaculatória e se diferencia desta por ser mais profundo e estreito. O sulco ejaculatório apresenta a mucosa levemente pregueada e suas bordas formam os lábios do sulco ejaculatório (*labium sulci phalli*) (**Figs. 2 e 3**), que se apresentam altos e seguem contínuos com as bordas da fossa ejaculatória. Os lábios do sulco apresentam as bordas com curvaturas suaves em *Crax*, *Pauxi* e *Ortalis* e tortuosas em *Penelope* e *Pipile*. Somente em *Pauxi pauxi* estão presentes projeções no sulco ejaculatório (**Fig. 5D**) que se apresentam em formato oval.

O sulco ejaculatório divide dorsalmente a base do falo em duas porções assimétricas. A porção direita da base do falo (**Fig. 2C**) é maior e mais espessa que a esquerda (**Fig. 2C**), e ela se projeta junto com a região esquerda em sentido caudal, apresentando uma curvatura para a esquerda. Essa curvatura é mais acentuada somente em *Pauxi pauxi* (**Fig. 2D**) e *Pipile jacutinga* (**Fig. 3C**).

Nos cracídeos, a porção mais caudal da base do falo termina na abertura da base do falo (*ostium sacci cutanei phalli*) (**Figs. 3 e 5**), que é estreita e se comunica internamente com a porção tubular do falo.

A porção tubular do falo (*corpus phalli*) (**Figs. 1, 2, 4 e 6**) somente pode ser vista quando o falo está com algum grau de ereção, ou por meio de dissecação. Ela está dividida em duas porções, uma eversível e uma fixa. A porção tubular apresenta anatomia semelhante em todas as espécies de Cracidae.

A porção tubular eversível (*saccus cutaneous phalli*) (**Fig. 5E**) segue contínua à região mais caudal da base do falo, enquanto a porção fixa (*saccus glandularis phalli*)

está presente em seu interior. Quando o falo está em repouso, essas porções apresentam um aspecto enovelado e permanecem dentro da bolsa fálica.

O ligamento elástico (*ligamentum elasticum phalli*) (**Fig. 4**), observado apenas ao dissecar a bolsa cloacal, apresenta forma de leque, em todos os cracídeos analisados, e é formado por fibras elásticas condensadas. Ele se origina a partir da porção ventral do corpo fibrocartilaginoso e se insere em diferentes regiões da porção tubular do falo.

No falo ereto, se distingue a base do falo, que é fixa no assoalho do proctodeu, e a porção tubular do falo, que é livre e segue caudalmente evertida. Durante a ereção do falo, a porção tubular emerge a partir da extremidade caudal da base do falo, por meio da abertura da base do falo, e se projeta caudalmente onde está disposta como uma estrutura espiralada. O falo foi descrito no estado ereto apenas em alguns espécimes de *Ortalis canicollis* e *Crax fasciolata*. Nessas espécies, a porção tubular dá uma volta inteira sobre seu eixo em *O. canicollis* (**Fig. 2A**) e uma volta e meia em *Crax fasciolata* (**Fig. 2B**).

O sulco fálico (*sulcus phalli*) (**Fig. 5**) se localiza na porção tubular do falo e é estreito, profundo e apresenta as bordas altas com a superfície tortuosa. Ele se estende ao longo de toda a porção tubular e não apresenta variação entre as espécies analisadas.

Ao longo da mucosa da porção tubular do falo, existem pequenas projeções (**Figs. 1, 2 e 5**) dispostas em duas fileiras que se encontram mais próximas em sua porção cranial e se distanciam em sua porção mais caudal. O formato dessas projeções varia entre as espécies. As projeções de *Ortalis* apresentam formato cônico (**Fig. 2A**) enquanto em *Crax* elas apresentam formato cônico e serrilhado (**Figs. 2B e 5E**).

Na extremidade final da porção tubular do falo dos cracídeos, observa-se uma abertura estreita, o ádito da cavidade tubular do falo (**Fig. 5**), sem variação dentro da família.

7.3. Histologia da cloaca dos cracídeos

A parede do coprodeu (**Fig. 9A**) é constituída pelas túnicas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. Em corte longitudinal, a túnica mucosa (**Fig. 9A**) apresenta sua superfície voltada para a luz da cloaca. O epitélio de revestimento é pseudoestratificado cilíndrico com a presença de células caliciformes. A lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo, com fibroblastos e plasmócitos esparsos próximos ao epitélio. No interior das vilosidades, vênulas e arteríolas esparsas são encontradas no tecido conjuntivo frouxo. Glândulas tubulosas ramificadas são abundantes na porção basal da túnica mucosa (**Fig. 9A**). O epitélio de revestimento das glândulas é cúbico simples.

A muscular da mucosa (**Fig. 9A**) é visível e está no limite entre a túnica mucosa e a submucosa. Ela é formada por duas camadas de fibras musculares lisas dispostas paralelamente, uma externa e em contato com a túnica mucosa e uma interna e em contato com a túnica submucosa.

A submucosa (**Fig. 9A**) é uma camada delgada e se apresenta como feixes de tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos esparsos.

A túnica muscular (**Fig. 9A**) está disposta externamente à túnica submucosa. Ela é constituída por duas camadas de fibras musculares separadas por uma delgada camada de tecido conjuntivo frouxo. A camada mais interna é mais espessa e formada por fibras musculares lisas orientadas em sentido circular. Seus feixes musculares são separados por septos de tecido conjuntivo e suas células apresentam núcleos centrais. A camada mais externa é mais delgada que a interna e é formada por fibras musculares estriadas esqueléticas dispostas em sentido longitudinal, e suas células apresentam núcleos periféricos.

A túnica serosa (**Fig. 9A**) é a camada mais externa e só está presente na transição entre a região do reto e do coprodeu. Essa túnica é constituída por tecido conjuntivo frouxo e é delimitada tanto na superfície externa quanto na superfície interna por peritônio.

Na região do urodeu (**Figs. 9B e 10A**), sua mucosa é mais lisa quando comparada com a do coprodeu, mesmo nas espécies que apresentam a mucosa pregueada. A superfície é revestida por tecido epitelial pseudoestratificado cilíndrico. A disposição das túnicas mucosa, submucosa e muscular se apresentam semelhantes aquelas observadas no coprodeu.

Na parede ventral do urodeu, a fossa ejaculatória (**Figs. 9 e 11**) apresenta a mucosa pregueada. O epitélio de revestimento da fossa ejaculatória é pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 11B**), com células alongadas e núcleos arredondados e predominantemente basais.

A camada subepitelial é formada por uma porção estreita de tecido conjuntivo frouxo com glândulas tubulosas e vasos sanguíneos esparsos. A região mais profunda apresenta uma espessa camada de tecido conjuntivo denso com abundantes vasos sanguíneos e glândulas tubulosas ramificadas. Mais profundamente, a túnica muscular é constituída por fibras musculares estriadas esqueléticas, dispostas longitudinalmente. Na porção mais caudal da fossa ejaculatória, o tecido subepitelial apresenta uma camada de tecido conjuntivo frouxo que se apresenta mais espesso quando comparada com a porção cranial.

Os ureteres e os ductos deferentes são as principais estruturas relacionadas com o urodeu. Visto em corte transversal, o ureter (**Figs. 9F e 10A**) apresenta a mucosa da superfície interna tortuosa e revestida por tecido epitelial pseudoestratificado cúbico, com

aspecto secretor. A lâmina própria é constituída por uma espessa camada de tecido conjuntivo frouxo com abundantes vasos sanguíneos. A camada muscular é espessa e apresenta fibras musculares lisas dispostas em sentido circular. O ureter externamente é revestido por tecido conjuntivo frouxo e recoberto por uma fina camada de peritônio.

Em corte transversal, o ducto deferente (**Figs. 9F, 10A, 11**) se apresenta mais achatado que o ureter. O seu revestimento interno apresenta superfície tortuosa e constituída por tecido epitelial pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 11F**). A lâmina própria é formada por uma espessa camada de tecido conjuntivo frouxo com abundantes fibras colágenas e vasos sanguíneos esparsos. A túnica muscular do ducto deferente é constituída por uma espessa camada de fibras musculares lisas dispostas em sentido circular.

Com o corte transversal da região do urodeu, é possível visualizar os corpos vasculares paraclonais (**Figs. 9E e 11**). Eles são constituídos por uma espessa camada de tecido conjuntivo frouxo, com espaços linfáticos e abundantes vasos sanguíneos (**Fig. 11**). Em algumas porções, esses espaços linfáticos estão interligados por estreitos filamentos de tecido conjuntivo frouxo.

Histologicamente, as pregas coprourodeal (**Fig. 9D**) e uroproctodeal (**Fig. 9D**) apresentam constituição semelhante às regiões do urodeu e proctodeu respectivamente.

O proctodeu (**Figs. 9C e 10A**) apresenta a mucosa muito semelhante à do urodeu, sendo pouco pregueada e revestida por tecido epitelial pseudoestratificado cilíndrico com células caliciformes. Próximo à abertura cloacal, a camada muscular vai se tornando estreita até dar espaço para as duas camadas do músculo esfíncter cloacal. A camada subepitelial é constituída por tecido conjuntivo frouxo. Nessa região são encontradas

abundantes mastócitos e glândulas tubulosas simples, semelhante às encontradas no coprodeu e urodeu.

A porção interna da abertura cloacal (**Fig. 10A**) é revestida por uma camada espessa de tecido epitelial estratificado pavimentoso não queratinizado. A derme é formada por tecido conjuntivo denso, com abundantes fibras colágenas e vasos sanguíneos esparsos. A camada mais profunda que delimita o tecido conjuntivo é composta pelo músculo esfíncter cloacal (**Figs. 9 e 10**), que circunda a abertura cloacal. Tal músculo se apresenta em duas camadas espessas de musculatura estriada esquelética que são separados por septos de tecido conjuntivo frouxo.

A porção mais externa da abertura cloacal é revestida por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado (**Fig. 10**). A camada de tecido epitelial é delgada, com uma estreita camada de queratina recobrindo a epiderme. O epitélio dessa porção é constituído por três estratos, o basal, o estrato de transição e o córneo.

A derme é constituída por duas camadas. A camada mais superficial, que apoia a epiderme, é delgada e formada por feixes de tecido conjuntivo denso com poucas células e basicamente formada por fibras colágenas. A camada mais interna é delgada e constituída por feixes de tecido conjuntivo frouxo. Essa camada apresenta predomínio de fibras colágenas e mastócitos. Vasos sanguíneos e feixes nervosos se apresentam esparsos. Em algumas regiões da derme, existem espessas camadas de tecido conjuntivo frouxo entremeado com células de tecido adiposo. Folículos penáceos se distribuem esparsamente na derme da abertura cloacal.

7.4. Histologia do órgão copulador dos cracídeos

A superfície epitelial da base do falo (**Fig. 10**) varia entre as espécies. Enquanto *Ortalis* possui a superfície da base do falo recoberta por tecido epitelial

pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 20C**), os demais gêneros possuem a base do falo revestida por epitélio estratificado pavimentoso (**Fig. 20D**). A lâmina própria da base do falo é formada por duas porções, uma porção estreita subepitelial de tecido conjuntivo frouxo com fibras colágenas esparsas e abundantes fibroblastos, e uma porção mais basal formada por tecido conjuntivo denso, com abundantes fibras colágenas. Vasos sanguíneos esparsos são encontrados nessa região. Em muitas regiões da base do falo, é difícil determinar o limite entre o tecido conjuntivo frouxo e o denso.

Mais profundamente, o tecido conjuntivo é constituído por uma camada superficial de tecido conjuntivo denso não modelado com feixes de fibras colágenas dispostos em vários sentidos (**Fig. 10**). Células de fibroblastos e vasos sanguíneos são abundantes nessa região. Em todas as espécies foram verificados espaços linfáticos revestidos de endotélio e atravessados por camadas de tecido conjuntivo denso.

Na região caudal da base do falo, logo abaixo da lâmina própria, o corpo fibrocartilaginoso (**Figs. 10, 11 e 12**) garante sustentação ao restante das estruturas fálicas. Fibras colágenas e células de condrócitos são abundantes, porém vasos sanguíneos são escassos. Células de fibrócitos são encontradas principalmente na periferia do corpo (**Fig. 12D**). Conjuntos de células de tecido adiposo são encontrados esparsos no corpo fibrocartilaginoso de todos os cracídeos.

O corpo fibrocartilaginoso se comunica com uma espessa camada de tecido conjuntivo frouxo que segue em contato com a porção tubular do falo. Essa região apresenta vasos sanguíneos esparsos e maior concentração de fibras colágenas e fibroblastos. Os aspectos histológicos do corpo fibrocartilaginoso se apresentam semelhantes em todos os cracídeos.

O músculo retrator cranial do falo (**Fig. 10**) e o músculo retrator caudal (**Fig. 10**) estão associados com o corpo fibrocartilaginoso e apresentam composição histológica semelhante em todos os cracídeos. O músculo retrator cranial do falo está localizado entre o ducto deferente e o músculo esfíncter cloacal. Suas fibras são estriadas esqueléticas, dispostas em sentido transversal e separadas por septos de tecido conjuntivo frouxo, com células alongadas e núcleos periféricos. Esse músculo está associado com o tecido conjuntivo que segue em contato com a porção basal do corpo fibrocartilaginoso.

O músculo retrator caudal do falo está situado entre o falo e o músculo esfíncter cloacal e é formado por fibras musculares estriadas esqueléticas, dispostas em sentido transversal e separadas por septos de tecido conjuntivo frouxo. Essas fibras estão inseridas em uma pequena parte do corpo fibrocartilaginoso, em sua porção ventrolateral. Suas células musculares apresentam formato alongado e núcleos periféricos.

O sulco ejaculatório (**Figs. 10 e 12**) na base do falo apresenta a mucosa pregueada, sendo que a sua porção mais interna apresenta pregas mais alongadas. A superfície do sulco ejaculatório varia entre as espécies. Em *Crax*, *Pauxi*, *Ortalis motmot*, *Pipile cunjubi* e *Penelope ochrogaster*, o sulco ejaculatório é revestido por tecido epitelial estratificado pavimentoso (**Fig. 20B**). Já em *Ortalis canicollis*, *Penelope superciliaris* e *P. obscura*, o epitélio de revestimento é pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 20A**). *Pipile jacutinga* possui algumas regiões do sulco ejaculatório com epitélio estratificado pavimentoso e regiões com epitélio pseudoestratificado cilíndrico. A camada subepitelial é constituída por uma espessa camada tecido conjuntivo frouxo, com fibras colágenas, fibroblastos, mastócitos e vasos sanguíneos.

Quando o falo está em repouso, a porção tubular do falo se situa dentro da bolsa fálica, na região do proctodeu. A bolsa fálica (**Fig. 10**) é constituída por delgadas faixas

de tecido conjuntivo frouxo, com fibras colágenas dispostas paralelamente em sentido longitudinal e sua composição histológica não varia entre os cracídeos. Vasos sanguíneos se encontram esparsos nessa região. Os músculos circundantes do falo seguem em contato com a bolsa fállica por meio de delgadas faixas de tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos esparsos.

A porção tubular do falo (**Fig. 10**) apresenta duas regiões bem definidas histologicamente, a porção tubular eversível (**Figs. 10 e 12**) e a porção tubular fixa (**Figs. 10, 11 e 12**). A porção tubular eversível está revestida por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado (**Fig. 12B**), porém a queratinização é mais facilmente visualizada quando o falo está ereto. Em algumas regiões da porção tubular eversível do falo de *Ortalis canicollis* e *Penelope superciliaris*, a superfície é revestida por tecido epitelial pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 18**). A lâmina própria é constituída por uma camada subepitelial de tecido conjuntivo frouxo seguida de uma camada espessa de tecido conjuntivo denso não modelado. A diferença entre esses dois tecidos não é facilmente distinguível, exceto pela maior densidade de fibras colágenas no conjuntivo denso. Espaços linfáticos de diferentes tamanhos envolvem a porção tubular eversível (**Fig. 10**).

O sulco fállico (**Figs. 10 e 12**) é observado apenas quando o falo está ereto e está presente apenas na porção tubular eversível. Sua mucosa se apresenta pregueada e sua superfície é revestida por tecido epitelial estratificado pavimentoso não queratinizado.

Durante a ereção do falo, é possível observar projeções com formatos cônicos na superfície da porção tubular eversível (**Fig. 12**). O epitélio de revestimento dessas projeções é o mesmo da porção tubular eversível, porém a queratinização é mais facilmente observada.

A porção tubular fixa (**Figs. 10, 11 e 12**) segue contínua com a porção tubular eversível e sua diferenciação é caracterizada pelo pregueamento da mucosa e pelo revestimento interno do tecido epitelial que se torna pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 12F**). Abundantes glândulas mucosas túbulo-acinosas ramificadas são encontradas nesse tecido, o que confere um aspecto secretor para essa região. No falo ereto o lúmen da porção tubular fixa diminui em relação ao falo não-ereto (**Fig. 10**). Não houve variação na histologia da porção tubular fixa dos cracídeos.

A lâmina própria da porção tubular fixa (**Fig. 12E**), é constituído por duas camadas de tecido conjuntivo facilmente distinguíveis. A camada subepitelial é constituída por tecido conjuntivo frouxo com abundantes fibroblastos e plasmócitos, já a camada mais basal é formada por tecido conjuntivo denso rico em fibras colágenas. Ao redor dessa camada de tecido conjuntivo, estão presentes espaços linfáticos revestidos por endotélio e penetrados por trabéculas de tecido conjuntivo denso.

7.5 Reconstrução de estados ancestrais

A prega coprourodeal proeminente (**Fig. 13**) é amplamente distribuída nos Galliformes, exceto em *Ortalis*, pois é pouco proeminente, caracterizando uma sinapomorfia para o gênero. Uma vez que o grupo mais externo, *Cairina moschata*, também não apresenta pregas proeminentes, a condição ancestral em Galloanserae é ambígua (**Fig. 21**). Já a prega uroproctodeal proeminente (**Fig. 13**) é condição ancestral em Galloanserae, e a condição não-proeminente desta prega evoluiu de maneira homoplástica em *Pauxi pauxi* e *Pipile jacutinga* (**Fig. 21**).

A ausência de pregas na mucosa do coprodeu é condição ancestral para Galloanserae, Galliformes e Cracidae (**Fig. 15**). A análise aqui realizada, sugere que a ausência dessa prega em *Pavo muticus*, *Pipile kujubi* e em Cracinae (*Crax* e *Pauxi*), é

uma homoplasia (**Fig. 21**). Todos Galliformes apresentam também vilosidades na mucosa coprodeal (**Fig. 15**), mas estas não estão presentes no representante de Anseriformes aqui incluído, impossibilitando maiores inferências sobre a polaridade deste caráter (**Fig. 21**).

Apresentar textura rugosa no urodeu (**Fig. 16**) é considerada uma condição ancestral para Galloanserae, de acordo com a nossa reconstrução. Já em Cracidae, a mucosa do urodeu com textura lisa é uma sinapomorfia apenas em Cracinae (**Fig. 21**). A condição suave da curvatura dos lábios do sulco ejaculatório é uma sinapomorfia para *Crax*, *Pauxi* e *Ortalis*, já que a forma tortuosa em *Penelope* e *Pipile* é uma plesiomorfia (**Fig. 19 e 24**).

O padrão de coloração diferenciada do proctodeu em relação ao coprodeu e urodeu (**Fig. 14**) é sinapomórfico para *Pipile*. (**Fig. 22**). O gênero irmão de *Pipile*, *Penelope*, apresenta também uma sinapomorfia distinta, tendo o urodeu com 1/6 do tamanho do coprodeu enquanto nos demais Galloanserae o urodeu corresponde a 1/4 do tamanho do coprodeu (**Fig. 14 e 22**).

A base do falo apresenta pleosiomorficamente um formato cônico (**Fig. 17**) e com curvatura leve para o lado esquerdo (**Fig. 18**), e a forma derivada cilíndrica aparece independentemente em *Crax blumenbachii* e *Ortalis motmot* (**Fig. 23**). O mesmo pode ser dito a respeito da evolução da curvatura da base do falo em *Pauxi pauxi* e *Pipile jacutinga*, que apresentam esta curvatura bem acentuada, sendo uma homoplasia entre estas espécies (**Fig. 23**).

Todos os cracídeos apresentam rugosidades transversais na base do falo (**Fig. 17**), o que é recuperado nas análises como a condição ancestral para o clado e para Galloanserae como um todo, havendo apenas uma exceção, em *Pauxi pauxi*, onde a perda destas rugosidades constitui uma autapomorfia para o táxon (**Fig. 23**). O mesmo padrão

autapomórfico para *P. pauxi*, aparece nas inferências aqui realizadas quanto a presença de projeções do sulco ejaculatório (**Fig. 19 e 24**).

O falo relativamente menos espiralado (**Fig. 18**), observado em *O. canicollis* e *C. fasciolata*, é a condição ancestral da subfamília Cracinae. No entanto, os dados presentes indicam o mesmo número de passo, ou seja, não permitem interpretar de forma não-ambígua se isto é uma característica plesiomórfica ou apomórfica ou qual seria a condição ancestral para os Cracidae como um todo (**Fig. 23**).

O epitélio estratificado pavimentoso do sulco ejaculatório (**Fig. 20**) é a condição ancestral para Galloanserae, Galliformes e Cracidae, mas apresenta um padrão derivado convergentemente em *Ortallis canicollis*, *Penelope superciliaris* e *P. obscura*, nas quais é pseudoestratificado cilíndrico (**Fig. 24**). Na base do falo (**Fig. 20**), a condição ancestral do epitélio é a mesma que no caráter descrito acima, apresentando a conformação de pseudoestratificado cilíndrico apenas em *Ortalis*, como uma sinapomorfia para o gênero (**Fig. 24**).

Na análise de reconstrução do estado ancestral, o falo estava presente em *Cairina moschata* e se manteve nos membros da família Cracidae, porém desapareceu completamente em *P. muticos*, já que nesta espécie não foi observada qualquer estrutura fálica na cloaca dos machos sexualmente maduros (**Fig. 8, 16 e 22**). Ao acrescentar as demais famílias de Galliformes na análise de reconstrução do estado ancestral, foi observado que no ancestral de Galliformes o falo se apresenta do tipo intromitente e se mantém nesse estado em Cracidae. No ancestral do clado (Numididae (Odontophoridae Phasianidae)) e em *Alectura* o falo se torna não-intromitente. Por fim, no ancestral de Megapodiidae e em *Pavo*, o falo desaparece completamente (**Fig. 25**).

8. FIGURAS

Figura 1

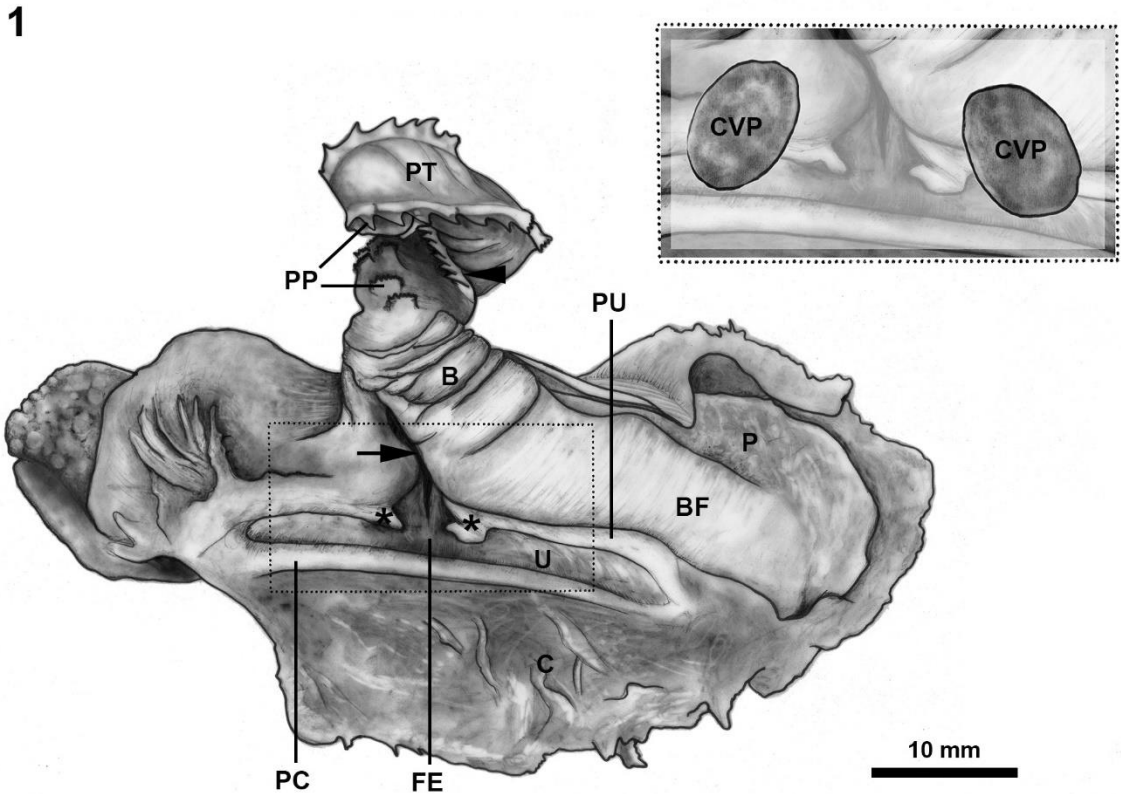


Figura 1. Desenho esquemático da vista dorsal da cloaca e do órgão copulador de Cracidae, representado por *Crax fasciolata*, evidenciando as principais estruturas anatômicas. A região destacada representa o local onde os corpos vasculares paraclóacais estão presentes. *: papilas do ducto deferente, **Cabeça-de-seta:** sulco fálico, **Seta:** sulco ejaculatório, **B:** base do falo, **BF:** bolsa fálica, **C:** coprodeu, **CVP:** corpo vascular paraclóacal, **FE:** fossa ejaculatória, **P:** proctodeu, **PC:** prega coprourodeal, **PP:** projeções da porção tubular do falo, **PT:** porção tubular do falo, **PU:** prega uroproctodeal, **U:** urodeal.

Figura 2

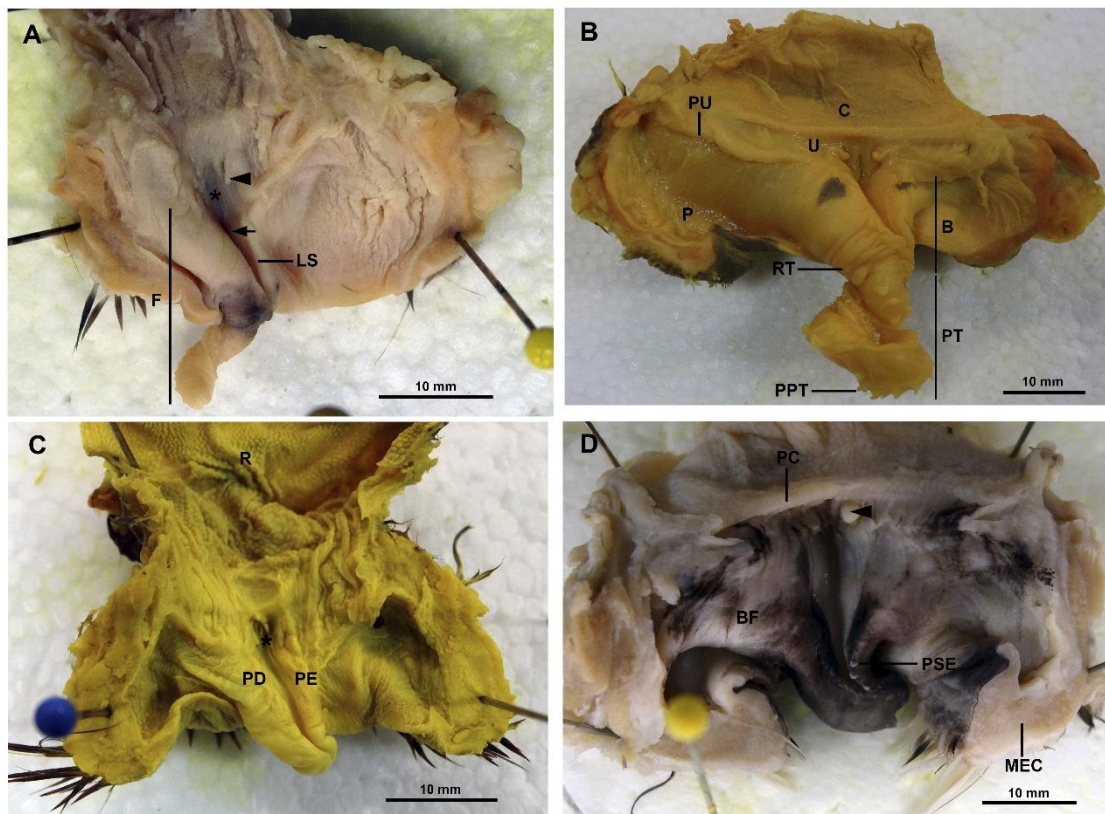


Figura 2. Visão geral da anatomia da cloaca e do falo de Cracidae. Em A e B, o falo está ereto e evertido, sendo possível visualizar a porção tubular com a porção eversível visível externamente. Em C e D, o falo não está ereto e a porção tubular segue guardada no interior da bolsa fállica. **A)** *Ortalis canicollis*. **B)** *Crax fasciolata*. **C)** *Penelope superciliaris*. **D)** *Pauxi pauxi*. * fossa ejaculatória, **Seta:** sulco ejaculatório, **B:** base do falo, **BF:** bolsa fállica, **C:** coprodeu, **F:** falo, **LS:** lábios do sulco ejaculatório, **MEC:** músculo esfíncter cloacal, **P:** proctodeu, **PC:** prega coprourodeal, **PD:** porção direita da base do falo, **PE:** porção esquerda da base do falo, **PPT:** projeções da porção tubular do falo, **PT:** porção tubular do falo, **PSE:** projeções do sulco ejaculatório, **PU:** prega uroproctodeal, **R:** reto, **RT:** rugosidades transversais da base do falo, **U:** urodeu.

Figura 3

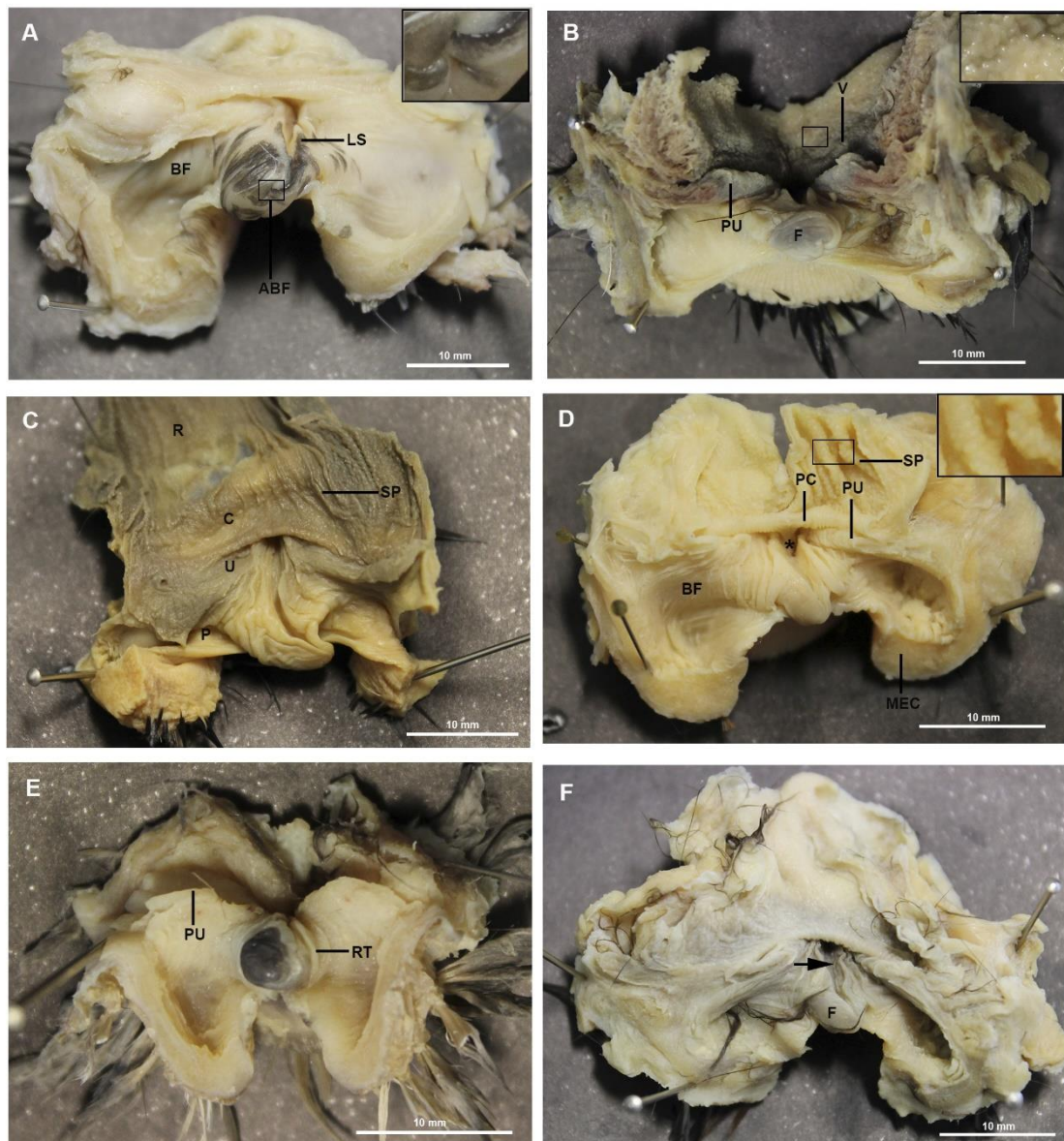


Figura 3. Visão geral da anatomia da cloaca e do falo de Cracidae. **A)** *Crax blumenbachii*. **B)** *Pipile kujubi*. **C)** *Pipile jacutinga*. **D)** *Penelope obscura*. **E)** *Ortalis motmot*. **F)** *Penelope ochrogaster*. **Seta:** sulco ejaculatório. *****: fossa ejaculatória, **ABF:** abertura da base do falo, **B:** base do falo, **BF:** bolsa fállica, **C:** coprodeu, **F:** falo, **LS:** lábios do sulco ejaculatório. **MEC:** músculo esfíncter cloacal, **P:** proctodeu, **PC:** prega coprourodeal, **PU:** prega uroproctodeal, **R:** reto, **RT:** rugosidades transversais da base do falo. **SP:** superfície pregueada, **U:** urodeu, **V:** vilosidades.

Figura 4

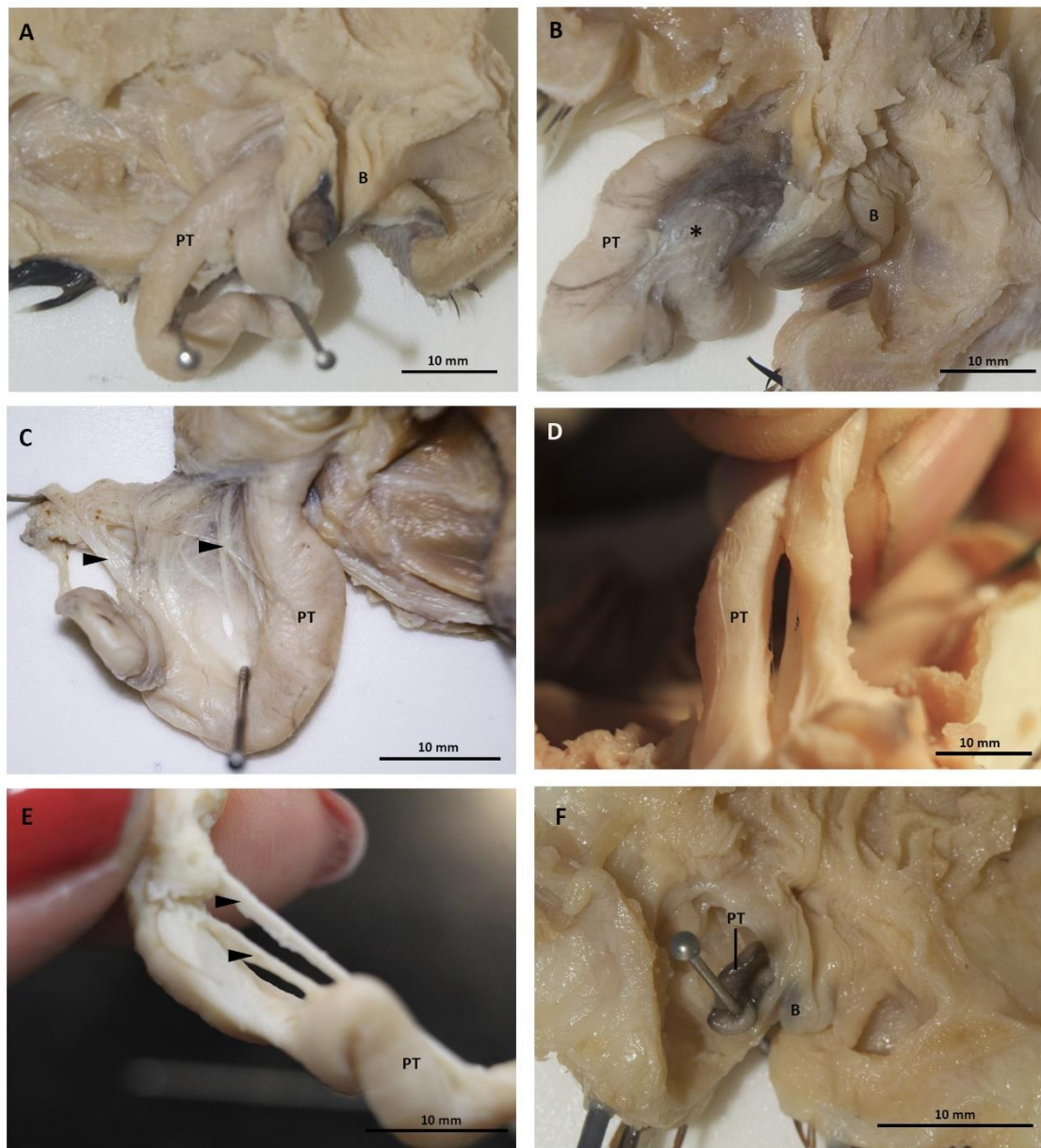


Figura 4. Dissecação da cloaca de Cracidae, retirando a bolsa fálica e evidenciando a porção tubular do falo em repouso. **A)** *Crax blumenbachii*. **B)** *Crax fasciolata*. **C)** *Ortalis canicollis*. **D)** *Pauxi pauxi*. **E)** Ligamento elástico após a remoção do tecido conjuntivo - *P. pauxi*. **F)** Falo de um espécime juvenil, evidenciando a porção tubular após a remoção da bolsa fálica - *Penelope superciliaris*. *: tecido conjuntivo recobrindo o ligamento elástico, **Cabeça de seta:** ligamento elástico, **B:** base do falo, **PT:** porção tubular do falo.

Figura 5

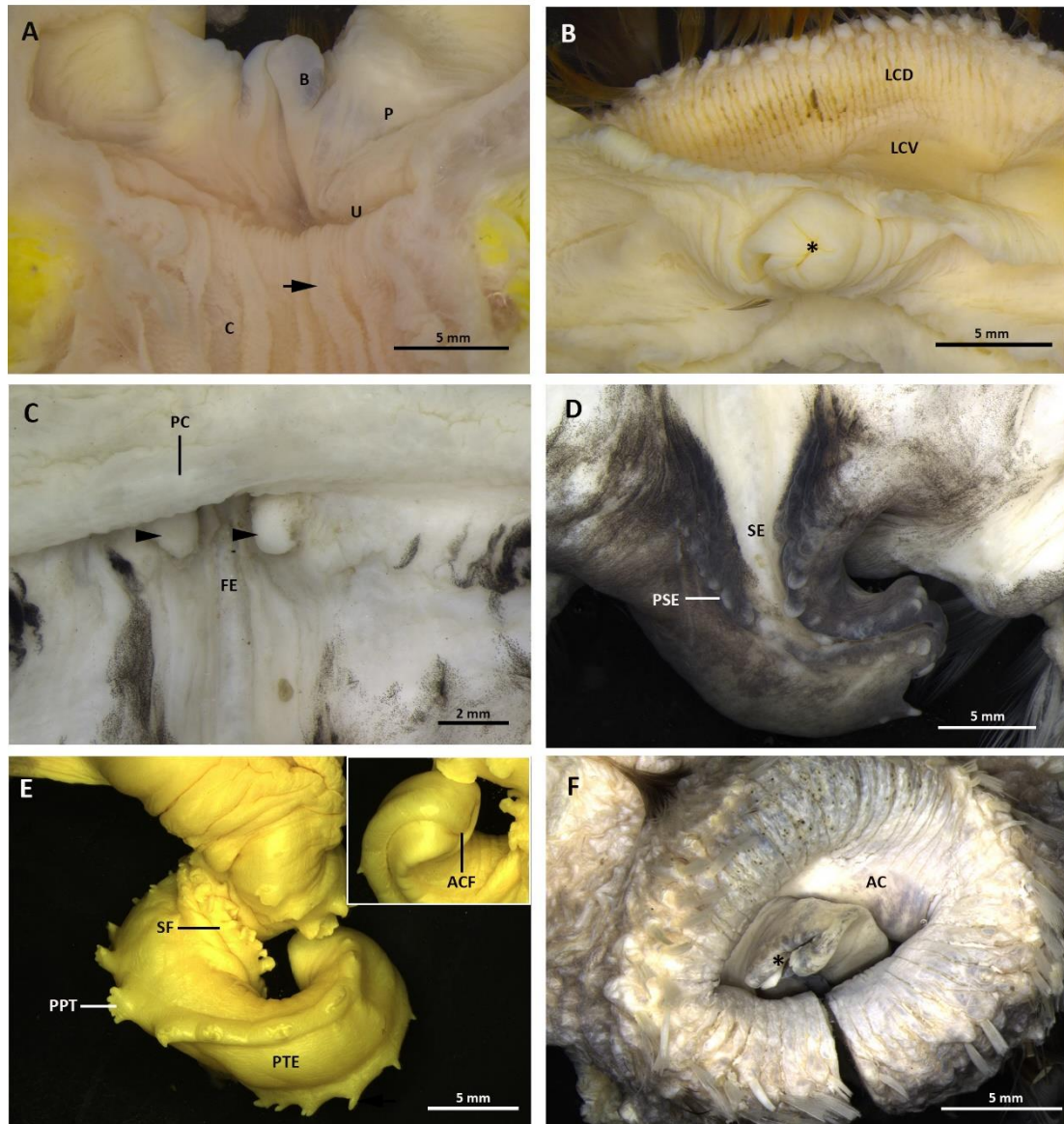


Figura 5. Detalhes anatômicos da cloaca e do falo de Cracidae. **A)** Mucosa pregueada do coprodeu (**seta**) em *Penelope superciliaris*. **B)** Epitélio dos lábios cloacais em *P. superciliaris*. **C)** Papilas do ducto deferente (**cabeça-de-seta**) em *Pauxi pauxi*. **D)** Sulco ejacutório (**SE**) e suas projeções (**PSE**) em *P. pauxi*. **E)** Sulco fálico (**SF**) e projeções da porção tubular do falo (**PPT**) em *Crax fasciolata*. **F)** Abertura cloacal (**AC**) em *Crax blumenbachii* evidenciando a abertura da base do falo. *: abertura da base do falo, **ACF**: ádito da cavidade tubular do falo **C**: coprodeu, **FE**: fossa ejacutória, *: abertura da base do falo. **LCD**: lábio cloacal dorsal, **LCV**: lábio cloacal ventral. **P**: proctodeu, **PC**: prega coprourodeal, **PTE**: porção tubular eversível, **SF**: sulco fálico, **U**: urodeu.

Figura 6

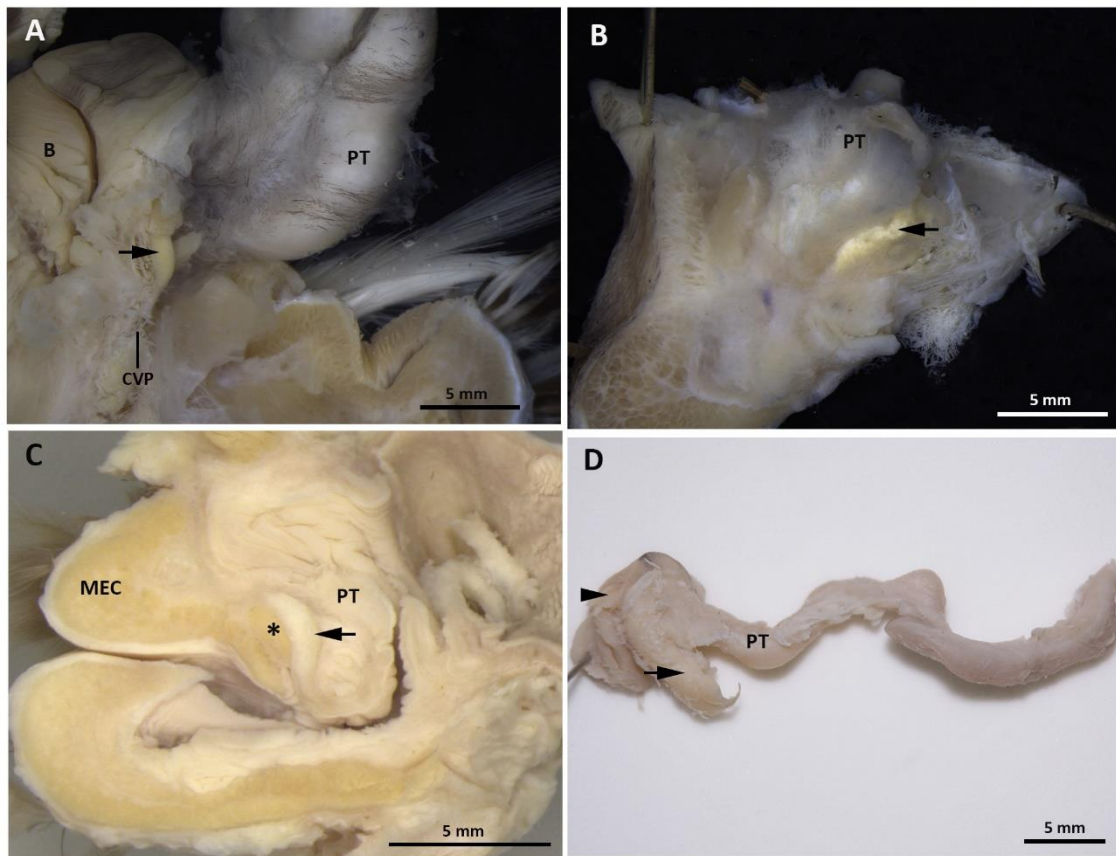


Figura 6. Cloaca e falo dissecados de Cracidae evidenciando o corpo fibrocartilagenoso (**Seta**). **A)** *Crax fasciolata*. **B)** *Crax blumenbachii*. **C)** Corte longitudinal da cloaca de *Ortalis canicollis*. **D)** *Pauxi pauxi*. *: porção dissecada do músculo retrator caudal. **Cabeça de seta:** porção dissecada do músculo retrator cranial. **B:** base do falo, **CVP:** porção dissecada do corpo vascular paracloacal, **MEC:** músculo esfíncter cloacal, **PT:** porção tubular do falo.

Figura 7

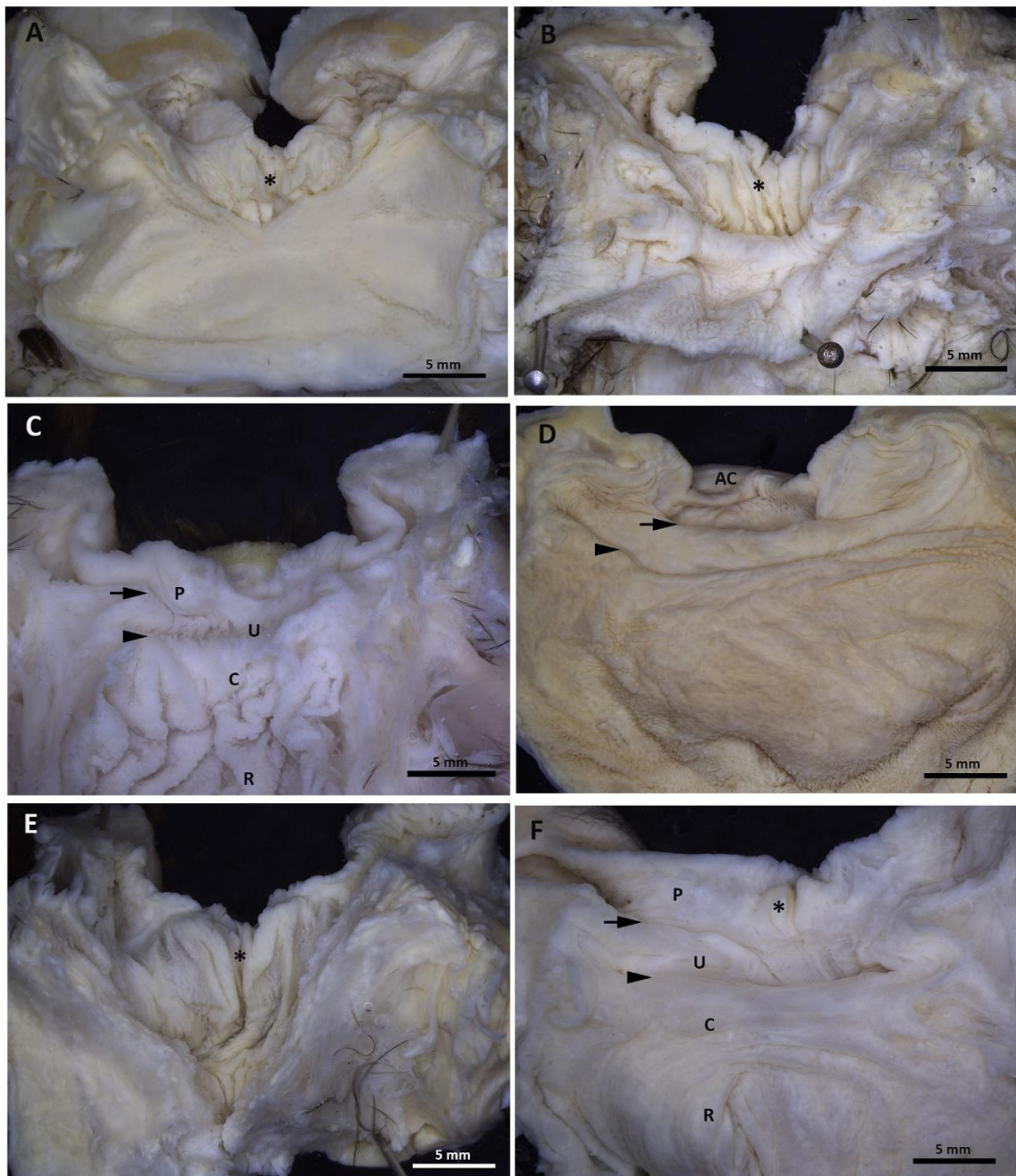


Figura 7. Visão geral da anatomia da cloaca de espécimes fêmeas de Cracidae, evidenciando a ausência de qualquer estrutura fálica. **A)** *Pipile cujubi*. **B)** *Pipile cumanensis*. **C)** *Penelope superciliaris*, **D)** *Ortalis canicollis* **E)** *Pauxi tomentosa*, **F)** *Pauxi tuberosa*. *: dobras proctodeais. **Cabeça de seta:** prega uroproctodeal, **Seta:** prega coprourodeal, **C:** coprodeu, **P:** proctodeu, **R:** reto, **U:** urodeu.

Figura 8

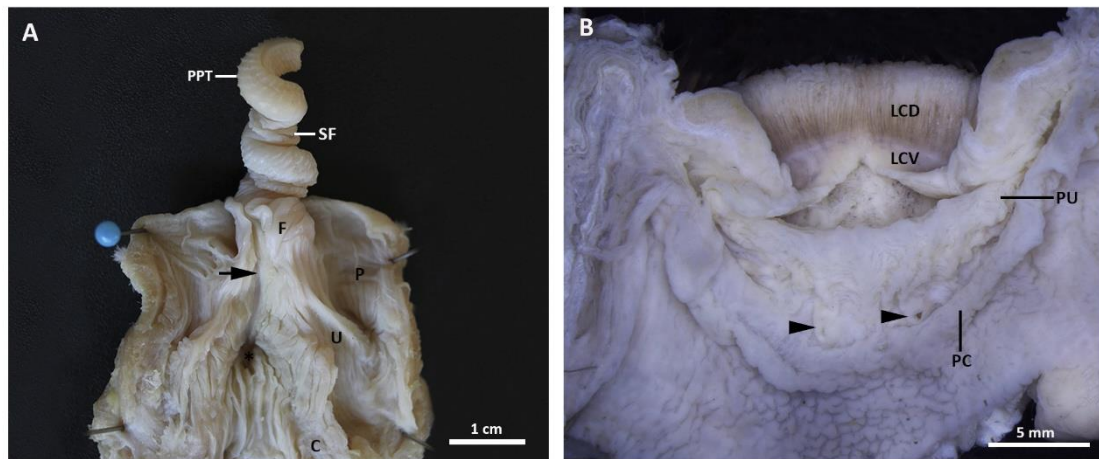


Figura 8. Visão geral da anatomia da cloaca e do falo de diferentes aves. **A)** *Cairina moschata*. **B)** *Pavo muticus*. **C)** *Rhynchotus rufescens*. **D)** *Crypturellus obsoletus*. **Seta:** sulco ejaculatório, **Cabeça de seta:** papilas do ducto deferente, *****: fossa ejaculatória, **B:** base do falo, **C:** coprodeu, **F:** falo, **LCD:** lábio cloacal dorsal, **LCV:** lábio cloacal ventral, **P:** proctodeu, **PC:** prega coprourodeal, **PPT:** projeções da porção tubular do falo, **PT:** porção tubular do falo, **PU:** prega uroproctodeal, **SF:** sulco fálico, **U:** urodeu.

Figura 9

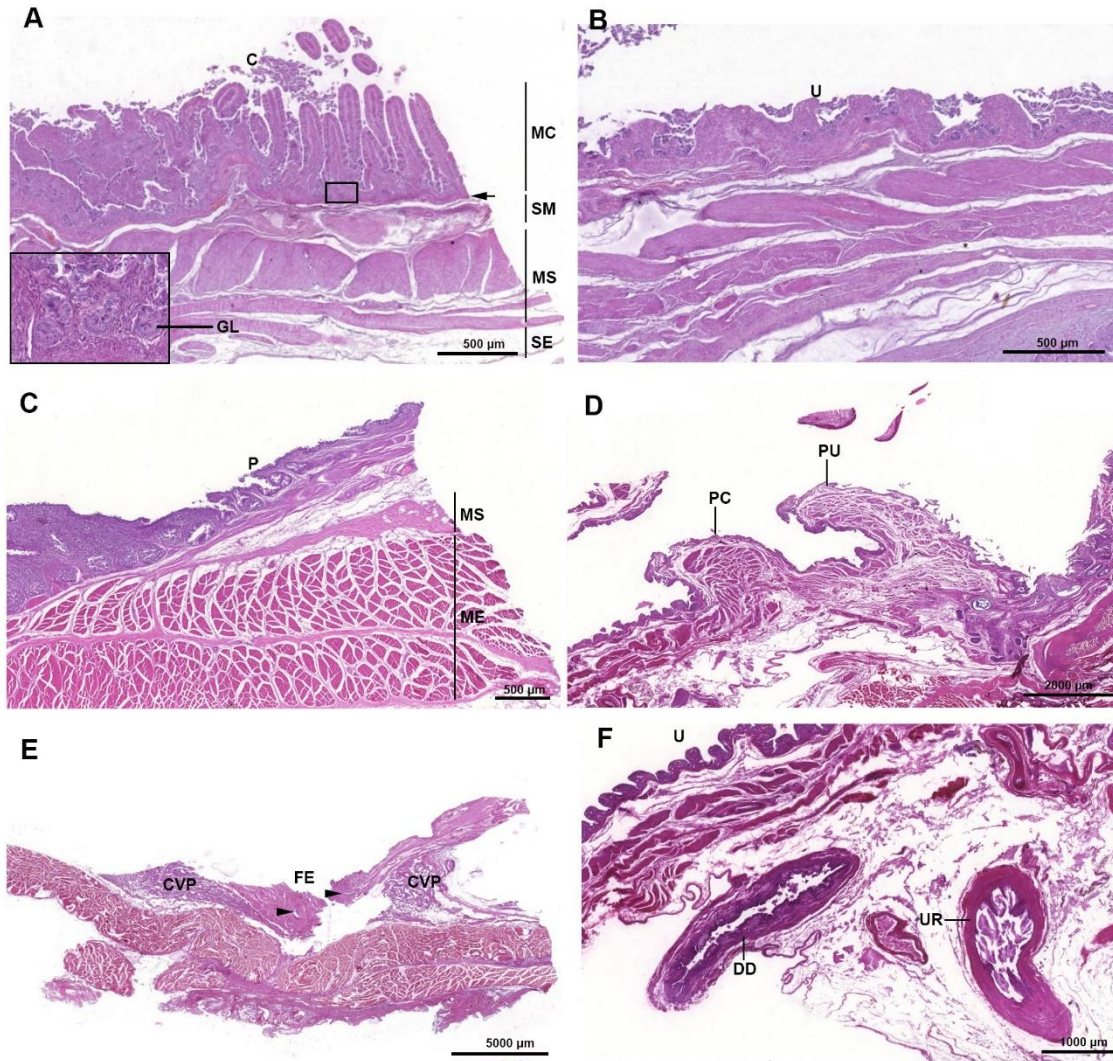


Figura 9. Corte histológico da cloaca das aves da família Cracidae. **A)** Coprodeu (C) – *Ortalis canicollis*. **B)** Urodeu (U) – *O. canicollis*. **C)** Proctodeu (P) – *Penelope obscura*. **D)** Pregas coprourodeal (PC) e uroproctodeal (PU) – *P. superciliaris*. **E)** Fossa ejaculatória (FE) – *Crax fasciolata*. **F)** Ureter (UR) e ducto deferente (DD) – *P. superciliaris*. **Cabeça-de-seta:** papila do ducto deferente, **Seta:** muscular da mucosa, **CVP:** corpo vascular paracloucal, **MC:** túnica mucosa, **ME:** músculo esfíncter cloacal, **MS:** túnica muscular, **SE:** túnica serosa, **SM:** túnica submucosa. Coloração: Hematoxilina e Eosina. Figuras A-D e F: corte longitudinal da cloaca. Figura E: corte transversal da cloaca.

Figura 10

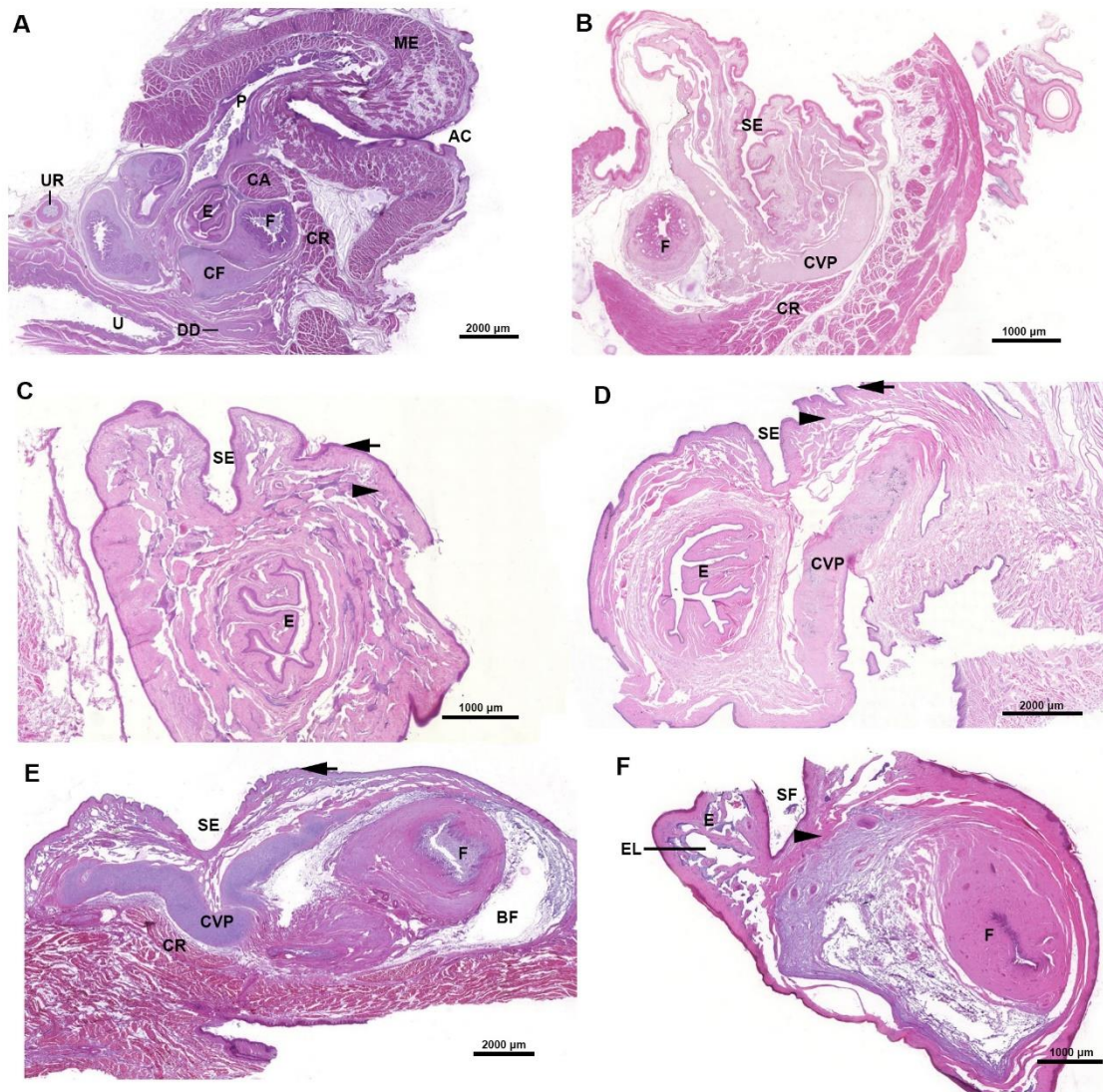


Figura 10. Corte histológico da cloaca e falo das aves da família Cracidae. **A)** Corte longitudinal da cloaca de *Ortalis canicollis*. **B)** Corte transversal da porção caudal da base do falo de *Penelope superciliaris*. **C)** Corte transversal da porção caudal da base do falo de *Pipile cujubi*. **D)** Corte transversal da porção cranial da base do falo de *Crax blumenbachii*. **E)** Corte transversal da porção cranial da base do falo de *C. fasciolata*. **F)** Corte transversal da porção caudal da porção tubular do falo. Note a bolsa fálica (**BF**) após a eversão da porção eversível. Corante: Hematoxilina e Eosina. **Cabeça-de-seta:** lâmina própria, **Seta:** epitélio da base do falo, **AC:** abertura cloacal, **CA:** músculo retrator caudal, **CF:** corpo fibrocartilagenoso, **CR:** músculo retrator cranial, **CVP:** corpo vascular paracloacal, **DD:** ducto deferente, **E:** porção tubular eversível, **EL:** espaço linfático, **F:** porção tubular fixa, **P:** proctodeu, **SE:** sulco ejaculatório, **SF:** sulco fálico, **U:** urodeu, **UR:** ureter. Coloração: Hematoxilina e eosina.

Figura 11

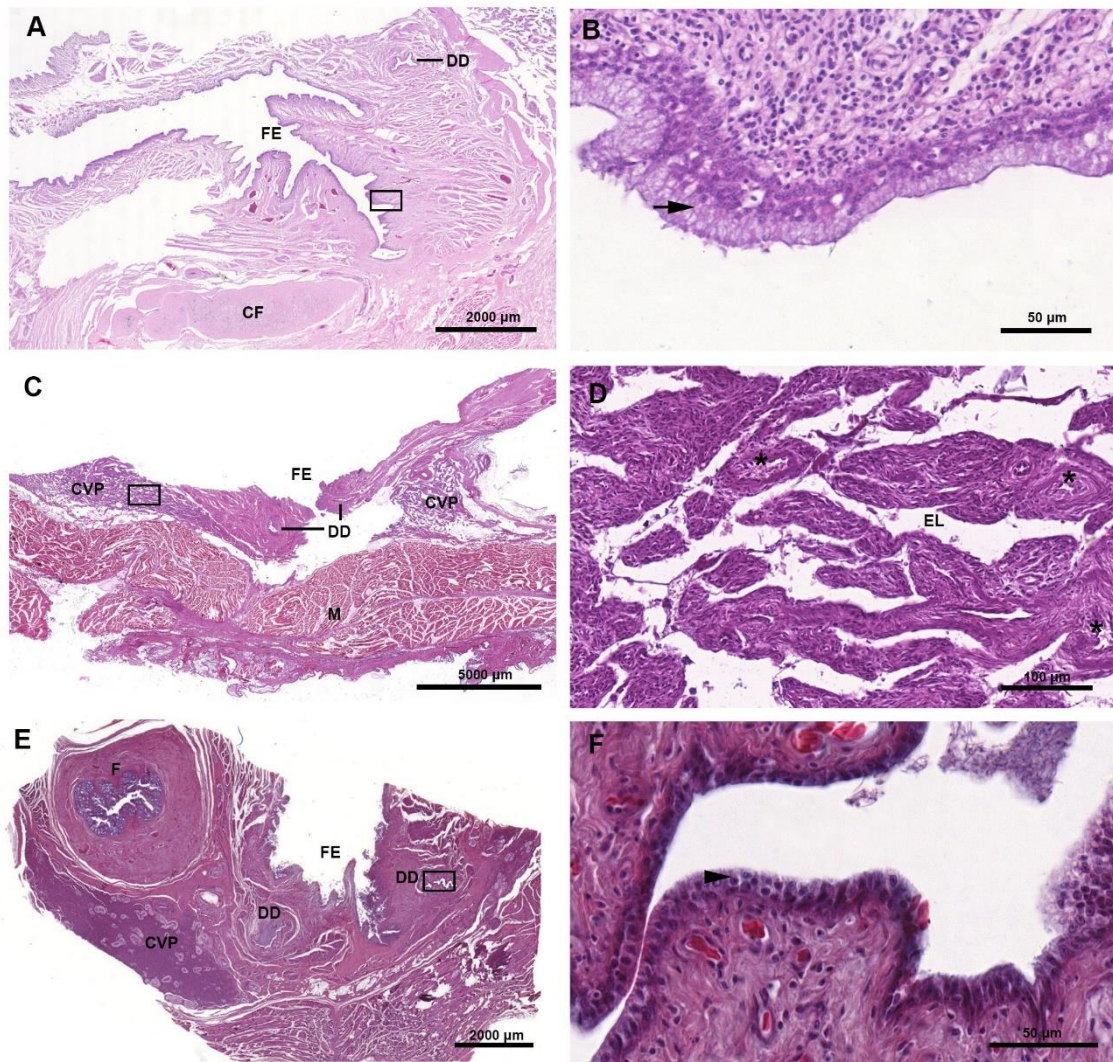


Figura 11. Corte histológico da cloaca e falop das aves da família Cracidae. Todos os cortes são transversais e evidenciam a região da fossa ejaculatória. **A)** *Crax blumenbachii*. **B)** Detalhe do epitélio pseudoestratificado cilíndrico (**seta**) da fossa ejaculatória de *C. blumenbachii*. **C)** *C. fasciolata*. **D)** Detalhe do corpo vascular paraclavicular, mostrando os vasos sanguíneos (*). *C. fasciolata*. **E)** *Mitu mitu*. **F)** Detalhe do epitélio pseudoestratificado cilíndrico (**cabeça-de-seta**) do ducto deferente. **CF:** corpo fibrocartilaginoso, **CVP:** corpo vascular paraclavicular, **DD:** ducto deferente, **EL:** espaços linfáticos, **F:** porção tubular fixa, **FE:** fossa ejaculatória, **M:** camada muscular abaixo da fossa ejaculatória. Coloração: Hematoxilina e eosina.

Figura 12

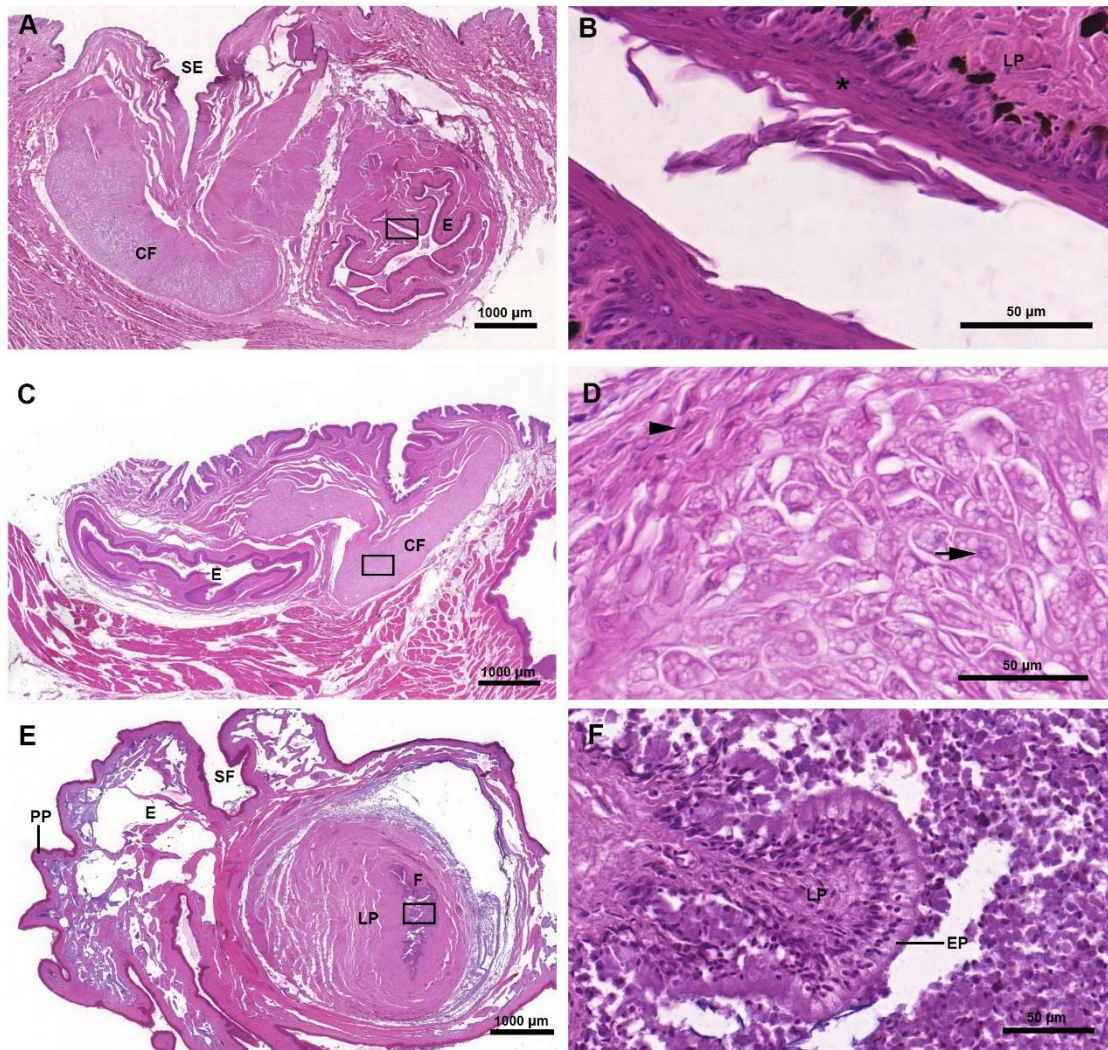


Figura 12. Corte histológico da cloaca e falo das aves da família Cracidae. **A)** Corte transversal do falo, mostrando a porção tubular eversível. *Pauxi pauxi*. **B)** *P. pauxi*. **C)** *Penelope obscura*. **D)** *P. obscura*. **E)** *Crax fasciolata*. **F)** *C. fasciolata*. *: epitélio estratificado pavimentoso, **Cabeça-de-seta:** fibrócitos, **Seta:** condrócitos, **CF:** corpo fibrocartilaginoso, **E:** porção tubular eversível, **EP:** epitélio pseudoestratificado cilíndrico, **F:** porção tubular fixa, **LP:** lâmina própria, **PP:** projeções da porção tubular do falo, **SE:** sulco ejaculatório, **SF:** sulco fálico. Coloração: Hematoxilina e eosina.

Figura 13

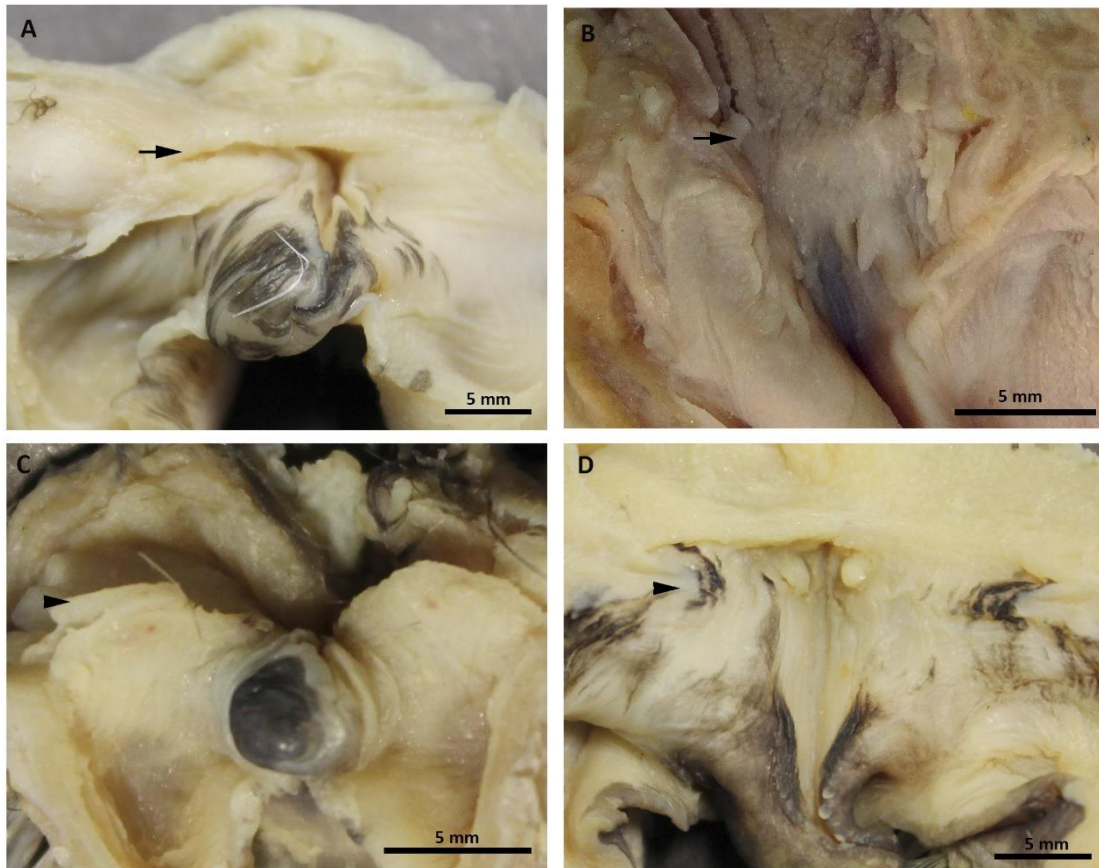


Figura 13. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A) e B).** Proeminência da prega coproproctodeal (**Seta**). **A)** Proeminente – *Crax blumenbachii*. **B)** Não proeminente – *Ortalis canicollis*. **C) e D)** Proeminência da prega uroproctodeal (**Cabeça-de-seta**). **C)** Proeminente – *Ortalis motmot*. **D)** Não proeminente - *Pauxi pauxi*.

Figura 14

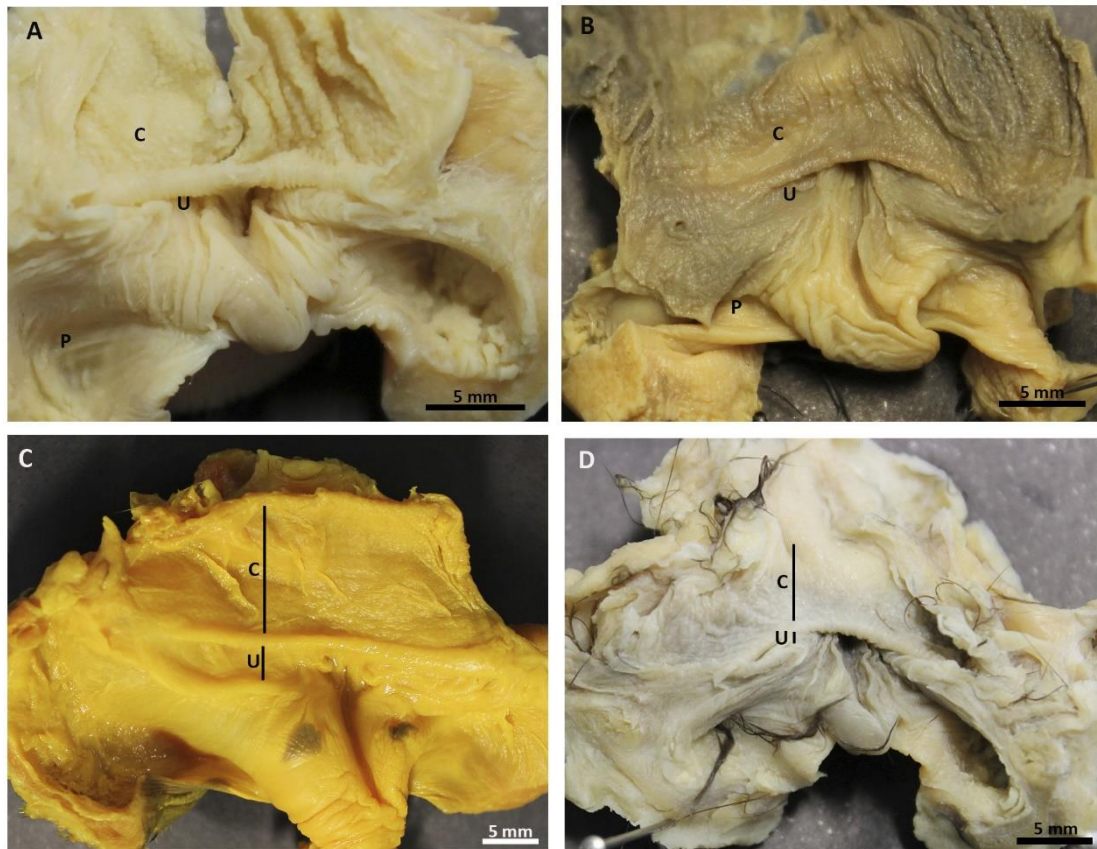


Figura 14. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A) e B)** Coloração da mucosa do coprodeu e urodeu em relação à do proctodeu. **A)** Semelhante à do proctodeu – *Penelope obscura*. **B)** Claramente diferente do proctodeu – *Pipile jacutinga*. **C) e D)** Tamanho do urodeu em relação ao coprodeu. **C)** 1/4 do tamanho do coprodeu – *Crax fasciolata*. **D)** 1/6 do tamanho do coprodeu – *Penelope ochrogaster*. **C:** coprodeu, **P:** proctodeu, **U:** urodeu.

Figura 15

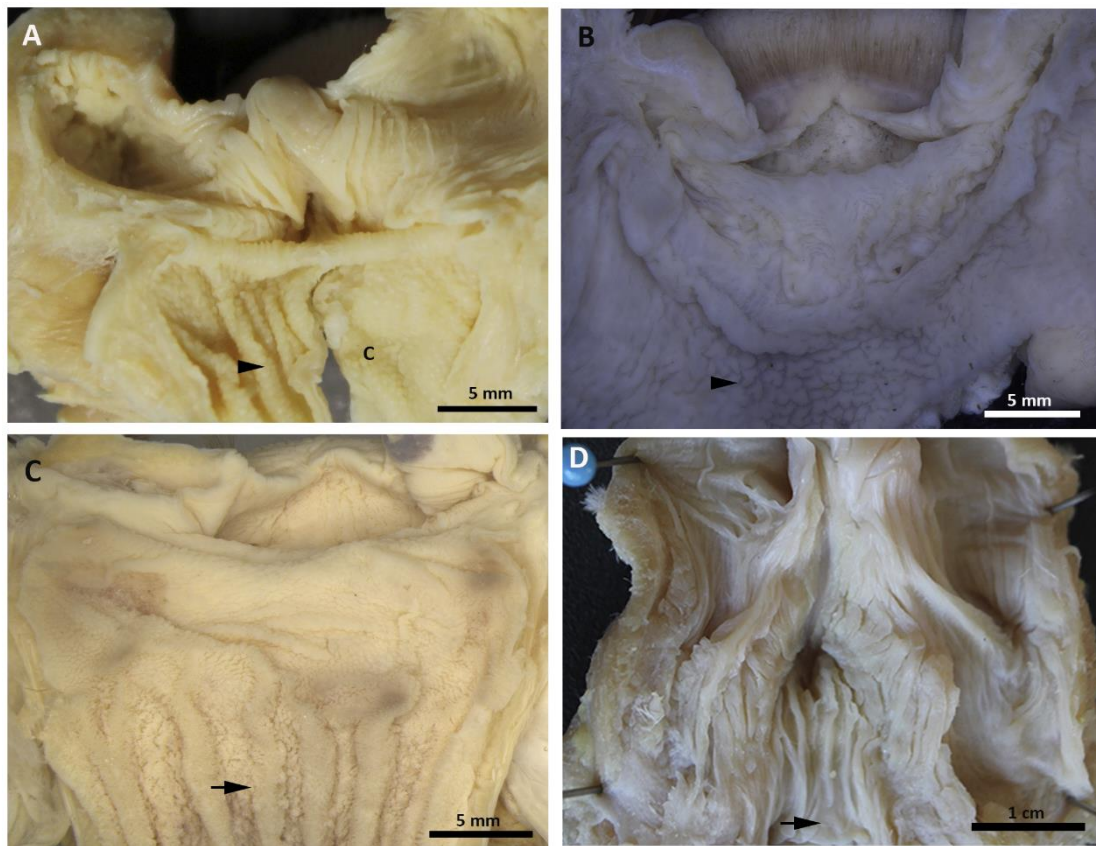


Figura 15. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A) e B)** Presença de pregas na mucosa do coprodeu (**Cabeça-de-seta**). **A)** Presente – *Penelope obscura*. **B)** Ausente – *Pavo muticus*. **C) e D)** Presença de vilosidades na mucosa do coprodeu (**Seta**). **C)** Presente – *Ortalis canicollis*. **D)** Ausente – *Cairina moschata*.

Figura 16

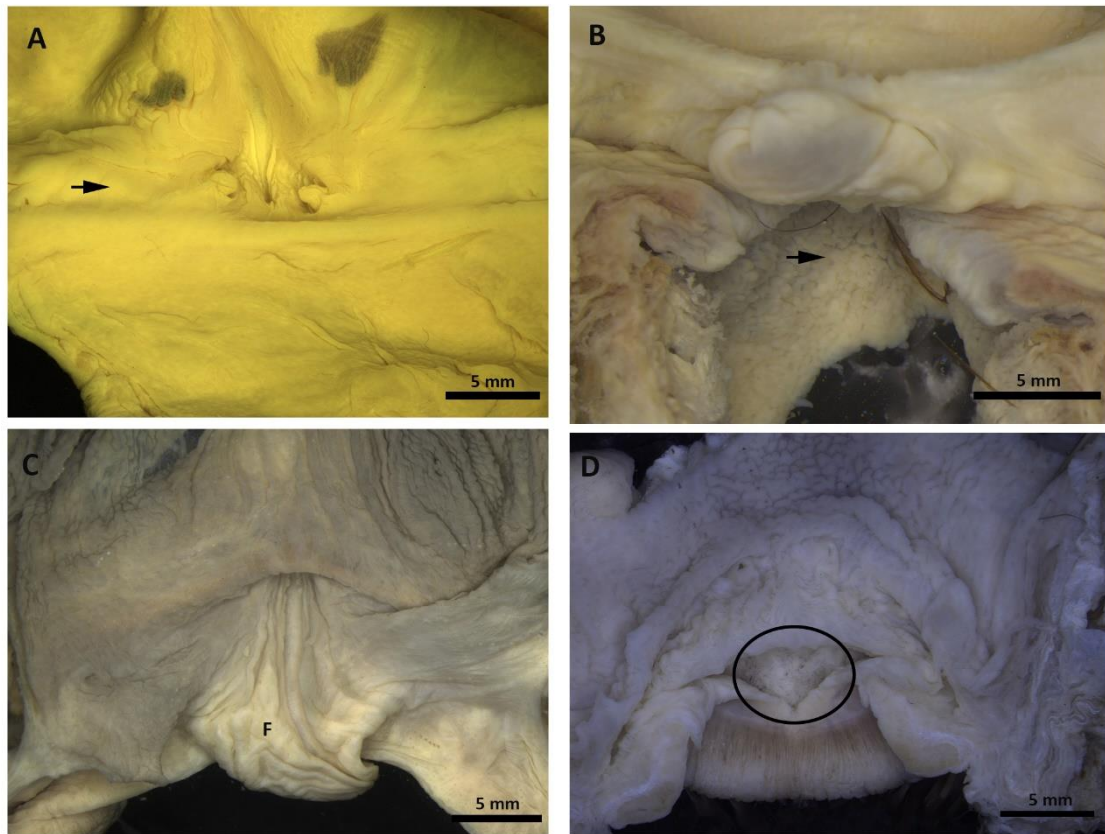


Figura 16. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A)** e **B)** Textura da mucosa do urodeu (**Seta**). **A)** Lisa – *Crax fasciolata*. **B)** Rugosa – *Pipile cufubi*. **C)** e **D)** Presença de falo (**F**). **C)** Presente – *Pipile jacutinga*. **D)** Ausente – *Pavo muticus*.

Figura 17

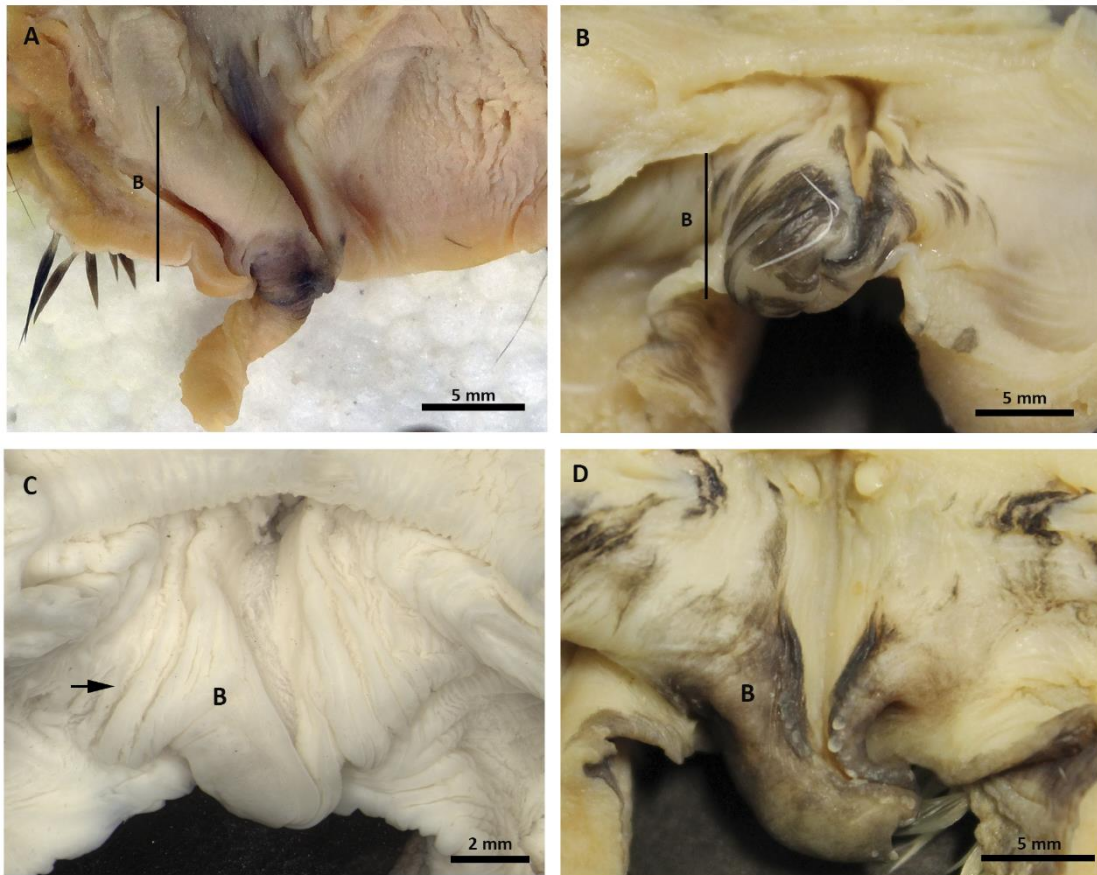


Figura 17. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A) e B)** Formato da base do falo (**B**). **A)** Cônica - *Ortalis canicollis*. **B)** Cilíndrica – *Crax blumenbachii*. **C) e D)** Presença de rugosidades transversais na base do falo (**Seta**). **C)** Presente - *Penelope obscura*. **D)** Ausente – *Pauxi pauxi*.

Figura 18

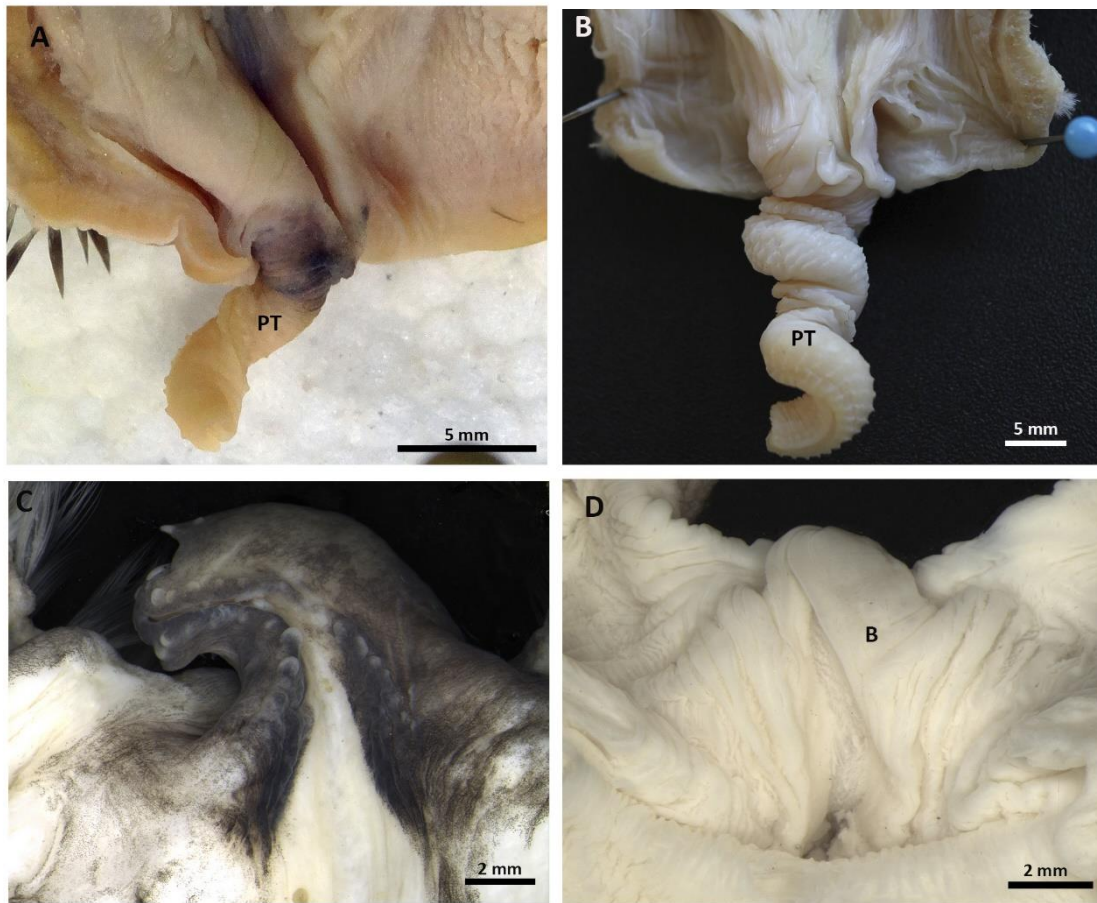


Figura 18. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A)** e **B)** Grau de espiralização da porção tubular do falo. **A)** Pouco espiralizado (uma a duas voltas). **B)** Muito espiralizado (mais de duas voltas). **C)** e **D)** Curvatura da base do falo para a esquerda. **C)** Acentuada – *Pauxi pauxi*. **D)** Leve – *Penelope obscura*. **B:** base do falo, **PT:** porção tubular do falo.

Figura 19

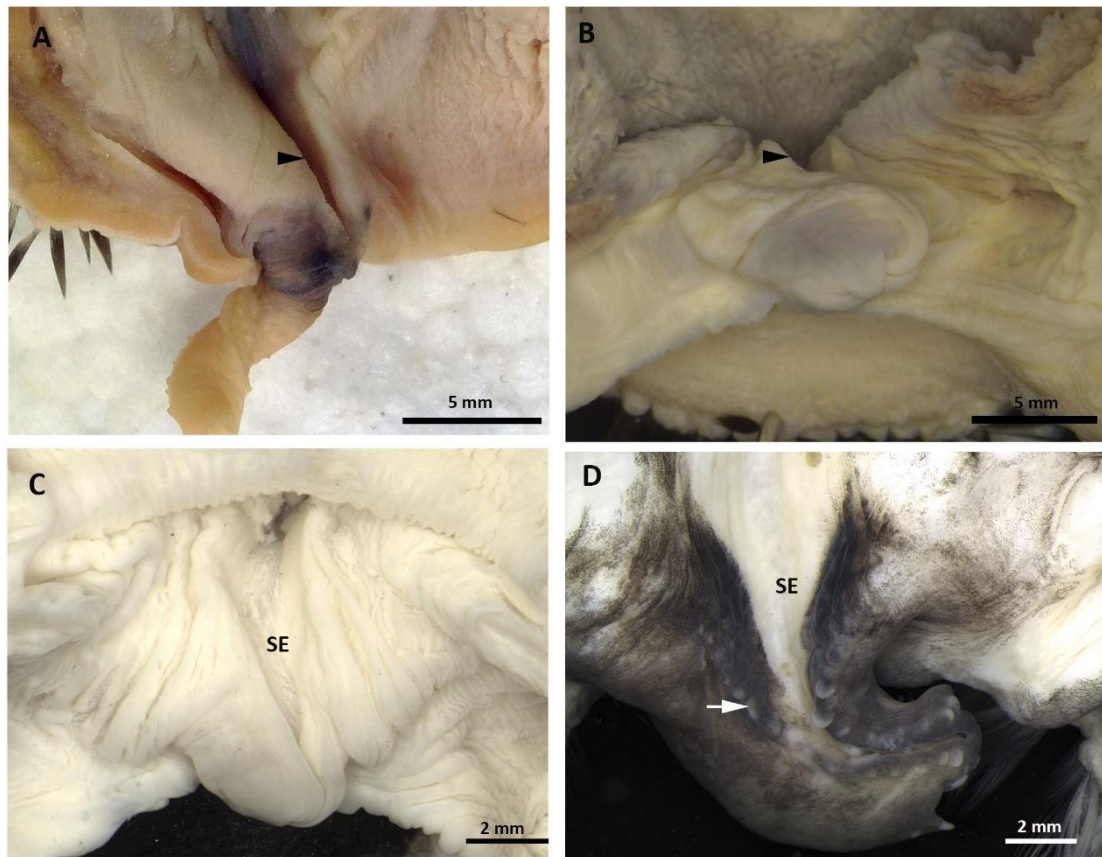


Figura 19. Cloaca e falo dissecados mostrando os diferentes estados de caracteres. **A)** e **B)** Curvatura dos lábios do sulco ejaculatório (**Cabeça-de-seta**). **A)** Suave – *Ortalis canicollis*. **B)** Tortuosa – *Pipile cujubi*. **C)** e **D)** Presença de projeções do sulco ejaculatório (**Seta**). **C)** Ausentes – *Penelope obscura*. **D)** Presentes – *Pauxi pauxi*.

Figura 20

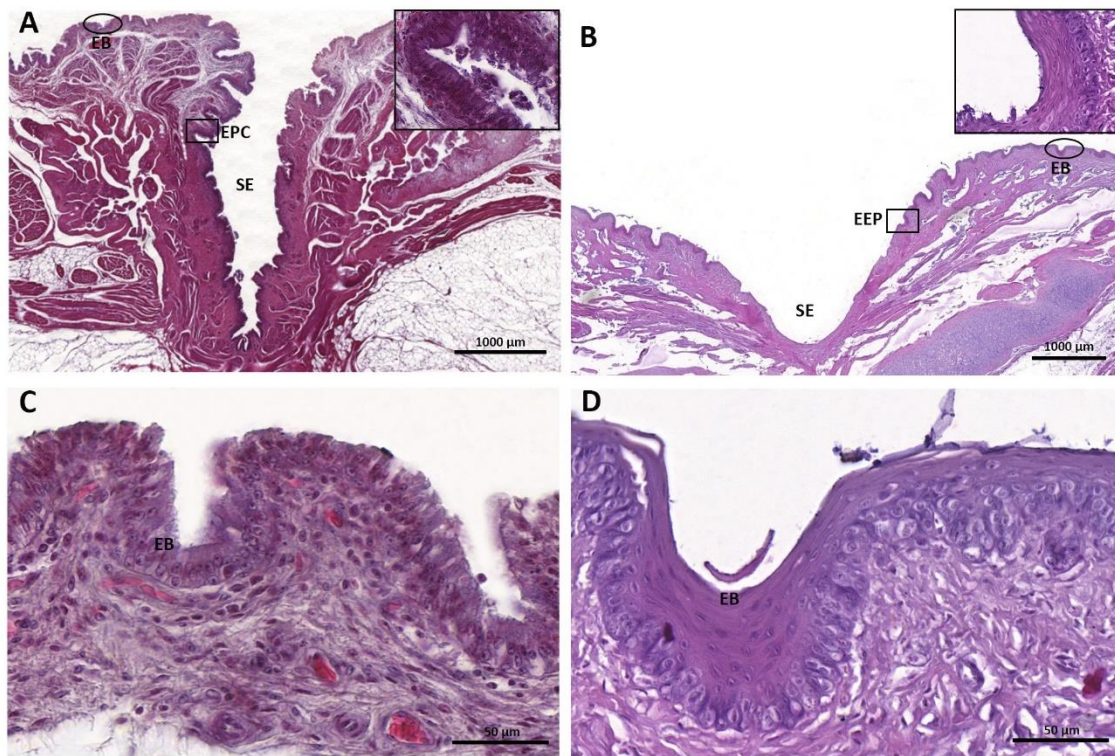


Figura 20. Corte histológico transversal do falo mostrando os diferentes estados de caracteres. **A)** e **B)** Epitélio do sulco ejacatório. **A)** Epitélio pseudoestratificado cilíndrico (**EPC**) – *Ortalis canicollis*. **B)** Epitélio estratificado pavimentoso (**EEP**) – *Crax fasciolata*. O epitélio do sulco ejacatório foi amplificado no canto superior direito. **C)** e **D)** Epitélio da base do falo. **C)** Epitélio pseudoestratificado cilíndrico – *Ortalis canicollis*. **D)** Epitélio estratificado pavimentoso – *Crax fasciolata*. **EB:** epitélio da base do falo. Corantes. A e C: Tricrômico de Masson. B e D: Hematoxilina e Eosina.

Figura 21

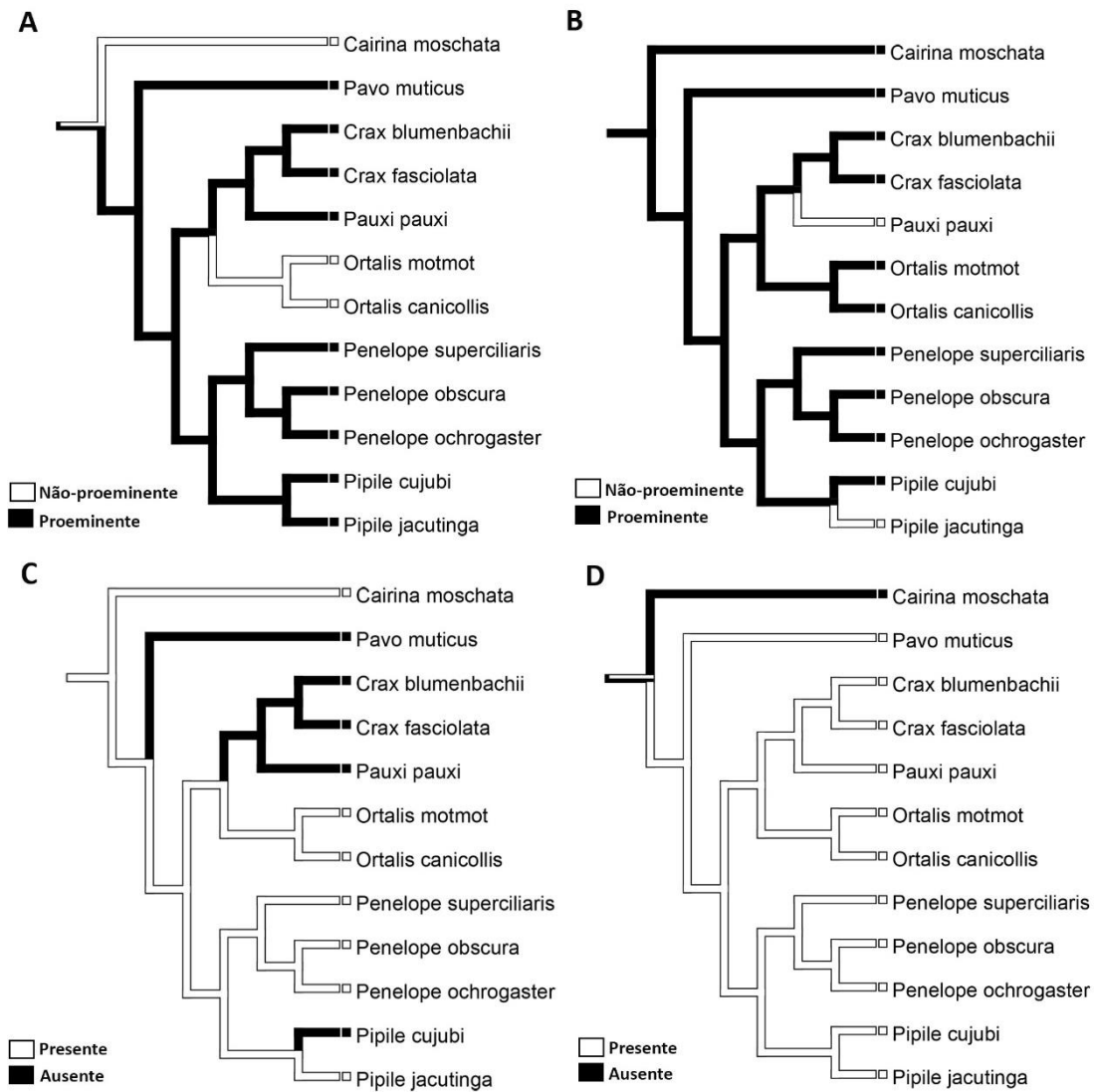


Figura 21. Reconstrução de estados ancestrais em Cracidae. **A)** Proeminência da prega coprourodeal. **B)** Proeminência da prega uroproctodeal. **C)** Presença de pregas na mucosa do coprodeu. **D)** Presença de vilosidades na mucosa do coprodeu. *Pavo muticus* (Phasianidae) e *Cairina moschata* (Anatidae) representam os grupos externos. Filogenia modificada a partir de Pereira *et al.* (2009) e Hosner *et al.* (2016).

Figura 22

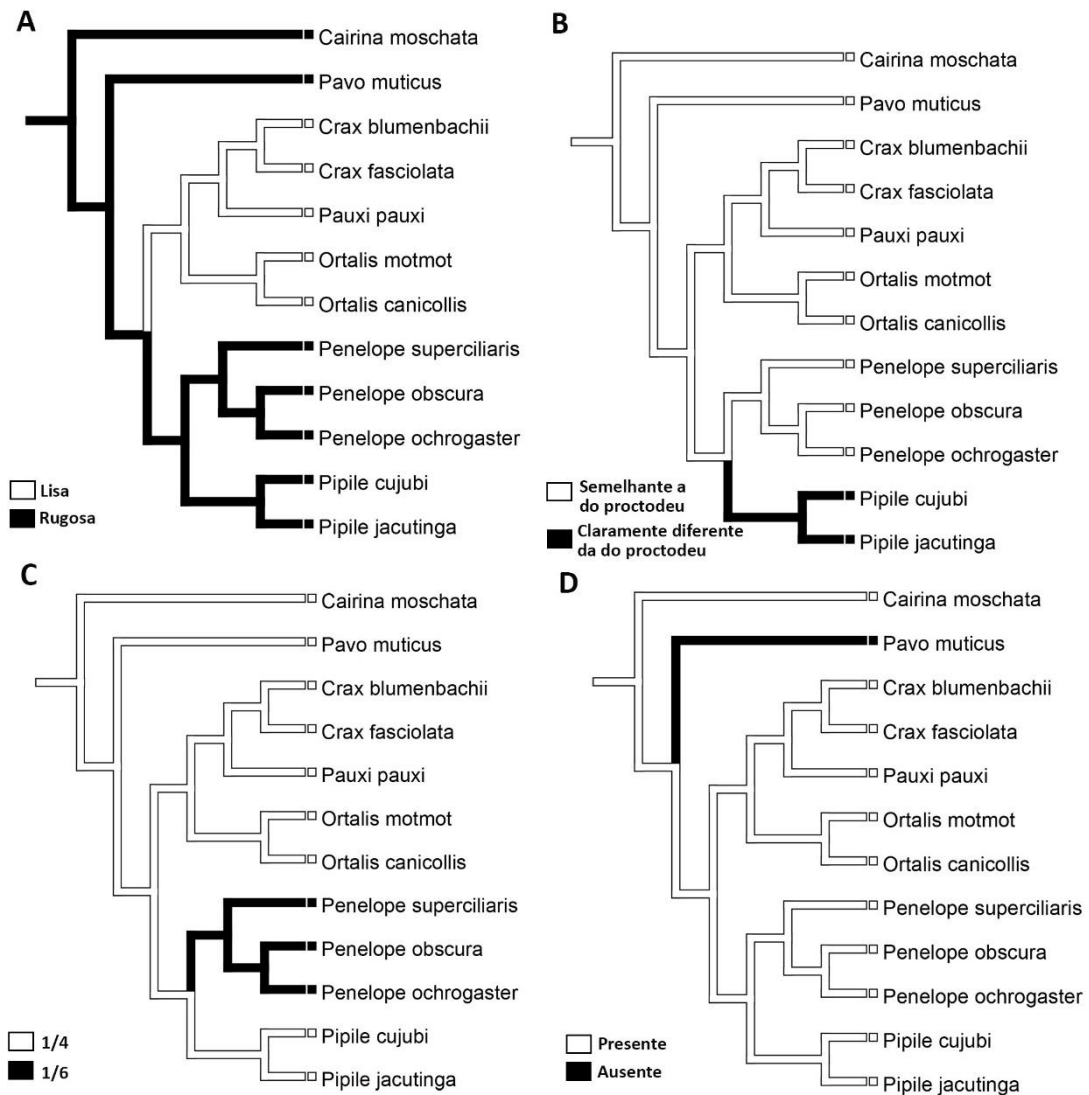


Figura 22. Reconstrução de estados ancestrais em Cracidae. **A)** Textura da mucosa do urodeu. **B)** Coloração da mucosa do coprodeu e urodeu em relação a do proctodeu. **C)** Tamanho do urodeu em relação ao coprodeu. **D)** Presença de falo. *Pavo muticus* (Phasianidae) e *Cairina moschata* (Anatidae) representam os grupos externos. Filogenia modificada a partir de Pereira *et al.* (2009) e Hosner *et al.* (2016).

Figura 23

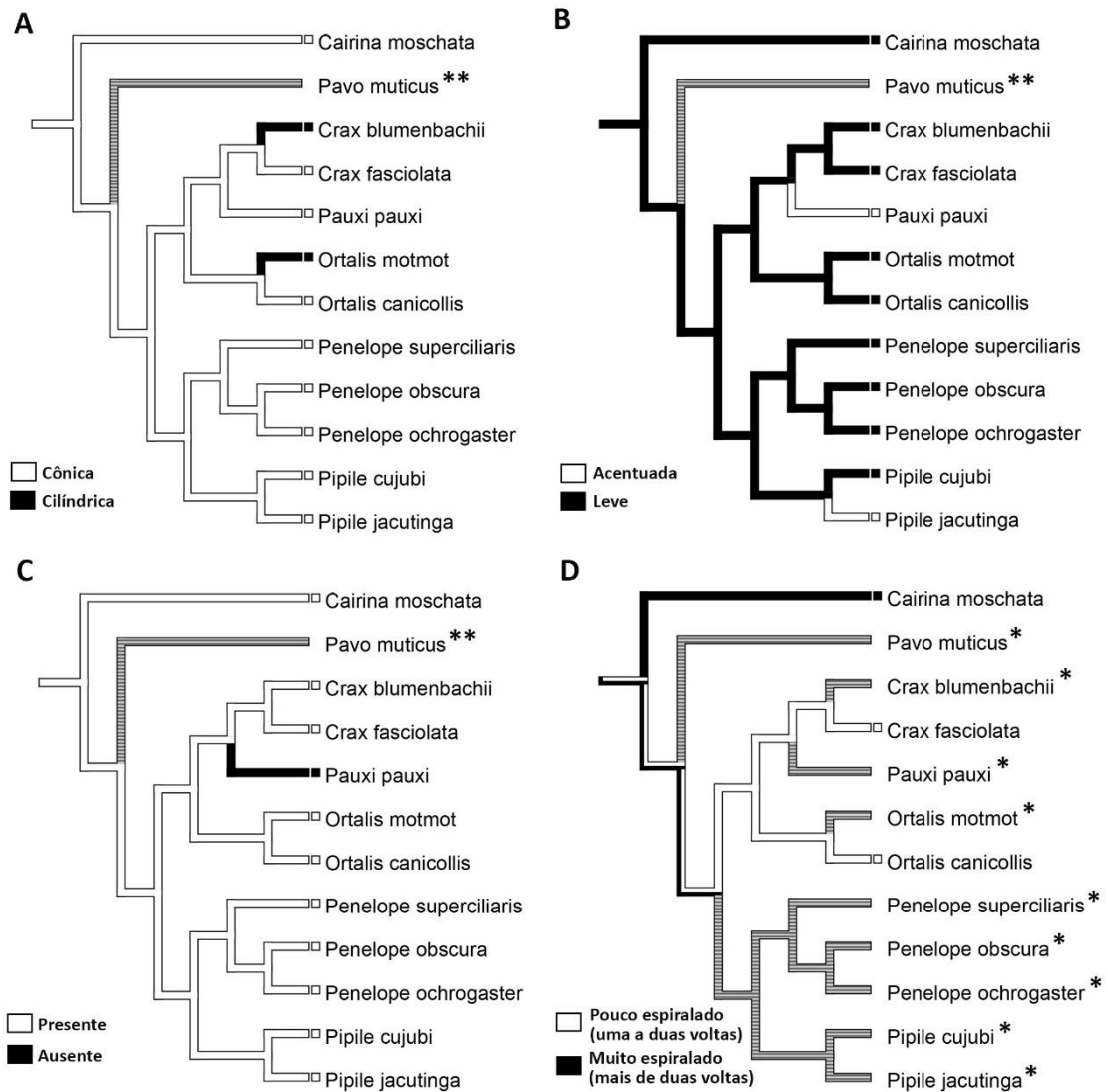


Figura 23. Reconstrução de estados ancestrais em Cracidae. **A)** Formato da base do falo. **B)** Curvatura da base do falo para a esquerda. **C)** Presença de rugosidades transversais na base do falo. **D)** Grau de espiralização da porção tubular do falo. *Pavo muticus* (Phasianidae) e *Cairina moschata* (Anatidae) representam os grupos externos. *Nessas espécies o falo não estava ereto, portanto não foi possível verificar o estado desse caráter. **Em *Pavo muticus* o falo está ausente, portanto não foi possível verificar o estado desse caráter. Filogenia modificada a partir de Pereira *et al.* (2009) e Hosner *et al.* (2016).

Figura 24

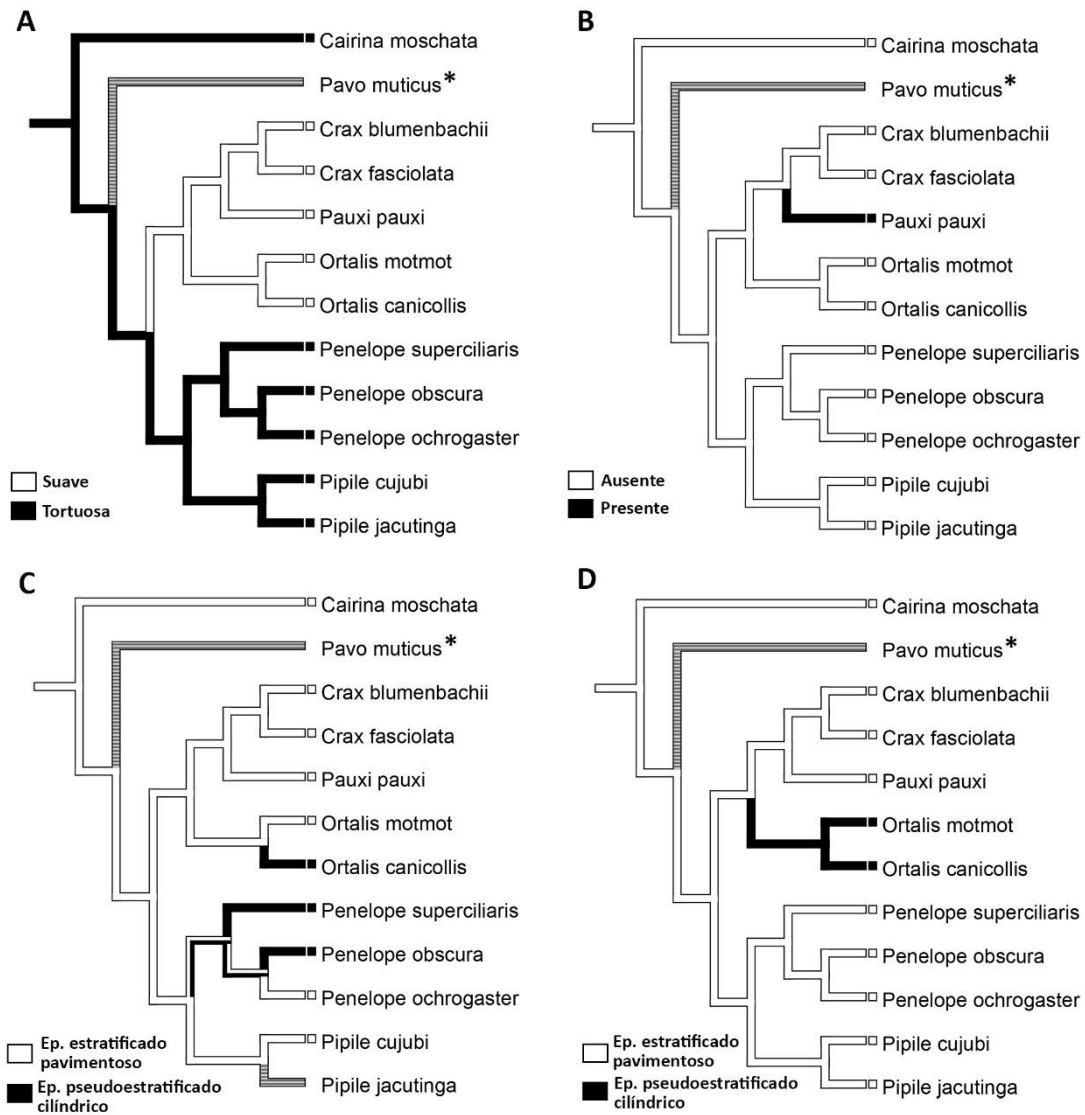


Figura 24. Reconstrução de estados ancestrais em Cracidae. **A)** Curvatura dos lábios do sulco ejaculatório. **B)** Presença de projeções do sulco ejaculatório. **C)** Epitélio do sulco ejaculatório. **D)** Epitélio da base do falo. *Pavo muticus* (Phasianidae) e *Cairina moschata* (Anatidae) representam os grupos externos. *Em *Pavo muticus* o falo está ausente, portanto não foi possível verificar o estado desse caráter. Filogenia modificada a partir de Pereira *et al.* (2009) e Hosner *et al.* (2016).

Figura 25

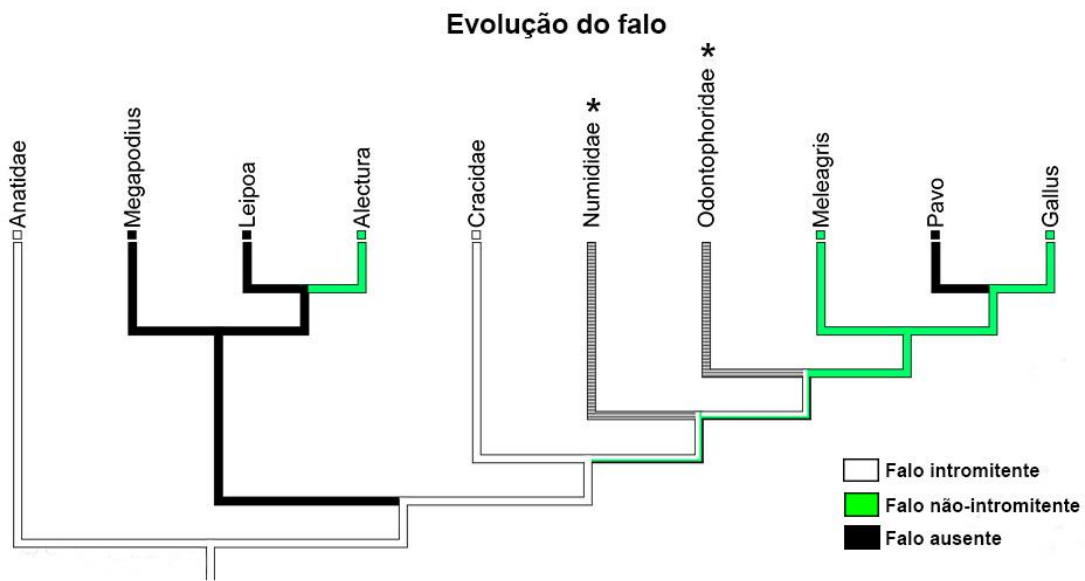


Figura 25. Reconstrução do estado ancestral da evolução do falo em Galliformes, mostrando a regressão do falo em *Pavo*. * Em Numididae e Odontophoridae os falos não foram descritos, mas de acordo com Montgomerie & Briskie (2007), eles são do tipo não-intromitente. Filogenia modificada a partir de Wang *et al.* (2013).

9. DISCUSSÃO

Estruturas fenotípicas diretamente relacionadas ao sucesso reprodutivo dos organismos, frequentemente estão submetidas às intensas pressões seletivas e tendem a evoluir em taxas superiores às encontradas nos caracteres relacionados à sobrevivência (Kingsolver *et al.*, 2001; Gonzales-Voyer & Kolm, 2011). Isso impacta a evolução destas estruturas em vários níveis, afetando tanto as características sexuais primárias, como as secundárias (Kopp & True, 2002).

Neste estudo, foram encontradas sinapomorfias anatômicas e histológicas que fornecem suporte adicional a clados previamente reconhecidos, sugerindo também que os caracteres obtidos à partir da variação morfológica presente nessas estruturas podem ser úteis para entender os padrões de relacionamento filogenético entre os Cracidae. Obtivemos uma nova sinapomorfia morfológica para a subfamília Cracinae, consistentemente reconhecida na maioria das filogenias mais recentes do grupo ou incluindo múltiplos representantes de Cracidae (Pereira, Baker & Wajntal, 2002; Pereira *et al.*, 2009; Stein, Brown & Mooers, 2015; Hosner *et al.*, 2016). A presença de curvatura suave nos lábios do sulco ejaculatório, distingue o táxon dos demais cracídeos, que apresentam tal estrutura em forma tortuosa.

Outras características, como a prega uroproctodeal não-proeminente, a base do falo com formato cilíndrico ou a curvatura acentuada da base do falo, apresentaram um padrão evolutivo homoplástico, o que sugere um processo de evolução convergente (Ghiselin, 2016). No entanto, como se tratam de organismos que compartilham um ancestral comum recente, a aparição repetida destas estruturas pode se dever também a um compartilhamento de mecanismos moleculares e do desenvolvimento que sejam comuns a estes táxons, podendo facilitar a aquisição fenotípica independente. Estes processos seriam mais precisamente classificados como paralelismos (Scotland, 2011;

Ghiselin, 2016), apesar desta distinção nem sempre ser simples teórica e empiricamente (Arendt & Reznick, 2008; Hall, 2012). O entendimento da ontogênese destes caracteres pode vir a elucidar melhor sobre os processos que geraram os padrões aqui observados.

As pregas coprourodeal e uroproctodeal se apresentaram proeminente em Cracidae, salvo algumas exceções. Essas pregas são importantes primeiramente para o controle da excreção de fezes e ácido úrico nas aves e seus formatos variam de acordo com a condição da cloaca (King, 1981a). Quando o coprodeu está com fezes, a prega coprourodeal se torna alta, mais fina e age como um diafragma. Durante a evacuação, o coprodeu juntamente com a prega coprourodeal se evertem e conduzem as fezes diretamente para a abertura cloacal, sem precisar passar através do urodeu e proctodeu (Komárek, 1970). Nesse estudo, somente em *Ortalis* a prega coprourodeal se apresentou não-proeminente, sugerindo que essa estrutura pode ser pouco necessária na evacuação das fezes dessa espécie, como ocorre em *Phalacrocorax carbo*, que não a possui (Jolly, 1915; Jacobshagen, 1937). A prega uroproctodeal apresenta função semelhante à prega coprourodeal, sendo fundamental na eliminação de excretas nitrogenados diretamente do urodeu para a abertura cloacal (King, 1981a). Sendo assim, nos cracídeos ela está desenvolvida como uma estrutura que provavelmente otimiza a excreção desses compostos.

Nas fêmeas dos cracídeos analisadas, incluindo *Ortalis*, as pregas coprourodeal se apresentaram desenvolvidas. Uma provável explicação é que as pregas coprourodeal e uroproctodeal são mais desenvolvidas em fêmeas do que em machos, sendo importante na compartimentação do coprodeu e urodeu durante a postura de ovos, para impedir a mistura dos ovos com as fezes, devido a fortes pressões abdominais (Komárek, 1971).

Em todas as espécies de Cracidae foram observadas vilosidades na mucosa do coprodeu, porém apenas em *Ortalis*, *Penelope* e *Pipile jacutinga* a mucosa é pregueada. Em *Pavo muticus*, a mucosa do coprodeu se apresenta com abundantes vilosidades, porém com ausência de pregas. Já em *Cairina moschata*, a mucosa do coprodeu se apresenta pregueada, porém sem vilosidades. De acordo com a reconstrução de estados ancestrais, a presença de pregas e vilosidades na mucosa do coprodeu são caracteres existentes nos ancestrais de Galliformes.

A presença de vilosidades e pregas na mucosa do coprodeu também foram reportadas em outros grupos de aves, como em Struthioniformes, Passeriformes, Columbiformes (Johnson & Skadhauge, 1975) e Tinamiformes (Oliveira & Mahecha, 1996). Essa organização da mucosa do coprodeu, com abundantes pregas e vilosidades, está relacionada com o aumento da superfície de reabsorção de água (Johnson & Skadhauge, 1975). Essa estrutura morfológica é bem desenvolvida em aves terrestres, como os cracídeos analisados nesse estudo. Além disso, enquanto o coprodeu de Cracidae é revestido com epitélio pseudoestratificado cilíndrico, facilitando a reabsorção de água, o coprodeu de aves aquáticas, como Anatidae, é revestido por epitélio estratificado pavimentoso, dificultando a reabsorção de água (Komárek & Marvan, 1969; Komárek, 1970).

A reconstrução de estados ancestrais de alguns caracteres, corroborou e reforçou o agrupamento de algumas subfamílias, porém a disposição do estado desses caracteres no gênero *Ortalis* nem sempre esteve de acordo com as propostas filogenéticas de Pereira *et al.* (2009) e Hosner *et al.* (2016). *Ortalis* compartilhou as mesmas condições com o clado (*Pauxi Crax*) e diferiu do clado (*Pipile Penelope*) em relação à textura da mucosa do urodeu e curvatura dos lábios do sulco ejaculatório. Já em relação à presença de pregas

na mucosa do coprodeu, *Ortalis* compartilhou este estado com o clado (*Pipile Penelope*) e diferiu de (*Pauxi Crax*).

O falo intromitente foi observado em todos os cracídeos analisados nesse estudo. *Cairina moschata* também apresentou um falo intromitente desenvolvido, porém em *Pavo muticus* não foi identificada nenhuma estrutura fállica na cloaca. Os estudos prévios com espécies da família Phasianidae, principalmente com *Gallus gallus*, *Meleagris gallopavo* e *Coturnix coturnix*, identificaram um falo na região proctodeal e o descreveram como não-intromitente (Komárek, 1970; Kudo *et al.*, 1975; Gunawardana & Scott, 1978; King, 1981b; Puigcerver *et al.*, 1993; Montgomerie & Briskie, 2007). Porém as cloacas de poucas espécies diferentes de Phasianidae foram descritas detalhadamente, havendo uma enorme lacuna no conhecimento da morfologia genital dos integrantes dessa família.

Apesar do falo intromitente ser a condição ancestral nas Aves (Montgomerie & Briskie, 2007), sendo uma estrutura homóloga nessa classe, o falo do tipo não-intromitente evoluiu independentemente três vezes e pelo menos em duas vezes, o falo desapareceu completamente na evolução das Aves (Previatto *et al.*, 2017). Mesmo não sendo escopo desse trabalho, os resultados da análises da cloaca de *Pavo muticus* sugerem uma nova evidência de regressão do falo em Galliformes (Fig. 22). Dada a grande variedade de condições do falo em Galliformes e à escassez de estudos morfológicos da cloaca e do órgão copulador, sobretudo em Odontophoridae e Numididae, novos trabalhos são fundamentais para uma melhor compreensão da evolução dessas estruturas nessa ordem.

Uma importante estrutura presente no falo de todos os cracídeos é a porção tubular do falo, também denominada como cavidade tubular cega (King, 1981b; Montgomerie &

Briskie, 2007). Quando o falo está em repouso, essa estrutura é mantida enovelada dentro da bolsa fálica, porém quando ocorre a ereção linfática, essa estrutura se everte com um formato espiralado, a partir da abertura da base do falo (Oliveira & Mahecha, 2000; Brennan *et al.*, 2007; Previatto *et al.*, 2017). O grau de espiralização varia nas diferentes espécies de Aves. Nos cracídeos estudados aqui, essa estrutura pôde ser observada apenas em duas espécies, *Crax fasciolata* e *Ortalis canicollis*, pois foram as únicas em que o falo estava no estado ereto. Nesses cracídeos, a porção tubular gira uma volta sobre o seu eixo em *O. canicollis* e uma volta e meia em *C. fasciolata*, diferente do observado em *Cairina moschata* onde essa porção gira cerca de duas voltas e meia sobre seu eixo.

Nas aves onde a seleção sexual e a competição espermática são severas, a evolução selecionou uma grande diversidade estrutural nos órgãos copuladores. Isto ocorre em muitos Anseriformes, onde os órgãos copuladores são longos e repletos de projeções na porção tubular do falo (Birkhead, Wishart & Biggins, 1995; Coker *et al.*, 2002; Brennan & Prum, 2015). E quanto maior o comprimento da porção tubular, maior é o grau de espiralização do falo. Além disso, a disputa para manter o domínio na cópula entre machos e fêmeas, é outro fator decisivo que influencia no tamanho e grau de espiralização do falo dos machos, pois para impedir esse domínio, as fêmeas foram selecionadas à espiralarem suas vaginas em sentido contrário à espiralização do falo dos machos (Brennan, 2013). Esses fatores foram muito bem estudados em Anseriformes, onde existe evidência clara de co-evolução entre as estruturas genitais de machos e fêmeas (Brennan *et al.*, 2007).

Nas espécies de aves onde as fêmeas são copuladas por vários machos, aquele que a fecunda por último geralmente fertiliza a maioria dos óvulos (Birkhead *et al.*, 1995), e isso se deve principalmente às projeções da porção tubular do falo que removem espermatozoides rivais do trato reprodutivo das fêmeas (Coker *et al.*, 2002). Sendo assim,

enquanto espécies submetidas a um elevado grau de competição espermática possuem grande área da porção tubular do falo coberta por projeções desenvolvidas, espécies submetidas à competições espermáticas menos intensas, apresentam essas projeções menores e cobrindo uma área menor da porção tubular do falo (Coker *et al.*, 2002). Ainda, em vários grupos de Amniotas estão presentes estruturas nos órgãos copuladores, como espinhos e projeções, que aumentam a fricção entre o trato reprodutivo de machos e fêmeas, auxiliando na manutenção da cópula (Lange *et al.*, 2013; Kelly, 2016), indução da ovulação (Chandler, Gaskell & Gaskell, 2004) e remoção de espermatozoides rivais (Friesen *et al.*, 2016).

Os cracídeos são geralmente considerados monogâmicos (Del Hoyo, Elliot & Sargatal, 1994; Delacour & Amadon, 2004), porém alguns estudos reportaram duas ou mais fêmeas de *Crax daubentoni* (Del Hoyo *et al.*, 1994), *C. globulosa* (Hill, Aranibar-Rojas & Macleod, 2008; Luna-Maira *et al.*, 2013; Leite *et al.*, 2017), *C. blumenbachii* (Srbek-Araujo, Silveira & Chiarello, 2012) e *Penelope superciliais* (Toledo-Lima *et al.*, 2013) caminhando com um único macho, sugerindo que estas espécies apresentam hábitos poligínicos. Porém nenhum estudo registou a ocorrência de vários machos cortejando uma mesma fêmea. Nos cracídeos analisados nesse estudo, as projeções da porção tubular estavam dispostas por uma área relativamente maior em *Crax fasciolata* quando comparado com *Ortalis canicollis*, além disso, enquanto em *O. canicollis* as projeções são menores e apresentam apenas formato cônico, em *C. fasciolata* elas são maiores e apresentam formato cônico e serrilhado. Dessa forma, de acordo com o grau de espiralização e as características morfológicas das projeções da porção tubular do falo, os resultados observados nesse estudo sugerem que a competição espermática e a seleção sexual podem ter sido mais intensas nos ancestrais de *Crax* do que de *Ortalis*. Entretanto, como ainda não foram reportados cópulas de uma mesma fêmea por mais de um macho,

novos estudos de comportamento sexual e da morfologia do órgão copulador de cracídeos são necessários para corroborar essa hipótese.

Em *P. pauxi*, apenas o falo não ereto foi estudado, porém essa espécie apresentou projeções no sulco ejaculatório da base do falo, sendo uma autapomorfia para esse táxon. Não há relatos na literatura sobre a presença dessas estruturas em outras aves, porém ela provavelmente deve ter a função de remoção de espermatozoides rivais, como ocorre em outras aves (Coker *et al.*, 2002). Se o falo ereto de *P. pauxi* apresentar as projeções na porção tubular do falo, semelhante ao observado em *O. canicollis* e *C. fasciolata*, a presença dessas projeções, tanto no sulco ejaculatório da base quanto na porção tubular do falo, poderiam indicar uma competição espermática mais acirrada em *Pauxi*. Porém, para confirmar essa hipótese é necessário analisar o falo ereto dessa espécie.

Nesse estudo, as fêmeas de cracídeos apresentaram dobras proctodeais na região correspondente ao local de origem do falo nos machos. Essas dobras também foram observadas em outros Galliformes e Anseriformes em época reprodutiva (Gerhardt, 1933; Komárek, 1971). Em avestruzes, as fêmeas possuem um clitóris ou falo feminino (Von Müller, 1836; King, 1981b), homólogo e com morfologia semelhante ao falo do macho, mas é reduzido e não se protrai a partir da cloaca (Gerhardt, 1933). A função desse falo feminino ou das dobras proctodeais ainda é pouco compreendida na literatura, mas podem estar relacionados com a excitação das aves durante a cópula (Montgomerie & Briskie 2007).

Por fim, analisando a evolução das cloacas e órgãos copuladores de Cracidae, encontramos informações que permitem uma maior compreensão dos processos evolutivos relacionados à história evolutiva sexual da família, tanto em forma de suporte filogenético adicional para grupos já estabelecidos, mas também em relação à aquisição independente de padrões morfológicos similares. Ainda, as descrições dos caracteres

anatômicos da cloaca e do falo de Cracidae apresentaram mais variáveis quando comparados com os histológicos, sendo nesse caso ainda mais úteis para o entendimento de sua evolução na família e por providenciar mais caracteres para serem utilizados em estudos de sistemática filogenética.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arendt, J. & Reznick, D. (2008). Convergence and parallelism reconsidered: what have we learned about the genetics of adaptation? *Trends in Ecology & Evolution* **23**, 26–32.
- Birkhead, T.R., Wishart, G.J. & Biggins, J.D. (1995). Sperm precedence in the domestic fowl. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **261**, 285–292.
- Brennan, P.L.R. (2013). Genital evolution: cock-a-doodle-don't. *Current biology* **23**, R523-5.
- Brennan, P.L.R., Birkhead, T.R., Zyskowski, K., Waag, J. Van Der & Prum, R.O. (2008). Independent evolutionary reductions of the phallus in basal birds. *Journal of Avian Biology* **39**, 487–492.
- Brennan, P.L.R. & Prum, R.O. (2011). The erection mechanism of the ratite penis. *Journal of Zoology* **286**, 140–144.
- Brennan, P.L.R. & Prum, R.O. (2015). Mechanisms and Evidence of Genital Coevolution: The Roles of Natural Selection, Mate Choice, and Sexual Conflict. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **7**, a017749.
- Brennan, P.L.R., Prum, R.O., McCracken, K.G., Sorenson, M.D., Wilson, R.E. &

- Birkhead, T.R. (2007). Coevolution of male and female genital morphology in waterfowl. *PloS one* **2**, e418.
- Briskie, J. & Montgomerie, R. (1997). Briskie and Montgomerie (1997) Sexual selection and intromittent organ of birds.pdf. *Journal of Avian Biology* **28**, 73–86.
- Chandler, E.A., Gaskell, R.M. & Gaskell, C.J. (2004). *Feline medicine and therapeutics, 3rd edn*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Coker, C.R., McKinney, F., Hays, H., Briggs, S. V. & Cheng, K.M. (2002). Intromittent Organ Morphology and Testis Size in Relation To Mating System in Waterfowl. *The Auk* **119**, 403–413.
- Delacour, J. & Amadon, D. (2004). *Curassows and related birds, sec. ed.* Barcelona and New York: Lynx Edicions and the National Museum of Natural History.
- Friesen, C.R., Uhrig, E.J., Mason, R.T. & Brennan, P.L.R. (2016). Female behaviour and the interaction of male and female genital traits mediate sperm transfer during mating. *Journal of Evolutionary Biology* **29**, 952–964.
- Gadow, H. (1887). Remarks on the Cloaca and on the Copulatory Organs of the Amniota. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **178**, 5–37.
- Gadow, H. & Selenka, E. (1891). Vögel: Anatomischer Theil. In *Bronn's klassen und ordnungen des Thier-Reichs*. Vol. 6 Winter. Leipzig.
- Gerhardt, U. (1933). Kloake und Begattungsorgane. In *Hanbuch der vergleichenden anatomie der wirbeltiere.*: 267–350. Bolk, L., Goppert, E., Kallius, E. & Lubosch, W. (Eds). Berlin.
- Ghiselin, M. (2016). Homology, convergence and parallelism. *Philosophical*

Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences **371**, 20150035.

Gill, F. & Donsker, D. (2017). IOC World Bird List (v 7.2). [WWW Document]. URL <http://www.worldbirdnames.org/>.

Gonzales-Voyer, A. & Kolm, N. (2011). Rates of phenotypic evolution of ecological characters and sexual traits during the Tanganyikan cichlid adaptive radiation. *Journal of evolutionary biology* **24**, 2378–2388.

Gunawardana, V.K. & Scott, G.A.D. (1978). On the structure of the vascular body in the domestic fowl. *Journal of anatomy* **127**, 447–457.

Hall, B.K. (2012). Parallelism, deep homology, and evo-devo. *Evolution and Development* **14**, 29–33.

Hill, D.L., Aranibar-Rojas, H. & Macleod, R. (2008). Wattled Curassows in Bolivia: abundance, habitat use, and conservation status. *Journal of Field Ornithology* **79**, 345–351.

Hosner, P.A., Braun, E.L. & Kimball, R.T. (2016). Rapid and recent diversification of curassows, guans, and chachalacas (Galliformes: Cracidae) out of Mesoamerica: Phylogeny inferred from mitochondrial, intron, and ultraconserved element sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **102**, 320–330.

Del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (1994). Family Cracidae. In *Handbook of the birds of the world. New World vultures to guineafowl*: 310–364. Barcelona: Lynx Editions.

Jacobshagen, E. (1937). Mittle- und Endarm. In *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere*: 563–724. Bolk, L., Kallius, E. & Lubosch, W. (Eds). Berlin: Urban und Schwarzenberg.

- Johnson, O.W. & Skadhauge, E. (1975). Structural-functional correlations in the kidneys and observations of colon and cloacal morphology in certain Australian birds. *Journal of anatomy* **120**, 495–505.
- Jolly, J. (1915). La bourse de Fabricius et les organes lympho- epitheliaux. *Archives D'Anatomie Microscopique Et De Morphologie Experimentale* **16**, 363–547.
- Kelly, D.A. (2016). Intromittent Organ Morphology and Biomechanics: Defining the Physical Challenges of Copulation. *Integrative and Comparative Biology* **56**, 705–714.
- King, A.S. (1981a). Cloaca. In *Form and function in birds*: 63–105. King, A.S. & McLelland, J. (Eds). London: Academic press.
- King, A.S. (1981b). Phallus. In *Form and function in birds*: 107–147. King, A.S. & McLelland, J. (Eds). London: Academic press.
- King, A.S. (1993). Apparatus urogenitalis. In *Handbook of Avian Anatomy: Nomina Anatomica Avium*: 329–397. Baumel, J.J., King, A.S., Breazile, J.E.H.E., Evans, H.E. & Vanden Berge, J.C. (Eds). Cambridge, Massachusetts: Nuttall Ornithological Club.
- Kingsolver, J.G., Hoekstra, H.E., Hoekstra, J.M., Berrigan, D., Vignieri, S.N., Hill, C.E., Hoang, A., Gibert, P. & Beerli, P. (2001). The strength of phenotypic selection in natural populations. *The American Naturalist* **157**, 245–261.
- Knight, C.E., Bakst, N.R. & Cecil, H.C. (1984). Anatomy of the corpus vasculare paracloacale of the male turkey. *Poult Sci.* **63**, 1883–1891.
- Knight, C.E., Lucas, A.M. & Ringer, R.K. (1969). Anatomy of structures involved in the

- production of seminal fluids in the chicken. *Poultry Science* **48**, 1830–1831.
- Komárek, V. (1970). The cloaca of the turkey-cock and of the cock. *Acta Veterinaria Brno* **39**, 227–234.
- Komárek, V. (1971). The female cloaca of anseriform and galliform birds. *Acta Veterinaria Brno* **40**, 13–22.
- Komárek, V. & Marvan, F. (1969). Beitrag zur mikroskopischen Anatomie des Kopulationsorganes der Entesvögel. *Anatomischer Anzeiger* **124**, 467–476.
- Kopp, A. & True, J.R. (2002). Evolution of male sexual characters in the oriental *Drosophila melanogaster* species group. *Evolution & Development* **4**, 278–291.
- Kudo, N., Sugimura, M. & Yamano, S. (1975). Anatomical studies of corpus paraclacalis vascularis in cocks. *Japanese Journal of Veterinary Research* **23**, 1–10.
- Lange, R., Reinhardt, K., Michiels, N.K. & Anthes, N. (2013). Functions, diversity, and evolution of traumatic mating. *Biological Reviews* **88**, 585–601.
- Leite, G.A., Farias, I.P., Peres, C.A. & Brooks, D.M. (2017). Reproductive biology of the endangered wattled curassow (*Crax globulosa*; Galliformes: Cracidae) in the Juruá River Basin, Western Brazilian Amazonia. *Journal of Natural History* **51**, 677–687.
- Luna-Maira, L., Alarcón-Nieto, G., Haugaasen, T. & Brooks, D.M. (2013). Habitat use and ecology of Wattled Curassows on islands in the lower Caquetá River, Colombia. *Journal of Field Ornithology* **84**, 23–31.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. (2017). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. 3.2.

- Montgomerie, R. & Briskie, J.V. (2007). Anatomy and evolution of copulatory structures. In *Reproductive biology and phylogeny of birds. Part A: Phylogeny, morphology, hormones and fertilization*: 115–148. Jamieson, B.G.M. (Ed). Enfield, NH: Science Publishers.
- Von Müller, J. (1836). Über zwei verschiedene typen in dem bau der erectilen männlichen geschlechtsorgane bei den straufsartigen vögeln und über die entwicklungsformen dieser organe unter den wirbelthieren überhaupt. *Akademisch Wissenschaft Physicalische Abhandlugen* 137–177.
- Oliveira, C.A. & Mahecha, G.A.B. (1996). Cloacal morphology of *Nothura maculosa* (Temminck, 1815), Aves tinamiformes. *Annals of Anatomy* **178**, 471–476.
- Oliveira, C.A. & Mahecha, G.A.B. (2000). Morphology of the copulatory apparatus of the spotted tinamou *Nothura maculosa* (Aves: Tinamiformes). *Annals of Anatomy* **182**, 161–169.
- Oliveira, C.A., Silva, R.M., Santos, M.M. & Mahecha, G.A.B. (2004). Location of the ureteral openings in the cloacas of tinamous, some ratite birds, and crocodylians: a primitive character. *Journal of morphology* **260**, 234–246.
- Pereira, S.L., Baker, A.J. & Wajntal, A. (2002). Combined nuclear and mitochondrial DNA sequences resolve generic relationships within the Cracidae (Galliformes, Aves). *Systematic biology* **51**, 946–958.
- Pereira, S.L., Baker, A.J. & Wajntal, A. (2009). Did increased taxon and character sampling really reveal novel intergeneric relationships in the Cracidae (Aves : Galliformes)? *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **47**, 103–104.

- Previatto, D.M., Gonçalves, G.L., Ortiz, M.C., Melo-Soares, C.D. & Posso, S.R. (2017). Morphology of the copulatory organ in *Ortalis canicollis* (Aves: Cracidae) and early evolution of the phallus in birds. *Acta Zoologica* **0**, 1–10.
- Puigcerver, M., Gallego, S., Rodríguez-Teijeiro, J.D. & Rodrigo-Rueda, F.J. (1993). Presence of penis in the european quail *Coturnix C. coturnix*. *Miscellaneous Zoology* **17**, 288–291.
- Scotland, R.W. (2011). What is parallelism? *Evolution & Development* **13**, 214–227.
- Srbek-Araujo, A.C., Silveira, L.F. & Chiarello, A.G. (2012). The Red-Billed Curassow (*Crax blumenbachii*): Social Organization, and Daily Activity Patterns. *The Wilson Journal of Ornithology* **124**, 321–327.
- Stein, R.W., Brown, J.W. & Mooers, A.O. (2015). A molecular genetic time scale demonstrates Cretaceous origins and multiple diversification rate shifts within the order Galliformes (Aves). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **92**, 155–164.
- Toledo-Lima, G.S., Oliveira-Junior, T.M., Macario, P., Oliveira, D. V. & Pichorim, M. (2013). Notes on reproductive biology of two species of cracids in northeastern Brazil. *The Wilson Journal of Ornithology* **125**, 665–669.
- Wang, N., Kimball, R.T., Braun, E.L., Liang, B. & Zhang, Z. (2013). Assessing phylogenetic relationships among galliformes: a multigene phylogeny with expanded taxon sampling in Phasianidae. *PloS one* **8**, e64312.
- Wolfson, A. (1954). Notes on the cloacal protuberance, seminal vesicles, and a possible copulatory organ in male passerine birds. *Bulletin of the Chicago Academy of Sciences* **10**, 1–23.

Yamano, S. (1981). Development of the corpus vasculare paracloucaale in the male chick embryo. *Japanese Journal of Veterinary* **43**, 459–468.

11. ANEXOS

Anexo 1. Catálogo com os espécimes utilizados nesse estudo.

Espécie	Ident.	Sexo	Local	Óbito	Fixação	Tombamento
1- <i>Pipile cunjubi</i>	AC1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	07/2014	Formol	LESCAN
2- <i>Pipile cunjubi</i>	AC2	F	Criadouro de Aves Poços de Caldas	07/2014	Formol	LESCAN
3- <i>Pipile cunjubi</i>	AC3	F	Museu de Zoologia da USP	05/2014	Formol	LESCAN
4- <i>Pipile cunjubi</i>	AC4	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	07/2014	Formol	LESCAN
5- <i>Pipile cumanensis</i>	ACm1	F	Criadouro de Aves Poços de Caldas	07/2014	Formol	LESCAN
6- <i>Pipile jacutinga</i>	AJ1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
7- <i>Pipile jacutinga</i>	AJ2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
8- <i>Pipile jacutinga</i>	AJ3	F	Criadouro de Aves Poços de Caldas	05/2014	Formol	LESCAN
9- <i>Pipile jacutinga</i>	AJ4	M	Museu de Zoologia da USP	05/2014	Formol	LESCAN
10- <i>Crax fasciolata</i>	CF1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Bouin	LESCAN
11- <i>Crax fasciolata</i>	CF2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN

12- <i>Crax fasciolata</i>	CF3	M	Sorocaba	04/2014	Formol	LESCAN
13- <i>Crax fasciolata</i>	CF4	M	Museu de Zoologia da USP	05/2014	Formol	LESCAN
14- <i>Crax fasciolata</i>	CF5	M	Pantanal	12/2016	Formol	LESCAN
15- <i>Crax blumenbachii</i>	CB1	M	Zoológico BH	10/2013	Formol	LESCAN
16- <i>Crax blumenbachii</i>	CB2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
17- <i>Crax blumenbachii</i>	CB2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
18- <i>Mitu mitu</i>	PM1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
19- <i>Mitu mitu</i>	PM2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas		Formol	LESCAN
20- <i>Mitu mitu</i>	PM3	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
21- <i>Ortalis canicollis</i>	OC1	M	Pantanal - Corumbá	09/2013	Formol	LESCAN
22- <i>Ortalis canicollis</i>	OC2	M	Pantanal - Corumbá	09/2013	Formol	LESCAN
23- <i>Ortalis canicollis</i>	OC3	M	Pantanal - Corumbá	09/2013	Formol	LESCAN
24- <i>Ortalis canicollis</i>	OC4	M	Pantanal - Corumbá	09/2013	Formol	LESCAN
25- <i>Ortalis canicollis</i>	OC5	M	Pantanal - Corumbá	07/2013	Formol	LESCAN
26- <i>Ortalis canicollis</i>	OC6	F	Pantanal - Corumbá	07/2013	Formol	LESCAN
27- <i>Ortalis canicollis</i>	OC7	M	Pantanal - Corumbá	09/2013	Formol	LESCAN
28- <i>Ortalis canicollis</i>	OC8	M	Pantanal - Corumbá	11/2016	Formol	LESCAN
29- <i>Ortalis canicollis</i>	OC9	F	Pantanal - Corumbá	11/2016	Formol	LESCAN

30- <i>Ortalis gutata</i>	OG1	F	Zoológico Municipal de Sorocaba	05/2015	Formol	LESCAN
31- <i>Ortalis motmot</i>	OM1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
32- <i>Pauxi pauxi</i>	PP1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	10/2013	Formol	LESCAN
33- <i>Pauxi pauxi</i>	PP2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
34- <i>Pauxi pauxi</i>	PP3	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
35- <i>Pauxi tomentosa</i>	PT2	F	Museu de Zoologia da USP	05/2014	Formol	LESCAN
36- <i>Pauxi tuberosa</i>	PTb1	F	Zoológico de Belo Horizonte	10/2013	Formol	LESCAN
37- <i>Penelope superciliaris</i>	PS1	M	Estação Ecológica da UFMG - BH	12/2013	Bouin	LESCAN
38- <i>Penelope superciliaris</i>	PS2	M	Estação Ecológica da UFMG - BH	12/2015	Formol	LESCAN
39- <i>Penelope superciliaris</i>	PS3	M	Estação Ecológica da UFMG - BH	10/2015	NBF	LESCAN
40- <i>Penelope superciliaris</i>	PS4	M	Estação Ecológica da UFMG - BH	10/2015	NBF	LESCAN
41- <i>Penelope superciliaris</i>	PS5	F	Estação Ecológica da UFMG - BH	01/2016	NBF	LESCAN
42- <i>Penelope superciliaris</i>	PS6	F	Criadouro de Ave Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
43- <i>Penelope superciliaris</i>	PS7	M	Museu de Zoologia da USP	05/2014	Formol	LESCAN

44- <i>Penelope obscura</i>	PO1	M	Zoológico de Sorocaba	06/2014	Formol	LESCAN
45- <i>Penelope obscura</i>	PO2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	05/2014	Formol	LESCAN
46- <i>Penelope ochrogaster</i>	POc1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
47- <i>Penelope ochrogaster</i>	POc2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
48- <i>Pavo muticus</i>	PM1	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
49- <i>Pavo muticus</i>	PM2	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
50- <i>Pavo muticus</i>	PM3	M	Criadouro de Aves Poços de Caldas	08/2014	Formol	LESCAN
51- <i>Cairina moschata</i>	CM1	M	Belo Horizonte		NBF	Lab. de Biologia da Reprodução
52- <i>Cairina moschata</i>	CM2	M	Belo Horizonte		NBF	Lab. de Biologia da Reprodução
53- <i>Cairina moschata</i>	CM3	M	Belo Horizonte		NBF	Lab. de Biologia da Reprodução