### **UFRRJ**

# INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

#### **TESE**

MORFOLOGIA COMPARADA DO PÊNIS DE Cerdocyon thous (Linnaeus, 1766) E Lycalopex gymnocercus (G. Fischer, 1814)

CARLOS AUGUSTO DOS SANTOS SOUSA



# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

MORFOLOGIA COMPARADA DO PÊNIS DE Cerdocyon thous (Linnaeus, 1766) E Lycalopex gymnocercus (G. Fischer, 1814)

#### CARLOS AUGUSTO DOS SANTOS SOUSA

Sob a Orientação do Professor

Dr. Marcelo Abidu Figueiredo

e Coorientação da Professora

Dra. Lycia de Brito Gitirana

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Biologia Animal**, área de concentração Biodiversidade Animal, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ Julho de 2021

## Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

# Ficha catalográfica elaborada com os dados fornecidos pelo autor

```
Sousa, Carlos Augusto dos Santos, 1986-

8725m Morfologia comparada do pênis de Cerdocyon thous
(Linnaeus, 1766) e Lycalopex gymnocercus (G. Fischer,
1814) / Carlos Augusto dos Santos Sousa. - Angra dos
Reis, 2021.
66 f.: il.

Orientador: Marcelo Abidu Figueiredo.
Coorientador: Lycia de Brito Gitirana.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós graduação em Biologia
Animal, 2021.
```

1. Canídeos. 2. Histoarquitetura. 3. Órgão copulatório. I. Abidu Figueiredo, Marcelo , 1968-, orient. II. de Brito Gitirana, Lycia, 1958-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós graduação em Biologia Animal. IV. Título.

O presente estudo foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

#### Carlos Augusto dos Santos Sousa

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biologia Animal, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Prof. Dr. Marcelo Abidu Figueiredo (orientador)
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – Seropédica/RJ

Prof. Dr. Maurício Alves Chagas
Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói/MG

Prof. Dr. Paulo Souza Júnior
Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Uruguaiana/RS

Prof. Dr. Yuri Karaccas de Carvalho
Universidade Federal do Acre (UFAC) – Rio Branco/AC

Prof. Dr. André Rodrigues da Cunha Barreto Vianna Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Palotina/PR

Dedico este trabalho a minha esposa, companheira e amiga Letícia e ao nosso filho Miguel, com todo amor.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela saúde, fé e perseverança que nunca me abandonaram e, mesmo que os dias tivessem um sabor amargo, a certeza de dias melhores, não me faltaram.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Abidu Figueiredo, pela amizade ao longo de toda esta trajetória, pela confiança depositada, pelos ensinamentos, pela oportunidade de trabalho nas pesquisas desenvolvidas no LEPeMADS. Por ser um dos grandes incentivadores da minha investidura no exercício do magistério. Obrigado, Professor!

À minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Lycia de Brito Gitirana, pela contribuição intelectual e pela disponibilidade em me receber no Laboratório de Histologia Integrativa da Universidade Federal do Rio de janeiro.

Ao Professor Maurício Alves Chagas pelo incentivo e disponibilidade em contribuir com o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Professor Paulo Souza Júnior pela amizade, pela doação do material que motivou o desenvolvimento desta pesquisa e por toda a parceria nestes anos, na área de Anatomia Animal.

Ao Professor Francisco Gérson de Araújo pela disponibilidade e resolutividade frente às demandas que se apresentaram nesses quase sete anos como discente e a todos os Professores do Programa de Pós-graduação em Biologia Animal da UFRRJ pelos valiosos ensinamentos ao longo da Pós-graduação.

À minha amada esposa, companheira e amiga Letícia e ao nosso filho Miguel por estarem sempre ao meu lado, compartilhando das alegrias e dos momentos difíceis, por me fazerem acreditar todos os dias que a vida vale a pena, por "aquecer" o coração e alma. Minhas vitórias são suas.

Aos meus pais Osmar e Maria Celda que mesmo distantes se fazem presentes em todos os momentos de minha vida, pelo amor que forneceu os alicerces para construir meus sonhos e pela torcida que faz vibrar e encorajar-me em todos os momentos de dificuldade.

Aos amigos da Universidade Federal do Acre que estiveram comigo nesta etapa da minha vida e não pouparam esforços para tornar a estada mais suave e feliz.

Aos membros da banca examinadora por terem aceitado ao convite, dispondo parte do seu tempo para contribuir neste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente incentivaram e contribuíram para a realização deste trabalho.



#### **RESUMO**

SANTOS-SOUSA, Carlos Augusto. **Morfologia comparada do pênis de** *Cerdocyon thous* (**Linnaeus, 1766**) e *Lycalopex gymnocercus* (**G. Fischer, 1814**). 2021. 66p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

Apesar de ser uma família muito heterogênea, os canídeos podem ser vulgarmente separados em dois tipos distintos: os cachorros, lobos e chacais e em raposas e graxains. São espécies importantes na modulação da estruturação de comunidades biológicas e frequentemente encontradas em criatórios e jardins zoológicos. O objetivo deste estudo foi caracterizar os aspectos macroscópicos, microscópicos e histomorfométricos dos pênis de C. thous e L. gymnocercus, de modo a contribuir com informações que possam subsidiar o manejo reprodutivo em cativeiro e favorecer a conduta clínica que envolvam este órgão. Foram utilizados 14 cadáveres, machos e adultos (sete C. thous e sete L. gymnocercus). Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito e sua parede torácica foi dissecada permitindo o acesso a aorta torácica, que foi devidamente canulada para a fixação com solução de formaldeído a 10%. Posteriormente, os animais foram dissecados e as regiões anatômicas, bem como, as estruturas de estática do pênis de ambas as espécies foram registradas e identificadas. Para a caracterização macroscópica 2 pênis de cada espécie foram cortados: uma secção sagital e uma transversal em diferentes regiões para exame ao microscópio estereoscópico. Os 10 pênis remanescentes tiveram clivadas a região do corpo do pênis (5 de cada espécie) e foram submetidos ao processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. De cada amostra foram feitos 5 cortes com 5 micrometros de espessura cada, para cada tipo de coloração. As colorações de hematoxilina-eosina, Tricrômico de Mallory, orceína e Picrosirius red permitiram a caracterização dos elementos da matriz extracelular. A técnica de imunohistoquimica com anticorpo anti-alfa-actina foi realizada para a marcação das células musculares. A raiz, o corpo e a glande foram identificados como as regiões anatômicas dos pênis destas espécies. As áreas penianas (a área total do pênis, área do corpo cavernoso, área do corpo esponjoso e área luminal da uretra) foram mensuradas e os valores expressos em mm². A área luminal da uretra de C. thous e L. gymnocercus mediu  $0.089 \pm 0.048$ , e  $0.095 \pm 0.037$ , respectivamente (P = 0.8177). A área total do pênis em C. thous mediu  $(26,981 \pm 4,842)$  e em L. gymnocercus  $(20,228 \pm 5,245)$ (P = 0,0673). A área do corpo cavernoso de C. thous foi significativamente maior (9,929  $\pm$ 2,607) que a de *L. gymnocercus* (6,083  $\pm$  1,048) (P = 0,0156). A área de corpo esponjoso de *L.* gymnocercus foi significativamente maior  $(2,068 \pm 0,424)$  que a de C. thous  $(1,520 \pm 0,188)$  (P = 0,0297). Os resultados da análise histoquímica e imunohistoquímica do pênis de C. thous e L. gymnocercus revelaram uma histoarquitetura do tipo fibroelástica, contrariando a literatura vigente para carnívoros. Os resultados da presente pesquisa sugerem uma revisão da classificação peniana para carnívoros. Além de nos permitir compreender aspectos do comportamento reprodutivo dessas espécies, a fim de melhorar o manejo dos animais em cativeiro, bem como, contribuir para a melhoria da conduta clínica no apoio ao diagnóstico de doenças penianas.

Palavras-chave: Canídeos, Histoarquitetura, Órgão copulatório.

#### **ABSTRACT**

SANTOS-SOUSA, Carlos Augusto. Comparative morphology of the pênis of *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) and *Lycalopex gymnocercus* (G. Fischer, 1814). 2021. 66p. Tesis (Doctor of Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

Although canids are from a very heterogeneous family, they can be commonly separated into two distinct types: the dogs, wolves and jackals and the foxes and graxains. As important species in the modulation of the structuration of biological communities, they are frequently found in breeders and zoos. The aim of the study was to characterize the macroscopic, microscopic and histomorphometric aspects of the penises of C.thous and L. gymnocercus, in order to provide information to support the reproductive management in captivity and favor the clinical approach involving this organ. For this, fourteen cadavers, males and adults (seven C. thous and seven L. gymnocercus) were used. After the animals were placed in the right lateral decubitus position, and their chest wall was dissected to access to the thoracic aorta, which was properly cannulated for fixation with a 10% formaldehyde solution. Afterwards, the animals were dissected and anatomical regions, as well as the static structures of the penis of both species, were registered and identified. For the macroscopic characterization, two penises from each species were cut at different regions for examination under a stereoscopic microscope: a sagittal and a transverse section. The remaining ten penises from cleaved region of the penis body (5 of each species) were subjected to routine histological technique for embedding in paraffin. From each sample, 5 slices with 5 micrometers of thickness each fragment were used and stained with hematoxylin-eosin, Mallory's trichrome, Orcein and Picrosirius red method. The smooth muscle cells were ideitify by immunohistochemistry using anti-alpha-actin antibody. The results revealed that penis of both species possess a fibroelastic histoarchitecture in contrast to described in the current literature for carnivores. As the anatomical regions of the penises, root, body and glans were identified. Penile areas (total penile area, corpus cavernosum area, corpus spongiosum area and luminal area of the urethra) were measured and values expressed in mm<sup>2</sup>. The luminal area of the urethra of C. thous and L. gymnocercus measured  $0.089 \pm 0.048$ , and  $0.095 \pm 0.037$ , respectively (P = 0.8177). Total area of the penis in C. thous was  $26.981 \pm 4.842$  while in *L. gymnocercus* was  $20.228 \pm 5.245$  (P = 0.0673). In addition, the corpus cavernosum area of C. thous was significantly larger (9.929  $\pm$  2.607) than that of L. gymnocercus (6.083  $\pm$  1.048) (P = 0.0156). The corpus spongiosum area of L. gymnocercus was significantly larger (2.068  $\pm$  0.424) when compared to C. thous (1.520  $\pm$  0.188) (P = 0.0297). The histochemical and immunohistochemical results revealed a fibroelastic histoarchitecture, in contrast to descritions observed in the current literature for carnivores The results of the present research suggest a review of the penile classification for carnivores. In addition to allowing us to understand aspects of the reproductive behavior of these species, in order to improve the management of animals in captivity, as well as to contribute to improving the clinical conduct in supporting the diagnosis of penile diseases.

**KEYWORDS**: Canids, Histoarchitecture, Copulatory organ.

#### LISTA DE ABREVIATURAS

- ICMBio Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
- IUCN International Union for Conservation of Nature
- CEUA Comissão de Ética para o Uso de Animais
- IBAMA Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais
- PARNASO Parque Nacional da Serra dos Órgãos
- UNIPAMPA Universidade Federal do Pampa
- LEPeMADS Laboratório de Ensino e Pesquisa em Morfologia dos Animais Domésticos e Selvagens
- UFRRJ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- **UFRJ** Universidade Federal do Rio de Janeiro
- **MEC** matriz extracelular
- MP megapixels
- NaCl Cloreto de sódio
- **mm** milímetros
- µm micrômetros
- **kg** quilograma
- **cm** − centímetros
- **HE** Hematoxilina-eosina
- mic músculo isquicavernoso
- **mbe** músculo bulboesponjoso
- ta túnica albugínea
- cc corpo cavernoso
- **ce** corpo esponjoso
- **u** − uretra
- s septo
- op osso peniano
- m. músculo
- mm. músculos

### ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b> 1 – Representação da relação das famílias da ordem carnívora e seus respectivos representantes. (Fonte: AGNARSSON et al., 2010)
<b>Figura 2</b> : Espécies de canídeos de ocorrência no território brasileiro. A: Lobo-guará ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> ), B: Raposa do campo ( <i>Lycalopex vetulus</i> ), C: Graxaim do campo ( <i>Lycalopex gymnocercus</i> ), D: Cachorro vinagre ( <i>Speothos venaticus</i> ), E: Cachorro do mato de orelha curta ( <i>Atelocynus Microtis</i> ), F: Cachorro do mato ( <i>Cerdocyon thous</i> ) (Fonte: ICMBio, 2019).
<b>Figura 3 -</b> Mapa da distribuição zoogeográfica de <i>C. thous</i> . (Fonte: https://www.iucnredlist.org/species/4248/81266293; acessado em 28/06/2021)7
<b>Figura 4</b> - Mapa da distribuição zoogeográfica de <i>L. gyminocercus</i> . (Fonte: https://www.iucnredlist.org/species/6928/85371194; acessado em 28/06/2021)
<b>Figura 5</b> - Fotomacrografia da representação esquemática da divisão anatômica e cortes transversais do pênis de cão doméstico ( <i>Canis familiares</i> ). Segmento AB (glande do pênis) – A: parte longa da glande, B: bulbo da glande, C - corpo do pênis, segmento DE – raíz do pênis. (Fonte: DONE et al. 2010) (adaptado)
<b>Figura 6</b> - Fotomicrografia do corte transversal do Pênis de cão ( <i>Canis familiares</i> ). 1 - Túnica albugínea, 2 – septo mediano, 3 – espaço vascular do corpo cavernoso do pênis, 4 – uretra, 5 - corpo esponjoso. Tricrômico de Masson. x5. (Fonte: AUGHEY & FRYE, 2001)14
<b>Figura 7-</b> Fotomicrografia do corte transversal do corpo do pênis de <i>L. gymnocercus</i> capturada em microscópio estereoscópio (I). Demonstração do método de mensuração de área do corpo cavernoso em software ImageJ (II). Coloração: Tricrômico de Mallory22
<b>Figura 8</b> - Fotomacrografias do pênis de <i>C. thous</i> (I) e <i>L. gymnocercus</i> (II) dissecado in loco. Raiz 1: músculo isquiocavernoso; 2: músculo bulboesponjoso; 3: músculo retrator do pênis e sua extensão (setas) em <i>L. gymnocercus</i> . Corpo do pênis; Glande a: bulbo da glande, Glande b: parte longa da glande. Barra de escala 2cm. (III) Corte longitudinal da glande do pênis de <i>C. thous</i> . Em a: bulbo da glande; notar expansão do corpo esponjoso disposto dorsalmente ao osso peniano (op); lâmina interna do prepúcio (seta); b: parte longa da glande. Barra de escala 1cm
<b>Figura 9</b> - Fotomacrografia dos cortes transversais do pênis de <i>C. thous</i> . A: raíz do pênis; cc – corpo cavernoso, ce – corpo esponjoso, u – uretra peniana, mic – m. isquiocavernos, mbe

m. bulboesponjoso, ta - túnica albugínea. B e C: corpo do pênis proximal e distal,

respectivamente; cc – corpo cavernoso, ce – corpo esponjoso, u – uretra, ta – túnica albugínea; notar septo medial (s) em C. D: glande do pênis - bulbo da glande; notar a presença do osso peniano (op) formando um sulco uretral*, ce – corpo esponjoso, ta túnica albugínea, u – uretra. E: glande – parte longa da glande; ce – corpo esponjoso, op- osso peniano, u- uretra, ta – túnica albugínea. Barra de escala 1cm
<b>Figura 10 -</b> Fotomicrografias de cortes da uretra (U) envolta pelo corpo esponjoso (ce) de <i>C. thous</i> (I e II) e <i>L. gymnocercus</i> (III e IV). A uretra de <i>C. thous</i> (I) e <i>L. gymnocercus</i> (III) apresenta mucosa pregueada. Em (III) notar parte do corpo cavernoso (cc). Coloração: HE. Em (II) e (IV) uretra (u), revestida por uma mucosa (epitélio de transição e lâmina própria de tecido conjuntivo) pregueada e envolta pelo corpo esponjoso (ce). Notar feixes de fibras de colágeno dispostas com diferentes orientações na estruturação da histoarquitetura peniana de <i>C. thous</i> e <i>L. gymnocercus</i> ; Coloração: Tricrômico de Mallory
<b>Figura 11</b> - Fotomicrografias de cortes do corpo cavernoso (cc) de <i>C. thous</i> (I e II) e <i>L. gymnocercus</i> (III e IV). Em (I) e (III): cc – corpo cavernoso, sp – septo; em (III) ce – corpo esponjoso. Notar trabéculas de feixes de fibras de colágeno separando regiões de tecido adiposo (*) e a grande quantidade de estruturas vasculares (em marrom-avermelhado) (setas). Em (II) e (IV): Feixes espessos de fibras de colágeno (fc) ocorrem dispostas em várias direções. Notar região de acúmulo de tecido adiposo (*) e estruturas vasculares (setas). Coloração: Tricrômico de Mallory
<b>Figura 12</b> - Fotomicrografias de cortes transversais do pênis de <i>C. thous</i> (I) e <i>L. gymnocercus</i> (III): cc – corpos cavernosos, ce – corpo esponjoso, sp – septo, u – uretra. Notar fibras vermelhas birrefringentes, indicando o predomínio de feixes de fibras colagenosas densamente compactadas. Em (II) notar intenso vermelho ocasionado pelo predomínio de feixes espessos de fibras de colágeno na histoarquitetura do corpo cavernoso do pênis de C. thous. Em (IV) notar fibras delgadas esverdeadas birrefringentes ventrais ao corpo esponjoso ( <i>L. gymnocercus</i> ), indicando arranjo frouxo das fibras de colágeno. Coloração: Picrossirius red com observação ao microscópio de luz polarizada
<b>Figura 13</b> - Fotomicrografias da área de corpo esponjoso de <i>C. thous</i> (I) e <i>L. gymnocercus</i> (II). As fibras do sistema elástico (setas) estão distribuídas por todo o tecido conjuntivo, além de participar da estruturação da parede de vasos. As fibras do sistema elástico são visualizadas em marrom pela coloração seletiva da orceína
<b>Figura 14</b> - Fotomicrografia evidenciando as células musculares lisas na submucosa do corpo esponjoso (ce), ao redor de estruturas vasculares e na parede de estruturas vasculares presentes por entre as células adiposas do tecido adiposo do corpo cavernoso (cc) de <i>C. thous</i> (I e II) e <i>L. gymnocercus</i> (III e IV). Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti-α-actina de músculo liso

#### LISTA DE TABELA

Tabela 1- Histomorfometria das médias (mm²) e desvio padrão das áreas penianas de	e C. thous
e L. gymnocercus e o valor de P obtido do teste t de Student não pareado	30

# SUMÁRIO

1.	Ι	NTRO	DUÇÃO	1
2.	I	REVIS	ÃO DE LITERATURA	3
	2.1	OR	DEM CARNIVORA	3
	2.2	Al	FAMÍLIA CANIDAE	6
	2	2.2.1	Cerdocyon thous	7
	2	2.2.2	Lycalopex gymnocercus	9
	2	2.2.3	Aspectos reprodutivos de C. thous e L. gymnocerus	.10
	2.3	PÊNIS	S	.11
	2	2.3.1	Pênis do cão doméstico (Canis familiaris)	.12
	2.4	HI	STOMORFOMETRIA	.15
3.	(	OBJET	TIVOS	.16
	3.1	OE	JETIVOS GERAIS	.16
	3.2	OE	JETIVOS ESPECÍFICOS	.16
4.	N	MATE	RIAIS E MÉTODOS	.17
	4.1	CC	MITÊ DE ÉTICA	.17
	4.2	PR	OCEDIMENTO PARA O ESTUDO MACROSCÓPICO	.17
	4.3	AN	IÁLISE MICROSCÓPICA	.18
	4	1.3.1	Procedimento para a estereomicroscopia	.18
	4	1.3.2	Procedimento para microscopia de luz	.18
	4	1.3.3	Técnicas histoquímicas para caracterização morfológica	. 19
		4.3.3	.1 Coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE)	19
		4.3.3	.2 Técnica de coloração pelo Tricrômico de Mallory	.19
		4.3.3	.3 Técnica de coloração pela orceína com coloração de fundo por light green	.20
			.4 Técnica de coloração pelo Picrossírius red com posterior observação oscópio de luz polarizada	
	4.4	· IM	UNO-HISTOQUÍMICA	.20
	4.5	DC	CUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA	.21
	4.6	HI	STOMORFOMETRIA	.21
	4.7	AN	IÁLISE ESTATÍSTICA	.22
5.	I	RESUI	.TADOS	.23
	5.1	AN	ATOMIA MACROSCÓPICA DO PÊNIS DE C. Thous e L. gymnocercus	.23
	5.2	AN	IATOMIA MICROSCÓPICA DO PÊNIS DE C. Thous e L. gymnocercus	.26
	5.3	HI	STOMORFOMETRIA	.30

6.	DISCUSSÃO	31
7.	CONCLUSÕES	38
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

#### 1. INTRODUÇÃO

A família Canidae pertence à ordem Carnívora (subordem Caniformia, superfamília Canoidea), sendo que a maioria das espécies se caracteriza pelo pequeno a médio porte corporal, sendo predominantemente onívoros (BERTA, 1987; MACHADO, 2009; HUNTER, 2011). Apesar de ser uma família muito heterogênea, pode ser vulgarmente separada em dois tipos distintos: os cachorros, lobos e chacais e as raposas e zorros (graxains) (MACHADO, 2009; AGNARSSON *et al.*, 2010; EIZIRIK *et al.*, 2010; VALKENBURGH & WAYNE, 2010; HUNTER, 2011).

Dentre os canídeos brasileiros, o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) também é conhecido como lobinho, raposinha ou graxaim-do-mato; possui ampla distribuição com exceção apenas daqueles animais que habitam as terras baixas da região Amazônica (LANGGUTH, 1975, LUCHERINI, 2015). Sua distribuição ao sul do Continente Americano inclui a Colômbia, a Venezuela, as Guianas, a Bolívia, o Paraguai, a Argentina e o Uruguai (EMMONS & FEERS, 1997; LUCHERINI, 2015).

A pelagem do cachorro-do-mato pode ser identificada como amarelado-acinzentada, apesar de haver variação na coloração em determinadas épocas do ano. A linha dorsal do corpo é mais escura de modo a formar uma faixa negra característica e que se estende da cabeça até a cauda, sendo escura também as extremidades dos membros e da cauda (BERTA, 1982; SILVA, 1994; PARERA, 2002).

O cachorro-do-mato mede aproximadamente de 80 a 120 cm de comprimento e pesa em torno de 5 a 8 kg (NOWAK, 1999; ROCHA, 2008); sua dentição se caracteriza por possuir dentes pré-molares pequenos em relação aos grandes molares (BERTA, 1982)

O graxaim do campo (*Lycalopex gymnocercus*, Fischer, 1814) também é conhecido como cachorro do campo ou zorro pampeano. No alto da cabeça, sua coloração cinza-amarelada dá lugar ao marrom ferrugíneo. Já a região do peito é bem clara, como nas extremidades das orelhas e das patas, enquanto que, a ponta da cauda se apresenta escura (CRESPO, 1971; SILVA, 1994; TRIGO *et al.*, 2013). O graxaim se distingue do cachorro-do-mato por possuir orelhas maiores e mais triangulares, o focinho mais anguloso, sendo a cauda mais comprida e peluda. Seu peso varia de 4 a 6 kg (PARERA, 2002) e, de acordo com Trigo *et al* (2013), varia de 3 a 8 kg. Todavia, detalhes sobre sua ecologia ainda são escassos (LUCHERINI, 2016).

Ambas espécies comumente são encontradas nos zoológicos por todo o mundo e, apesar de atualmente não serem ameaçadas de extinção, muitas infrapopulações sofrem os impactos por ações antrópicas como a caça (LUCHERINI, 2015; LUCHERINI, 2016), além da escassez

de corredores ecológicos e do efeito de borda ocasionado pela fragmentação de habitat com diminuição da disponibilidade de alimento. Além disso, são espécies frequentemente impactadas em face de atropelamentos nas rodovias brasileiras (CHEIDA *et al.*, 2011; ICMBio, 2019).

De acordo com Pukazhenti e Wildt (2004) e Machado *et al* (2017), a caracterização morfofisiológica dos órgãos genitais de qualquer espécie é de suma importância para o conhecimento das estratégias reprodutivas, implicando diretamente na manutenção de seu ciclo biológico por permitir compreender os aspectos adaptativos e evolutivos relacionados à sua diferenciação e distribuição de modo a estimular a criação de programas de manejo com vistas à conservação.

Dessa forma, o estudo da morfologia peniana de *Lycalopex gymnocercus* e *Cerdocyon thous* pode ampliar o conhecimento sobre o manejo e a reprodução em cativeiro, assim como compreender os processos fisiopatológicos que acometem estas espécies. Além disso, o presente estudo pretende fornecer informações importantes de modo a apliar a área da morfologia animal comparada.

#### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 ORDEM CARNIVORA

A Ordem Carnivora inclui espécies com grande fascínio para o homem, como os cães e gatos domésticos, assim como os grandes predadores, como ursos, leões e lobos. Os grandes carnívoros são os mais perceptíveis na natureza dentre um grupo diversificado de mamíferos. Como a maioria das espécies desta Ordem, esses animais não são exclusivamente carnívoros e, devido à existência de muitos outros tipos de animais carnívoros, o termo "carnivoriano" é rrecomendado para denotar indivíduos dessa Ordem (AGNARSSON *et al.* 2010; VALKENBURGH & WAYNE, 2010).

Os carnívoros representam quase 300 espécies (AGNARSSON et al., 2010; EIZIRIK et al., 2010), com um número de espécies comparável aquele dos primatas (256), mas consideravelmente menor que das mais diversas ordens de mamíferos: Chiroptera (977) e Rodentia (aproximadamente 2000) (VALKENBURGH & WAYNE, 2010). Ainda para esses autores, apesar dos números de espécies descritas sejam substancialmente menores do que de outras Ordens pertencentes à Classe Mammalia, a variabilidade do peso e de tamanho destacamse sobre todas as Ordens existentes.

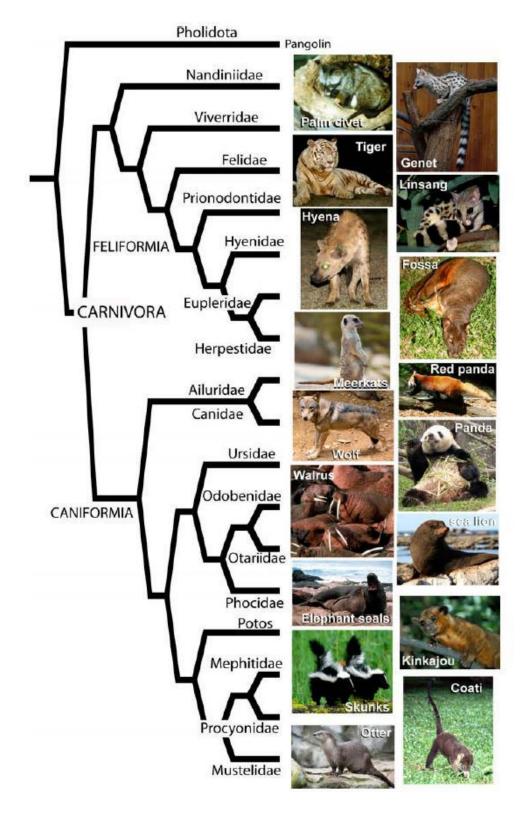
De acordo com Hunter (2011), os carnívoros são encontrados em quase todos os habitats, possuindo adaptações para a predação, ou seja, possuem um conjunto de dentes, mandíbula e crânio especialmente fortes para capturar, matar e dilacerar suas presas. Nowak (2005) destaca que a estrutura corporal dos carnívoros é adaptada à caça por apresentarem, de modo geral, rápida locomoção, alta acuidade visual e olfatória, além de quatro a cinco dedos com garras cortantes em cada membro, as quais contribuem precisamente para a preensão e laceração de suas presas.

Samuels *et al.* (2013) propuseram categorização destas espécies com base na sua locomoção em: a) espécies terrestres, aquelas que raramente nadam, escalam ou escavam; b) espécies cursoriais especializadas, aquelas com rápida locomoção que em alguns momentos não apoiam seus membros sobre o solo; c) espécies escansoriais, capazes de escalar árvores durante situações de fuga; d) espécies arbóreas que permanecem a maior parte do seu tempo nas árvores para se alimentar; e) espécies semifossoriais, aquelas espécies que escavam para construir tocas como abrigo ou procurar alimento; e f) as espécies semi-aquáticas, aquelas que nadam regularmente para migrar e buscar alimento ou fugir.

Todas as especializações descritas para as espécies desta ordem são corroboradas pelos relatos de Gittleman *et al* (2001), os quais ressaltam que existe uma notável diversidade ecológica dentre os carnívoros, tais como o período de atividade, sistema social, tamanho de área de vida, dentre outros, além de ocupar praticamente todos os tipos de habitat e nichos ecológicos.

Letnic *et al* (2012), ao estudarem predadores de topo de cadeia, reconheceram que as espécies desta ordem são importantes moduladores de comunidades ecológicas, colaborando para o balanceamento da pirâmide trófica através da predação ou por efeito indireto de predadores menores sobre as populações de insetos e plantas, com papel fundamental no equilíbrio do ecossistema.

Atualmente, são reconhecidas 16 Famílias, agrupadas com base em análise molecular da filogenia das espécies da ordem Carnivora (AGNARSSON *et al.*, 2010) (Figura 1).



**Figura** 1 – Representação da relação das Famílias da Ordem Carnivora e seus respectivos representantes. (Fonte: AGNARSSON et al., 2010).

Das 7 famílias de carnívoros que habitam o Neotrópico (REIS *et al.*, 2006), 5 famílias possuem representantes no território brasileiro, a saber: Canidae, Felidae, Mustelidae, Procyonidae, Mephitidae. Estas famílias compreendem 19 gêneros e cerca de 27 espécies (ICMBio, 2019).

#### 2.2 A FAMÍLIA CANIDAE

De acordo com Wozencraft (2005), a Família Canidae possui 13 gêneros, agrupados em 35 espécies, amplamente distribuídas no mundo, exceto no continente Antártico. No Brasil, ocorrem 5 gêneros com 6 espécies (ICMBio, 2019) (Figura 2).



**Figura 2**: Espécies de canídeos de ocorrência no território brasileiro. A: Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), B: Raposa do campo (*Lycalopex vetulus*), C: Graxaim do campo (*Lycalopex gymnocercus*), D: Cachorro vinagre (*Speothos venaticus*), E: Cachorro do mato de orelha curta (*Atelocynus Microtis*), F: Cachorro do mato (*Cerdocyon thous*) (Fonte: ICMBio, 2019).

Como animais oportunistas, os canídeos se adaptam mais facilmente a ambientes modificados (LANGGUTH, 1975; EIZIRIK *et al.* 2010). Com exceção do cachorro-do-matovinagre (*Speothos venaticus*), que é exclusivamente carnívoro, as demais espécies possuem hábitos onívoros com dieta composta pelos alimentos disponíveis no ambiente. Assim, o comportamento e a utilização da área pelo animal sofrem bastante influência da dieta como demonstrado por Rocha (2008).

#### 2.2.1 Cerdocyon thous

Conhecido popularmente como cachorro-do-mato, *C. thous* é um canídeo de médio porte, pesando de 4,5 a 8,5 kg e com comprimento médio de 96 cm (COURTENAY & MAFFEI, 2004). O dorso e as partes laterais do corpo são de coloração cinza e bege pálido. A face, as orelhas e a face cranial dos membros locomotores são avermelhadas, enquanto que, a face ventral do pescoço e do abdômen são pálidas ou esbranquiçadas. As extremidades das orelhas, do dorso da extremidade dos membros e a região entre as mandíbulas são pretas (BERTA, 1982).

O cachorro-do-mato apresenta distribuição restrita à América do Sul, ocorrendo no norte da Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, leste da Bolívia, Paraguai, norte da Argentina e grande parte do Brasil, com exceção da planície amazônica (BRADY, 1979; COURTENAY & MAFFEI, 2004) (Figura 3).



**Figura 3 -** Mapa da distribuição zoogeográfica de *C. thous.* (Fonte: https://www.iucnredlist.org/species/4248/81266293; acessado em 28/06/2021).

O cachorro-do-mato habita uma diversidade de ambientes que inclui caatinga, cerrado, áreas inundáveis, florestas secas e úmidas (BERTA, 1982; COURTENAY & MAFFEI, 2004).

Trata-se de uma espécie de hábitos noturnos que exibe comportamento territorialista, demarcando áreas com urina. Entretanto, segundo Montgomery e Lubin (1978), esse mecanismo não parece para manter a exclusividade do território. O forrageio ocorre frequentemente aos pares, podendo haver cooperação entre os indivíduos (BRADY, 1979), sendo mais comum a obtenção do alimento individualmente (COURTENAY & MAFFEI, 2004).

Estudos revelam que o cachorro-do-mato é um animal generalista e oportunista; se alimenta de pequenos frutos, insetos e vertebrados de pequeno porte, cujas quantidades e frequências consumidas variam de acordo com a disponibilidade no ambiente, principalmente influenciados pela sazonalidade (BRADY, 1979; BISBAL & OJASTI 1980; JUAREZ & MARINHO-FILHO, 2002; FACURE *et al.*, 2003; ROCHA *et al.*, 2004; AMARAL, 2007; ROCHA, 2008).

Rocha (2008), ao comparar a dieta de três carnívoros (cachorro do mato, lobo guará e onça parda), habitantes do Parque Nacional Grande Sertão Veredas no Estado de Minas Gerais, demonstrou que há sobreposição da sua dieta com aquela de outros carnívoros simpátricos. Esses resultados também foram relatados por outros autores (BISBAL & OJASTI, 1980; JUAREZ & MARINHO-FILHO, 2002; JÁCOMO *et al.*, 2004; COURTENAY & MAFFEI, 2004).

O cachorro-do-mato, comumente encontrado em áreas rurais e suburbanas, próximos às cercas das casas e cultivos (BISBAL & OJASTI, 1980; FACURE *et al.*, 2003), se alimenta de itens relacionados às atividades humanas como frutas cultiváveis, itens encontrados em lixo doméstico, além de galinhas (FACURE & MONTEIRO-FILHO, 1996). Esses hábitos facilitam sua captura, além de os submeter aos envenenamentos, ataques por cachorros domésticos, propiciando o acometimento por doenças comuns em animais domésticos, tais como: sarna sarcóptica, cinomose, raiva, parvovirose, leishmaniose e leptospirose. Somando-se a estes fatos, sua gordura é considerada, na caatinga e pela cultura popular, útil no tratamento de prolapso uterino de animais de criação, o que representa mais uma causa de mortalidade da espécie, impactando diretamente em determinadas populações (BARBOSA *et al.* 2007; BEISIEGEL *et al.* 2013).

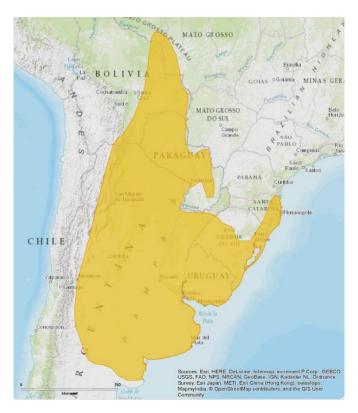
Estudos anatômicos envolvendo contextos filogenéticos e evolutivos foram realizados por Christiansen (1999), Lyras e Van Der Geer (2003), Ferguson e Lariviére (2004), Takemura *et al* (2004), Goswami (2006) e Agnarsson *et al* (2010).

Até o momento, vários estudos anatômicos descritivos e funcional foram reportados para o cachorro-do-mato; dentre eles: distribuição dos nervos glúteos (BENEDICTO *et al.*, 2008), ramificação da artéria femoral (BENEDICTO & SENOS, 2008), morfometria testicular e dos túbulos seminíferos (CALDEIRA *et al.*, 2010), aspectos do sistema digestório (NASCIMENTO *et al.*, 2010, HELENO *et al.*, 2011), vascularização renal (MENEZES *et al.*, 2011), esqueletopia do cone medular (PINHEIRO *et al.*, 2011), musculatura do antebraço (VAZ *et al.*, 2011), anatomia radiográfica do esqueleto (BARISSON *et al.* 2012), formação do plexo lombossacral (LORENZÃO *et al.* 2016, LUGOCH *et al.* 2012), laringe (MATTOS *et al.*, 2012), morfometria do forame mandibular (SOUZA JUNIOR *et al.* 2013), origens e ramificações do plexo braquial (SOUZA-JÚNIOR *et al.*, 2014), morfologia do sistema reprodutor feminino (MACHADO *et al.*, 2017), e medidas radiográficas do membro pélvico (CASTILHO *et al.*, 2018). duplicidade da artéria renal (PEÇANHA *et al.*, 2020), dimensões e esqueletopia renal (SOUZA-JÚNIOR *et al.*, 2020) e origem e principais ramificações da artéria celíaca (VIANA-PEÇANHA *et al.*, 2020).

#### 2.2.2 Lycalopex gymnocercus

De acordo com Parera (2002) e Trigo *et al* (2013), *L. gymnocercus*, conhecido popularmente como graxaim-do-campo ou raposa-dos-pampas, é um canídeo que mede cerca de 1 m de comprimento total, com cauda de 32 a 45 cm e peso corporal entre 3 a 8 kg. Possui focinho afilado e comprido e orelhas longas. Sua pelagem é cinza-amarelada, com eventual linha escura no dorso, ponta da cauda invariavelmente negra e membros amarelados. Todavia, sua ecologia ainda é pouco compreendida (LUCHERINI, 2016).

A distribuição geográfica do graxaim-do-campo abrange os Pampas do Brasil, Argentina e Uruguai, Chaco do Paraguai e o leste da Bolívia (TRIGO *et al.*, 2013; LUCHERINI, 2016) (Figura 4). De acordo com Trigo *et al.*, 2013, o graxaim-do-campo prefere habitats com planícies abertas, mas evita áreas densamente florestadas. Com hábito onívoro, preda pequenos vertebrados e consome frutas (QUEIROLO *et al.*, 2013). Segundo os relatos de Crespo (1971), o graxaim-do-campo vive aproximadamente 14 anos em cativeiro, mas poucos anos em vida livre. Apesar de seu estado de conservação ser considerado pouco preocupante, eles sofrem devido aos atropelamentos e pela caça injustificada, como a prevenção da predação de ovinos e comércio da pele (LUCHERINI, 2016).



**Figura 4** - Mapa da distribuição zoogeográfica de *L. gyminocercus*. (Fonte: https://www.iucnredlist.org/species/6928/85371194; acessado em 28/06/2021)

Dados sobre a anatomia descritiva e funcional de *L. gymnocercus* são escassos; os poucos existentes foram realizados somente a partir do século XXI. Como exemplo tem-se os estudos de Depedrini e Campos (2003, 2007) que descreveram a vascularização encefálica. Já a descrição da topografia da intumescência lombar e do cone medular foi resultante de estudos realizados por Souza-Júnior *et al* (2014). A origem e as ramificações do plexo braquial (SOUZA JUNIOR *et al.*, 2017) e do plexo lombossacral (LORENZÃO *et al.*, 2016) também foram caracterizadas. Recentemente, Souza-Júnior *et al*. (2018) caracterizaram a morfometria, topografia e a vascularização renal de espécimes de graxaim e Souza-Júnior *et al* (2018) que detalharam a miologia funcional do membro torácico graxaim-do-campo, tendo sido realizada uma análise comparativa com os demais mamíferos já descritos.

#### 2.2.3 Aspectos reprodutivos de C. thous e L. gymnocerus

C. Thous tem reprodução monogâmica e o acasalamento ocorre durante todo o ano, mas, com pico em novembro ou dezembro. O período de gestação é em média de 56 dias (NOWAK,

1999), os quais as fêmeas produzem entre 3 e 6 filhotes por ninhada (MEDEL, 1988). Ao nascer, os filhotes pesam entre 120 e 160 gramas. Nascem sem dentes e com os olhos fechados (BERTA, 1982). Os olhos dos recém-nascidos abrem aos 14 dias e eles começam a digerir alimentos sólidos aos 30 dias, sendo desmamados aos 90 dias (NOWAK, 1999). A pelagem dos filhotes é cinza-carvão com uma mancha marrom-amarelada na parte inferior do abdômen. Vinte dias após o nascimento, a pelagem começa a mudar e, aos 35 dias, os filhotes apresentam pelagem adulta. A maturidade sexual é atingida no primeiro ano. (BERTA, 1982).

L. gymnocercus são geralmente solitários, mas são vistos aos pares durante a época de acasalamento. A reprodução é monogâmica ocorrendo entre os meses de julho a outubro e o tempo de gestação dura de 55 a 60 dias. As fêmeas geram de três a cinco filhotes em uma toca entre as rochas, sob as bases de árvores ou em tocas feitas por outros animais. Os jovens nascem quase pretos, mas vão ficando mais claros à medida que crescem. Ambos os pais cuidam dos jovens e aos dois a três meses, os jovens começam a caçar com os pais. A idade na maturidade é desconhecida (COOPER, 2003).

#### 2.3 PÊNIS

O pênis é o órgão copulador masculino, sendo que este termo deriva do latim pendere, que significa pendurar ou pendurado. Já entre os romanos, assim como na língua portuguesa, haviam inúmeras expressões populares para designar o pênis (clava, vômer, radix, ramus, gladius) (FERNANDES, 1999). O termo é amplamente utilizado para uma série de animais invertebrados e vertebrados. Porém, em espécimes filogeneticamente mais distantes de indivíduos da classe Mammalia, frequentemente, esse órgão fica internalizado, sendo exposto apenas no momento da cópula (HOSKEN *et al.*, 2018).

De acordo com a forma e com sua estrutura, o pênis dos mamíferos ainda é classificado em fibroelástico e em músculo cavernoso. No pênis do tipo fibroelástico há aumento do comprimento peniano com poucas modificações no diâmetro durante a cópula, sendo encontrado no boi, no porco e em ratos. No pênis do tipo músculo cavernoso, que ocorre no cavalo, no cão, no gato e coelhos, há aumento tanto do comprimento quanto do diâmetro durante a cópula (NICKEL *et al.*, 1979; DYCE *et al.*, 2010; KÖNIG & LIEBICH, 2016).

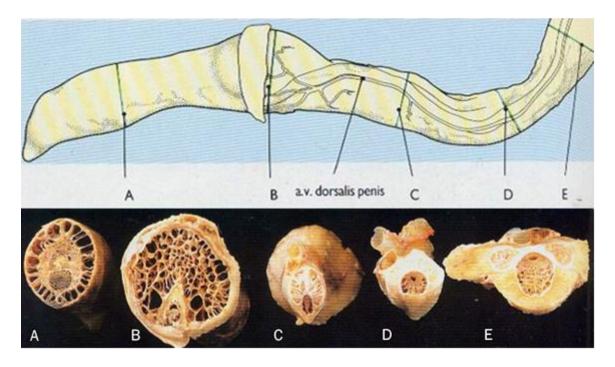
Anatomicamente, o pênis é dividido em raiz ou parte fixa, corpo ou porção intermediaria e a glande ou porção livre. A estrutura histológica do pênis revela que o tecido erétil se encontra organizado de modo a formar dois corpos cilíndricos, denominado corpo cavernoso e corpo esponjoso, sobretudo nas regiões de raíz e corpo. Essas duas estruturas também são envolvidas

por uma fáscia peniana constituída de tecido conjuntivo denso fibroelástico, a túnica albugínea. Já o corpo esponjoso é pouco mais longo e se localiza ventralmente circundando a uretra (NICKEL *et al.*, 1979, ROSS & ROMRELL, 1993; MAIA *et al.*, 2006; DYCE *et al.*, 2011; KÖNIG & LIEBICH, 2016).

Diversos estudos sobre a anatomia morfofuncional do pênis foram descritos, como em cães (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; NINOMIYA *et al.* 1989; SAADON, 2016), ratos (PINHEIRO *et al.*, 2000), javali (BABINSKI *et al.*, 2005), cutia (MOLLINEAU *et al.*, 2006), porco espinho de crista africano (ATALAR & CERIBASI, 2006), morcego orelhudo cinzento (HERDINA *et al.*, 2010), bovino e búfalo (RIBEIRO *et al.*, 2013), coelho (MAIA *et al.*, 2006; ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2013) tuco-tucos (ROCHABARBOSA *et al.*, 2013), gatos (BORGES *et al.*, 2017), ouriço terrestre (AKBARI *et al.*, 2018) carneiro (SCHIMMING & MORAES, 2018) e canguru (WARBURTON *et al.*, 2019). Esses estudos auxiliaram a compreensão do comportamento de cópula dessas espécies (HART & KITCHELL, 1965; HANYU, 1988), além do fato que esses estudos implementaram técnicas que auxiliam o manejo e a melhoria das estratégias reprodutivas (BORGES *et al.*, 2017), além de fornecer informações para a compreensão dos processos fisiopatológicos e o uso de terapias mais adequadas (HANYU *et al.*, 1992; KUSTRITZ, 2001; ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2010; ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2013; GOERICKE-PESCH *et al.*, 2013; BURSCHELL *et al.*, 2014, BORGES *et al.*, 2017).

#### 2.3.1 Pênis do cão doméstico (Canis familiaris)

Anatomicamente, o pênis do cão é divido em raiz, corpo e glande, sendo a glande constituída por um bulbo (bulbo glandis) e pela parte longa da glande (pars longa glandis) (CHRISTENSEN, 1954; NICKEL *et al.* 1981; GETTY, 1986, DONE *et al.*, 2010; EVANS & De LAHUNTA, 2013; DYCE *et al.* 2010; KÖNIG & LIEBICH, 2016) (Figura 5)



**Figura 5**- Fotomacrografia da representação esquemática da divisão anatômica e cortes transversais do pênis de cão doméstico (*Canis familiares*). Segmento AB (glande do pênis) – A: parte longa da glande, B: bulbo da glande, C - corpo do pênis, segmento DE – raíz do pênis. (Fonte: DONE *et al.* 2010) (adaptado).

Christensen (1954) analisando a angioarquitetura de 187 pênis de cães injetados com resina, verificaram que o pênis do cão é mais fibroso quando comparado ao pênis de equino e do homem, apresentando aglomerados de gordura e tecido conjuntivo nos espaços cavernosos, embora nenhuma classificação para o pênis ter sido proposta.

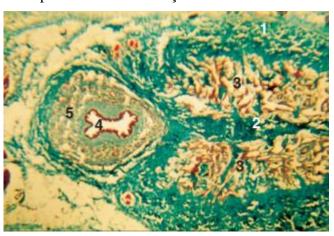
Hart e Kitchell (1965) estudaram a morfologia externa da glande do pênis do cão através de eletroestimulação. Os resultados deste estudo levantaram uma questão de descrição anatômica geral para a época, ou seja, quando uma estrutura se torna extremamente modificada em um estado fisiológico na medida em que estruturas distintas tornam-se evidentes, dificilmente discerníveis em outro estado, qual dos dois estados deve basear-se a nomenclatura e classificação das suas estruturas? Neste contexto, os autores sugeriram um olhar diferenciado para os aspectos morfofuncionais de modo a complementar o estudo em cadáver.

Beach (1970) estudando o comportamento durante o coito dos cães observaram que ao executar o padrão copulatório, o cão monta a cadela e realizam movimentos pélvicos que direcionam o pênis para a vulva. O autor chama a atenção para dois eventos importantes após após o empuxo: (1) o macho começa a ejacular; e, (2) o pênis fica totalmente ereto. Nesse contexto, o segundo processo inclui o ingurgitamento completo, o bulbo que incha dentro da vagina a tal ponto que seu diâmetro excede o da abertura vaginal, fazendo com que o macho

não consiga se retirar da cópula e, desssa forma, a completa ejaculação é garantida, já que estes animais ejaculam por gotejamento.

Um estudo de fluxo de pressão, utilizando um modelo de perfusão da artéria profunda do pênis em cães, induziu vários estados do corpo cavernoso, que eram diferentes em pressão cavernosa. Desta forma, os autores constataram, a partir da observação histológica do pênis canino, que a compressão das veias de drenagem que atravessam a túnica albugínea era fraca na ereção leve, enquanto intensa na ereção completa. Assim, foi proposto que na ereção leve, o efeito da oclusão venosa era leve, embora o de dilatação arterial foi perceptível, resultando em aumento do fluxo venoso (HANYU *et al.* 1992).

De acordo com as descrições da histologia do pênis do cão, Aughley e Frye (2001), utilizando cortes corados pelo Tricrômico de Gomori, demonstraram a existência de um septo mediano dividindo o corpo cavernoso. Dessa forma, os autores reforçaram a diferença da constituição histológica do pênis de cão em relação aos ruminantes e suínos (Figura 6).



**Figura 6**- Fotomicrografia do corte transversal do Pênis de cão (*Canis familiares*). 1 - Túnica albugínea, 2 – septo mediano, 3 – espaço vascular do corpo cavernoso do pênis, 4 – uretra, 5 - corpo esponjoso. Tricrômico de Masson. x5. (Fonte: AUGHLEY & FRYE, 2001).

Goericke-Pesch *et al.* (2013), ao estudar a anatomia ultrassonográfica de 80 cães machos enfatizando as estruturas morfofuncionais do pênis durante e após a ereção para demonstrar as respectivas alterações, forneceram a base para novos exames de condições patológicas como o priapismo. Nesse estudo, medidas lineares foram obtidas durante a ereção e após a detumescência.

Saadon (2016) caracterizou o pênis de cães adultos considerando-o distinto do descrito em ruminantes e suínos. Além disso, segundo o autor, o pênis de cão também difere dos considerados vasculares ou musculo cavernoso como os equinos e o homem. No mesmo estudo,

foi observado que a média de comprimento do pênis do cão foi de aproximadamente 17cm e 2cm de largura.

#### 2.4 HISTOMORFOMETRIA

A morfometria é o ato de mensurar estruturas anatômicas (do grego morphé = forma + métron= medida). Assim, as medidas morfométricas mais comuns abrangem áreas (superfícies), pesos, volumes, comprimentos, ângulos, diâmetros e perímetros (MANDARIM-DE-LACERDA, 1995). Para o autor, todo o esforço e cuidado deve ser feito no sentido de satisfazer as premissas estatísticas com a finalidade de se obter resultados estatisticamente representativos e consistentes com determinada amostra de estruturas.

Métodos de mensuração de imagens por programas computacionais vem ganhando cada vez mais destaque. Neste método, denominado de morfometria digital, uma câmera digital é utilizada a uma distância fixa da amostra para a captura de imagens. Em seguida, essas imagens são analisadas em um programa de mensuração de imagens (CARDINAL *et al.* 2009).

De acordo com Rodrigues *et al.* (2013), a utilização de softwares para a morfometria permite a obtenção de dados precisos quando comparado a métodos matemáticos tradicionais. Outrossim, o baixo custo e a possibilidade de uma análise amostral grande com a obtenção de dados de forma rápida devem ser considerados para a utilização em pesquisas básicas e aplicadas.

Borges *et al.* (2017) utilizaram o software ImageJ para a obtenção de medidas de áreas de corpo cavernoso, corpo esponjoso, lúmem uretral e altura de epitélio em amostras de pênis de gatos (*Felis catus*) inteiros (I) e castrados (II). Embora diferenças estatísticas não foram encontradas, os autores perceberam diferenças morfométricas entre as amostras dos grupo I e II que, juntamente a outras análises quantitativas de elementos da matriz extracelular, apoiaram a hipótese de que ocorrem mudanças na histoarquitetura do pênis após a castração, fato que pode predispor à alterações clínicas.

#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste estudo foi analisar a estrutura macroscópica e microscópica do pênis de *Cerdocyon thous* e *Lycalopex gymnocercus* de modo a contribuir para o aumento de informações sobre a estrutura peniana dos animais silvestres.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a anatomia macroscópica do pênis de *C. thous* e *L. gymonercus*;
- Caracterizar, utilizando técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas, os elementos constituintes ou estruturais do pênis do *C. thous* e *L. gymnocercus*;
- Mensurar, por meio do software Image J as áreas penianas de *C. thous* e de *L. gymnocercus*;

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4.1 COMITÊ DE ÉTICA

Este estudo é parte do Projeto "Pesquisa básica e aplicada em morfologia dos animais silvestres e exóticos" submetido e aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA/UFRRJ, n° 018/2017) respaldado por licença de autorização para a coleta de materiais biológicos (IBAMA/SISBIO n° 33667).

#### 4.2 PROCEDIMENTO PARA O ESTUDO MACROSCÓPICO

Foram utilizados 14 (quatorze) cadáveres [7 (sete) *C. thous* e 7 (sete) *L. gymnocercus*], adultos, provenientes do Laboratório de Anatomia Animal da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) e do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO, RJ), doados ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Morfologia dos Animais Domésticos e Selvagens (LEPeMADS) do Departamento de Anatomia Animal e Humana da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Os espécimes foram identificados e posicionados em decúbito lateral direito para o início das etapas de fixação. Em seguida, a pele lateral do tórax foi dissecada e rebatida para a visualização da musculatura cutânea do tronco e localização precisa das costelas e dos espaços intercostais. Foram realizadas incisões entre o terceiro ao sétimo espaço intercostal para a dissecção da respectiva musculatura. Com auxílio de um costótomo, as costelas foram retiradas e, através da abertura lateral do tórax, foi possível acessar a aorta torácica. Em seguida, foi introduzido um cateter uretral número seis, permitindo a lavagem do sistema arterial com solução de NaCl a 0,9%. Em seguida, pelo mesmo cateter, foi introduzida solução de formaldeído a 10%. Ao final, os espécimes foram imersos em uma caixa de polietileno de baixa densidade com capacidade para 500 L contendo solução de formaldeído a 10% para completar o processo de fixação por um período de 7 (sete) dias. Após esse período, os animais foram retirados das caixas e lavados com água corrente para dar início as etapas de dissecção.

Os espécimes foram posicionados em decúbito lateral direito, sendo o membro pélvico contralateral abduzido manualmente de modo a expor a região inguinal. Posteriormente, foi feito uma incisão lateral na região prepucial no sentido crânio-caudal do membro contralateral.

Com a face esquerda do prepúcio exposta, esta foi dissecada, promovendo a visualização do pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*.

A documentação fotográfica da dissecção do pênis e os elementos de estática das duas espécies foram feitas com uma Câmera digital Nikon 5MP. Em seguida, foi feita uma incisão na raiz do pênis para a sua remoção. Cortes transversais e longitudinais de 2 (dois) pênis de cada espécie foram separados para a observação ao microscópio estereoscópico. Os 10 (dez) pênis remanescentes, 5 (cinco) de cada espécie, foram acondicionados em frascos contendo solução de formaldeído à 10% para ser submetido ao procedimento histológico.

#### 4.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA

O processamento das amostras para análise da estrutura tecidual foi realizado no Laboratório de Histologia Integrativa da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

#### 4.3.1 Procedimento para a estereomicroscopia

Cortes longitudinais e transversais dos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus* foram analisados ao microscópio estereoscópico (Leica EZ4HD) para a observação da arquitetura interna do pênis, tendo sido as imagens obtidas através do sistema de captura (Leica DFC425) utilizando o programa de captura (Leica Aplication Suite - LAS, versão 3.7.0).

#### 4.3.2 Procedimento para microscopia de luz

Fragmentos do corpo de 10 (dez) pênis de ambos animais foram processadas de acordo com a técnica histológica de rotina para inclusão em parafina. Para tal, os fragmentos foram desidratados utilizando-se concentrações crescentes de álcool etílico (álcool 70% por 30 min.; álcool 90% por 40 minutos; álcool 100% - dois banhos de 40 minutos cada). Os tempos utilizados foram os que se mostraram mais apropriados para a manutenção da integridade do material. Após a desidratação, os fragmentos foram clarificados em dois banhos sucessivos de xilol (30 minutos cada), impregnado em parafina (dois banhos de 40 minutos cada) e incluídos

em parafina. Esse processamento foi realizado com o auxílio de um processador de bancada semifechado, automatizado, modelo Leica TP1020.

Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram obtidos com o auxílio de um micrótomo da marca Leica, modelo RM2125 RT e coletados em lâminas e levados à estufa à 37°C durante 24 horas para secagem. Os cortes foram submetidos à diferentes colorações com a finalidade de caracterizar a morfologia geral dos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*.

#### 4.3.3 Técnicas histoquímicas para caracterização morfológica

#### 4.3.3.1 Coloração pela Hematoxilina-Eosina (HE) (LILLIE & FULLMER, 1976)

Os cortes foram desparafinizados em xilol (dois banhos), hidratados (álcool etílico 100%, 90%, 70%) e lavados em água destilada. A seguir procedeu-se a coloração pela hematoxilina de Harris por 15 segundos, seguida de lavagem em água corrente por até 5 minutos. Em seguida, os cortes foram corados por 10 segundos pela eosina. Após rápida lavagem em água destilada, os cortes foram desidratados (álcool etílico 70%, 90%, 100%), clarificados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan®new, Merck). Neste método os núcleos coram-se em azul, e o citoplasma em rosa, permitindo a visualização geral da estrutura tecidual.

#### 4.3.3.2 Técnica de coloração pelo Tricrômico de Mallory (LILLIE & FULLMER, 1976)

Os cortes foram desparafinizados em xilol (dois banhos), hidratados (álcool etílico 100%, 90%, 70%) e lavados em água destilada. Os cortes foram corados pela fucsina ácida à 1% por 2 minutos, lavado em água destilada e submetidos ao ácido fosfomolíbdico à 1% por 2 minutos e rapidamente lavado com água destilada. Posteriormente, os cortes foram corados pela solução com orange G 2%, azul de metila à 0,5% em ácido oxálico à 2%. Depois, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados, clarificados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan® new, Merck). Os núcleos coram-se em azul, as fibras colagenosas em azul e o tecido muscular em laranja.

4.3.3.3 Técnica de coloração pela orceína com coloração de fundo por light green (VALDIEIRO *et al.*, 2019)

Os cortes foram desparafinizados em dois banhos de xilol (dois banhos), hidratados (álcool etílico 100%, 90%) e imersos em álcool 70° acidificado com ácido clorídrico a 0,1N por 1 minuto. Em seguida, os cortes foram corados por 3- minutos pela orceína (a 60°C, em estufa). Posteriormente, os cortes foram imersos em álcool 70% acidificado com ácido clorídrico a 0,1N por 1 minuto, seguido de lavagem em água destilada. A seguir, os cortes foram imersos em solução de light green a 1% por 3 minutos. Após esta etapa, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados, clarificados e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan® new, Merck) e lamínula. As fibras do sistema elástico são coradas em vermelho-acastanhado, se contrastando com o fundo verde claro.

4.3.3.4 Técnica de coloração pelo Picrossírius red com posterior observação ao microscópio de luz polarizada (JUNQUEIRA et al., 1979)

Os cortes foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados e em seguida corados por 1 hora pelo picrossirius red (solução 1% de Sirius Red F3BA em solução aquosa saturada de ácido pícrico). Posteriormente, os cortes foram imersos em solução de ácido clorídrico 0,1N por 2 minutos, visando retirar o excesso de corante e, a seguir, em água destilada. Em seguida, os cortes foram corados pela hematoxilina de Harris por 30 segundos e lavados em água corrente por 6 minutos. A seguir, os cortes foram desidratados, clarificados e montados com lamínulas usando-se entellan (Entellan® new, Merck). Feixes de fibras colagenosas espessas, em arranjo compacto, são evidenciados em vermelho, fortemente birrefringente, enquanto as fibras colagenosas em arranjo frouxo apresentam-se verde-amareladas, fracamente birrefringentes.

#### 4.4 IMUNO-HISTOQUÍMICA

Os cortes destinados ao estudo pela imuno-histoquímica foram coletados em lâminas silanizadas para evitar o desprendimento do corte durante o procedimento da técnica. Os cortes foram desparafinizados e hidratados. Em seguida, os cortes foram tratados com uma solução de

bórax 1% por 15 minutos para inibição dos grupamentos aldeídicos. Após lavagem com água destilada, a peroxidase endógena foi bloqueada com 1 banho de 20 minutos em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 15% em PBS. Posteriormente, os cortes foram lavados duas vezes em tampão fosfato salina (PBS) e colocados em solução de soro de albumina bovina (BSA) à 3% em PBS por 1 hora e novamente lavado em PBS por 5 minutos. Em seguida, o material foi incubado com anticorpo primário anti-α-actina (HHF35, DAKO) para músculo liso diluída a 1:50 a 4 °C. Os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotinilado durante 30 minutos, depois com ABC, diluído para 1: 100, durante 30 minutos. Para revelar a reação, os cortes foram incubados com 3,3'-diaminobenzidina (DAB) por 3 minutos e lavados em PBS. Finalmente, os cortes foram contracorados com solução de light green a 1% por 3 minutos, desidratados, clarificados em xilol e montados com lamínulas usando-se Entellan®.

A imuno-histoquímica com anticorpo anti-alfa-actina foi realizada com objetivo de detectar células musculares lisas possibilitando a descrição de sua distribuição no tecido erétil do pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*.

#### 4.5 DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

As imagens histológicas foram obtidas com o auxílio de um microscópio Leica DM750, tendo sido capturadas utilizando-se uma câmera digital modelo Leica DFC425.

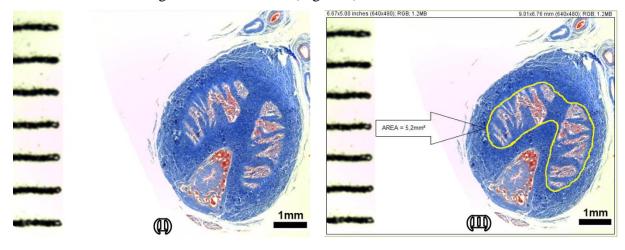
#### 4.6 HISTOMORFOMETRIA

Os cortes em lâmina foram fotografados em microscópio estereoscópico com câmera digital acoplada e com auxílio de uma régua milimetrada para servir de escala, sem que essa entrasse em contato com a amostra. Cada imagem foi aberta e calibrada individualmente no programa, sendo realizada a mensuração da distância de 1mm na régua que foi fotografada juntamente com a amostra por meio da ferramenta Straight line selection e a opção Set scale na guia Analyze.

A partir destes arquivos digitalizados, foi utilizado um tablet gráfico (Tablet Trust wireless TB-2100) para obtenção da área luminal uretral. Este equipamento, que consistia em um bloco e uma caneta que funciona como um mouse, permite uma maior precisão no contorno de estruturas irregulares. Assim, toda a borda apical do epitélio uretral foi delineada, indicando

a área luminal da uretra. Após seleção, o software ImageJ foi usado para medir a área selecionada em mm².

As áreas do corpo cavernoso e do corpo esponjoso foram obtidas da mesma forma, usando o software ImageJ e o Tablet Trust. (Figura 7).



**Figura 7-** Fotomicrografia capturada com auxílio de microscópio estereoscópio (Leica EZ4HD). Corte transversal do corpo do pênis de *L. gymnocercus* capturada em (I). Demonstração do método de mensuração de área do corpo cavernoso em software ImageJ (II). Coloração: Tricrômico de Mallory.

## 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a distribuição normal e as medidas das duas espécies foram comparados pelo teste t de Student não pareado; P <0,05 indicou diferenças estatisticamente significativas.

#### 5. RESULTADOS

As dissecções e as técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas possibilitaram a analisar dos achados macroscópicos e microscópicos dos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*, as quais permitiram a caracterização da morfologia externa e interna dos pênis através da identificação dos seus elementos teciduais.

# 5.1 ANATOMIA MACROSCÓPICA DO PÊNIS DE C. Thous e L. gymnocercus

A dissecção dos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus* permitiram a identificação e sistematização dos músculos extrínsecos do pênis, tendo sido visualizados os três músculos: isquiocavernoso, bulboesponjoso e retrator do pênis.

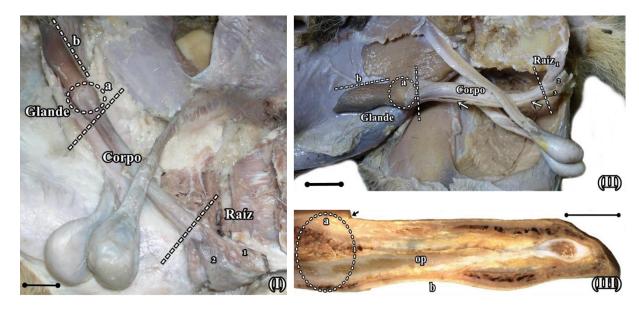
Anatomicamente se reconhece no pênis três regiões cilíndricas anatomicamente distintas: raiz (radix penis), corpo (corpo do pênis) e a extremidade livre - glande (glans penis).

A raíz e o corpo do pênis são contínuos e organizados internamente em corpos cavernosos, dispostos dorsolateralmente, e o corpo esponjoso ventral. Os corpos cavernosos do pênis surgem como estruturas separadas a partir do músculo isquiocavernoso que, por sua vez, origina-se nas tuberosidades isquiáticas do coxal. Cada parte do corpo cavernoso se dispõe distalmente, alcançando o corpo do pênis e a extremidade proximal do osso peniano. O corpo esponjoso envolve o segmento peniano da uretra e se dispõem ventralmente nos seguimentos da raíz e corpo do pênis, sendo o único tecido erétil a constituir a glande de *C. thous* e *L. gymnocercus*.

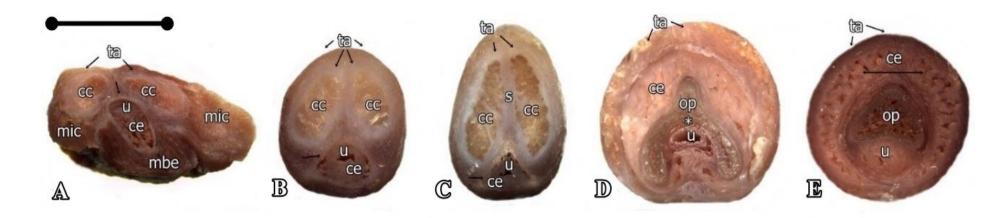
Um septo mediano fibroso divide completamente a parte direita da parte esquerda do corpo cavernoso que, por sua vez, é envolvida por uma lâmina espessa de tecido fibroelástico, a túnica albugínea. O corpo cavernoso do pênis apresenta histoarquitetura fibrosa com a presença de vasos que formam os seios do corpo cavernoso. Já o corpo esponjoso se localiza em um sulco uretral, envolvendo a uretra peniana.

A glande do pênis consiste do bulbo da glande e uma parte longa da glande. O bulbo da glande é uma expansão do corpo esponjoso e circunda a parte proximal da glande do pênis, contendo grandes seios venosos delimitados por trabéculas ricas em tecido elástico. A parte longa da glande é contínua ao bulbo e apresenta a maior parte do osso peniano. A extremidade distal da glande possui projeção encurvada por uma extensão fibrocartilaginosa proveniente do osso peniano (Figura 8).

Nas duas espécies, o osso peniano se dispõe por toda a glande, sendo contínuo a partir do septo mediano fibroso que divide os corpos cavernosos de aspecto irregular. A partir do corpo cavernoso, a parte proximal do osso peniano apresenta morfologia triangular, sendo a base ventral côncava formando um acentuado sulco uretral. À medida que segue distalmente pela parte longa da glande e posterior ao terço médio, a concavidade do sulco uretral diminui, tornando a base ventral mais retilínea.



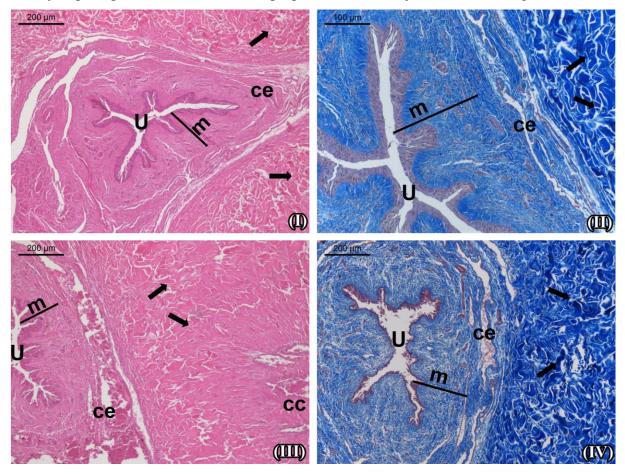
**Figura 8**- Fotomacrografias do pênis de *C. thous* (I) e *L. gymnocercus* (II) dissecado in loco. Raiz 1: músculo isquiocavernoso; 2: músculo bulboesponjoso; 3: músculo retrator do pênis e sua extensão (setas) em *L. gymnocercus*. Corpo do pênis; Glande a: bulbo da glande, Glande b: parte longa da glande. Barra de escala 2cm. (III) Corte longitudinal da glande do pênis de *C. thous*. Em a: bulbo da glande; notar expansão do corpo esponjoso disposto dorsalmente ao osso peniano (op); lâmina interna do prepúcio (seta); b: parte longa da glande. Barra de escala 1cm.



**Figura 9** – Fotomacrografia dos cortes transversais do pênis de *C. thous*. A: raíz do pênis; cc – corpo cavernoso, ce – corpo esponjoso, u – uretra peniana, mic – m. isquiocavernos, mbe – m. bulboesponjoso, ta – túnica albugínea. B e C: corpo do pênis proximal e distal, respectivamente; cc – corpo cavernoso, ce – corpo esponjoso, u – uretra, ta – túnica albugínea; notar septo medial (s) em C. D: glande do pênis - bulbo da glande; notar a presença do osso peniano (op) formando um sulco uretral\*, ce – corpo esponjoso, ta – túnica albugínea, u – uretra. E: glande – parte longa da glande; ce – corpo esponjoso, op - osso peniano, u- uretra, ta – túnica albugínea. Barra de escala 1cm.

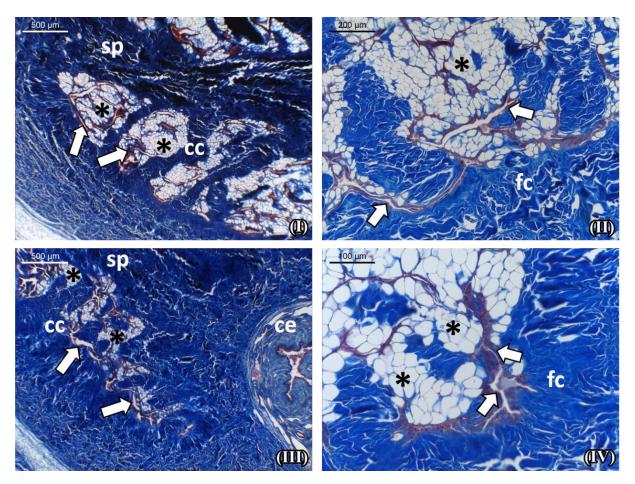
## 5.2 ANATOMIA MICROSCÓPICA DO PÊNIS DE C. Thous e L. gymnocercus

A uretra peniana é revestida por uma mucosa pregueada, formada por epitélio de transição que repousa sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo (Figura 9).



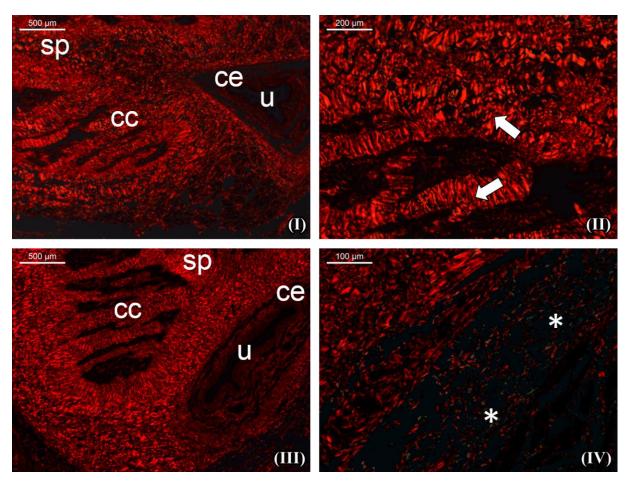
**Figura 10 -** Fotomicrografias de cortes da uretra (U) envolta pelo corpo esponjoso (ce) de *C. thous* (I e II) e *L. gymnocercus* (III e IV). A uretra de *C. thous* (I) e *L. gymnocercus* (III) apresenta mucosa pregueada. Em (III) notar parte do corpo cavernoso (cc). Coloração: HE. Em (II) e (IV) uretra (u), revestida por uma mucosa (m) (epitélio de transição e lâmina própria de tecido conjuntivo) pregueada e envolta pelo corpo esponjoso (ce). Notar feixes de fibras de colágeno dispostas com diferentes orientações (setas) na estruturação da histoarquitetura peniana de *C. thous* e *L. gymnocercus*; Coloração: Tricrômico de Mallory.

O corpo esponjoso e o corpo cavernoso contêm vasos sanguíneos irregulares, os seios vasculares. No corpo cavernoso, os feixes de fibras colagenosas são mais espessos em comparação com a região do corpo esponjoso, havendo regiões com predomínio de tecido adiposo. Essas regiões de tecido adiposo são separadas por trabéculas de feixes de fibras de colágeno (Figura 10).



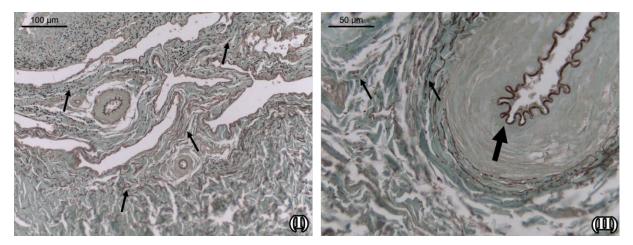
**Figura 11** - Fotomicrografias de cortes do corpo cavernoso (cc) de *C. thous* (I e II) e *L. gymnocercus* (III e IV). Em (I) e (III): cc – corpo cavernoso, sp – septo; em (III) ce – corpo esponjoso. Notar trabéculas de feixes de fibras de colágeno separando regiões de tecido adiposo (\*) e a grande quantidade de estruturas vasculares (em marrom-avermelhado) (setas). Em (II) e (IV): Feixes espessos de fibras de colágeno (fc) ocorrem dispostas em várias direções. Notar região de acúmulo de tecido adiposo (\*) e estruturas vasculares (setas). Coloração: Tricrômico de Mallory.

As fibras de colágeno participam estruturalmente da histoarquitetura peniana de *C. thous* e *L. gymnocercus*. Os tecidos eréteis (corpo cavernoso e esponjoso) são estruturados por feixes de fibras de colágeno em diferentes orientações, os quais mostram-se mais espessas em todo o corpo cavernoso e fáscia conjuntiva do pênis. No corpo esponjoso notam-se feixes de fibras mais delgados (Figura 11).



**Figura 12** - Fotomicrografias de cortes transversais do pênis de *C. thous* (I) e *L. gymnocercus* (III): cc – corpos cavernosos, ce – corpo esponjoso, sp – septo, u – uretra. Notar fibras vermelhas birrefringentes, indicando o predomínio de feixes de fibras colagenosas densamente compactadas. Em (II) notar intenso vermelho ocasionado pelo predomínio de feixes espessos de fibras de colágeno na histoarquitetura do corpo cavernoso do pênis de *C. thous*. Em (IV) notar fibras delgadas esverdeadas birrefringentes ventrais ao corpo esponjoso (*L. gymnocercus*), indicando arranjo frouxo das fibras de colágeno. Coloração: Picrossirius red com observação ao microscópio de luz polarizada.

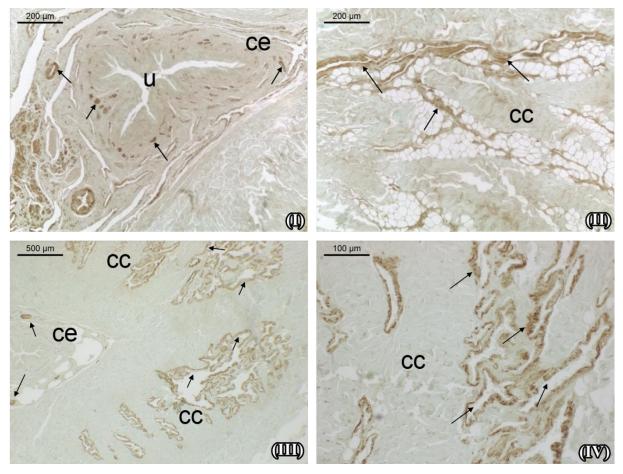
As fibras elásticas também estão presentes em grande quantidade e dispersas em diferentes orientações por todo o tecido conjuntivo e ao redor de estruturas vasculares (Figura 12).



**Figura 13** - Fotomicrografias da área de corpo esponjoso de *C. thous* (I) e *L. gymnocercus* (II). As fibras do sistema elástico (setas) estão distribuídas por todo o tecido conjuntivo, além de participar da estruturação da parede de vasos. As fibras do sistema elástico são visualizadas em marrom pela coloração seletiva da orceína.

Tanto o bulbo quanto a parte longa da glande assemelham-se morfologicamente ao corpo esponjoso, sendo que o bulbo é contínuo com o corpo esponjoso. Todavia, a parte longa da glande tem maior quantidade de vasos (arteriais e venosos) em suas trabéculas. Foi possível verificar que, na região da glande, as anastomoses vasculares são frequentes.

As células musculares lisas são escassas e restritas às regiões das estruturas vasculares, ocorrendo na região de submucosa do corpo esponjoso e no tecido conjuntivo da região do corpo cavernoso (Figura 13).



**Figura 14** - Fotomicrografia evidenciando as células musculares lisas na submucosa do corpo esponjoso (ce), ao redor de estruturas vasculares e na parede de estruturas vasculares presentes por entre as células adiposas do tecido adiposo do corpo cavernoso (cc) de C. thous (I e II) e L. gymnocercus (III e IV). Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.

### 5.3 HISTOMORFOMETRIA

Foram analisadas as áreas penianas dos corpos cavernosos e esponjosos, a área luminal da uretra e a área total do pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*. (Tabela 1).

**Tabela 1** – Histomorfometria das médias (mm²) e desvio padrão das áreas penianas de C. *thous* e L. *gymnocercus* e o valor de P obtido do teste t de Student não pareado.

	C. thous	L. gymnocercus	Valor de P
	(n=5)	(n=5)	
Área luminal da uretra	$0,089 \pm 0,048$	$0,095 \pm 0,037$	0,8177
Área do corpo cavernoso	$9,929 \pm 2,607$	$6,083 \pm 1,048$	0,0156*
Área do corpo esponjoso	$1,520 \pm 0,188$	$2,068 \pm 0,424$	0,0297*
Área total do pênis	$26,981 \pm 4,842$	$20,228 \pm 5,245$	0,0673

<sup>\*</sup> P < 0.05

## 6. DISCUSSÃO

De acordo com alguns autores (NICKEL et al., 1979; DYCE et al., 2010; KÖNIG & LIEBICH, 2016), o pênis dos mamíferos domésticos pode ser classificado de acordo com sua constituição dos elementos teciduais em dois tipos: pênis fibroelástico e pênis do tipo músculo cavernoso. No pênis do tipo fibroelástico, a histoarquitetura é predominantemente composta por fibras de colágeno e fibras do sistema elástico, tendo como característica a flexura sigmoide no período de relaxamento, sendo esta flexura desfeita no momento da cópula com consequente aumento do pênis em comprimento. Este tipo é observado em ruminantes e suínos. O pênis do tipo músculo cavernoso ou vascular não apresenta a flexura sigmoide, tendo seu aumento, tanto em diâmetro como em comprimento, no momento da copula.

A caracterização da arquitetura tecidual com o predomínio de tecido conjuntivo no pênis de cão domésticos foi demonstrada por Aughley e Frye (2001), ao analisar o corpo do pênis em corte transversal e corado por Tricrômico de Gomori. Entretanto, os autores o classificaram como tipo vascular, sendo esta classificação utilizada como sinônimo para pênis do tipo musculocavernoso. Esta classificação é reforçada por esses autores, ao incluir os pênis de cães como semelhantes ao de gatos, equino e o homem.

De acordo com De Brito-Gitirana (2019), os elementos fibrosos do tecido conjuntivo preferencialmente formado por fibras à base de colágeno quando submetidos ao Tricrômico de Gomori são visualizados em verde, e em azul quando corados em Tricrômico de Mallory. Segundo a autora (comunicações pessoais), a coloração pelo picrossírius red permite observar o arranjo dos elementos fibrosos à base de colágeno, não sendo possível correlacionar a cor dos elementos fibrosos (ao microscópio de polarização) com o tipo de colágeno. No presente estudo, o pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus* foi submetido a coloração de Tricrômico de Mallory (fibras em azul) e picrosirius red (fibras vermelhas fortemente birrefringente), verificou-se que a matriz é predominantemente composta por fibras de colágeno num arranjo denso; entretanto, a coloração pela Orceína indicou a presença de fibras elásticas, indicando que o pênis de ambos animais é do tipo fibroelástico.

De acordo com Pierárd (1989), ao analisar mais de 200 biópsias de pele com alterações estruturais da derme sob a técnica de Sirius red sob luz polarizada, concluiu que o método de picrossirius red analizado sob luz polarizada é útil para visualizar a organização dos tecidos conjuntivos, mas não a composição molecular de seus polímeros fibrosos, ou seja, os tipos de colágeno principalmente. Para o autor, até mesmo fibras do sistema elástico, em algumas

situações patológicas, podem ser reveladas nesse método. Em nosso estudo, os animais não apresentavam histórico e nem sinais patológicos.

Christensen (1954), ao analisar 187 cães domésticos, observou que o pênis de cão é muito mais fibroso quando comparado com o pênis de equino e do homem; entretanto, nenhuma classificação foi proposta pelo autor. Apesar deste achado, o comportamento fisiológico do pênis do cão doméstico revela características do pênis musculo-cavernoso devido à trama vascular especializada, disposta na expansão do corpo esponjoso e que constitui a glande do pênis. Estas características relatadas no estudo da morfologia externa da glande do pênis em cães realizado por Hart e Kitchell (1965) podem ter levado à classificação equivocada do tipo de pênis de cão. No presente estudo, as mesmas estruturas identificadas na glande do pênis de cão foram observadas no pênis de *C. thous* e de *L. gymnocercus*.

A Nômina Anatômica Veterinária (INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE, 2017), não propõem quaisquer classificações para os pênis de animais domésticos, entretanto, ao destacar as modificações presentes na glande do pênis dos animais, tratam este seguimento como vascular tanto para carnívoros como para equinos, o que neste caso é correto, visto que com base no presente estudo e nas descrições da glande para os cães domésticos o corpo esponjoso que constitui este seguimento peniano, apresenta uma rede de trabéculas elásticas que contém e suportam uma trama vascular especializada. Este fato pode ter contribuído também para a classificação equivocada na literatura para o pênis de cão.

Nos pênis do tipo músculo-cavernoso ou considerado vascular presentes no cavalo, no homem (AUGHLEY & FRYE, 2001), em coelhos (ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2010) e recentemente demonstrado no canguru (WARBURTON *et al.*, 2019), os elementos fibrosos do tecido conjuntivo também estão presentes na composição da histoarquitetura peniana. Contudo, fica evidente a maior concentração de tecido muscular na composição do corpo cavernoso em contraste com a túnica albugínea que o envolve. Essas considerações são corroboradas pelas colorações, como os "tricrômicos" e, que frequentemente são confirmadas pela imunomarcação para anti-alfa-actina para músculo liso. No presente estudo, os arranjos musculares não foram claramente observados nos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*, tendo sido observada células musculares to tipo lisa revestindo apenas a parede dos seios cavernosos, esponjosos e compondo a parede das artérias. Tal achado é semelhante aos relatos de Pinheiro *et al.* (2000) para ratos, Babinski *et al.* (2005) para javali e por Ribeiro *et al.* (2013) para búfalos e bovinos, cujos pênis desses animais foram classificados como do tipo fibroelástico.

Ressalte-se ainda que, tanto em *C. thous* quanto em *L. gymnocercus*, os pênis não apresentaram a flexura sigmoide assim como ocorre nas descrições sobre o pênis de cão doméstico (CHRISTENSEN, 1954; NICKEL *et al.*,1979; DYCE *et al.*, 2010; EVANS & De LAHUNTA, 2013; KÖNIG & LIEBICH, 2016). A flexura sigmoide é comumente associada a classificação do pênis tipo fibroelástico (NICKEL *et al.*, 1979; DYCE *et al.*, 2010, KÖNIG & LIEBICH, 2016). Assim, apoioado nos achados em *C. thous* e *L. gymnocercus*, os pênis podem ser melhor agrupados pela classificação proposta por Wrobel e Bergmann (2006) ao se considerar a classificação para os cães, que relatata três tipos de pênis de acordo com o desenvolvimento de tecidos eréteis em vez de elementos fibrbosos do tecido conjuntivo. O primeiro, "pênis do tipo vascular", continha feixes de tecido muscular. O segundo, "pênis do tipo fibroso", tinha elementos conjuntivos fibrosos bem desenvolvidos no tecido erétil e, o terceiro, "pênis do tipo intermediário", tinha moderada quantidade de elementos conjuntivos. Com base nesta classificação, os autores classificaram o pênis de humano e equídeos como pênis tipo vascular, enquanto o pênis de ruminantes, suínos e javalis como pênis tipo fibroso e o pênis de cães e gatos como tipo intermediário.

As fibras elásticas também ocorrem abundantemente no corpo esponjoso, cavernoso, na túnica albugínea e por toda matriz peniana de *C. thous* e *L. gymnocercus*. Estes elementos também foram descritos em diversos estudos sobre o pênis de mamíferos em condições normais (PINHEIRO *et al.*, 2000; BABINSKI *et al.*, 2005; MAIA *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2013; SCHIMMING & MORAES, 2018) como em diferentes situações fisiológicas (ABIDU-FIGUEIREDO *et al.*, 2013, BORGES *et al.*, 2017).

De acordo com os estudos de Cotta-Pereira *et al.* (1976), Kreis e Vale (1993) e Kielty (2006), as fibras do sistema elástico estabilizam o colágeno e caracterizam áreas teciduais engajadas com a elasticidade e extensibilidade; essas fibras elásticas ocorrem normalmente em estruturas que, após aplicação de forças de alongamento, sofrem deformação e, uma vez cessadas essas forças, o tecido retorna à sua forma original.

Ainda que nenhuma quantificação tenha sida realizada para as fibras do sistema elástico, a grande quantidade bem como as diferentes orientações espaciais na distribuição destes elementos nos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus* revela semelhança com o arranjo observado no pênis do cão doméstico (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; EVANS & De LAHUNTA, 2013), sugerindo que os pênis destes animais possam adotar o mesmo comportamento fisiológico na cópula, ou seja, permitem um comportamento morfofuncional do tipo músculo cavernoso com aumento do comprimento e do diâmetro.

Por outro lado, considerando que o ICVGAN (International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature) é o órgão responsável por regulamentar e unificar a nomenclatura anatômica, o ICVGAN determina dentre os seus princípios que a terminologia deve ser simples e clara e acima de tudo de caráter descritivo e instrutivo. Dessa forma, não parece adequado a inclusão dos pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus* na classificação de musculo cavernoso uma vez que não foi observada uma histoarquitetura condizente com esta classificação. Sendo assim, o estado fisiológico do pênis destas espécies não deve ser determinante para a sua classificação.

A presença de corpos cavernosos pares localizados dorsolateralmente e um corpo esponjoso único ventralmente, envoltos por uma fáscia de tecido conjuntivo - a túnica albugínea, são relatos presentes em vários estudos com mamíferos placentários (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; NINOMIYA et al., 1989; PINHEIRO et al., 2000; BABINSKI et al., 2005; ATALAR & CERIBASI, 2006; MAIA et al., 2006; MOLLINEAU et al., 2006; HERDINA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2013; ABIDU-FIGUEIREDO et al., 2013; BORGES et al., 2017; SAADON, 2016; AKBARI et al., 2018; SCHIMMING & MORAES, 2018) e em um representante da infraclasse Marsupialia (WARBURTON et al., 2019) corroborando com os resultados observados em *C. thous e L. gymnocercus*.

A disposição dos tecidos eréteis (corpos cavernosos e corpo esponjoso) em *C. thous* e *L. gymnocercus* é semelhante ao do cão, como descrito por Christensen (1954), Hart e Kitchell (1965), Ninomiya *et al.* (1989), Evans e De Lahunta (2013) e Saadon (2016). Para os autores, os corpos cavernosos são separados na raiz e originados nos músculos isquicavernosos; à medida que se continuam distalmente, eles se fusionam na região do corpo do pênis. No entanto, um septo mediano de tecido fibroso permanece por toda a extensão do corpo do pênis. Já o corpo esponjoso surge na raiz do pênis a partir do bulbo do pênis constituído pelo músculo bulboesponjoso de modo a envolver a uretra peniana, seguindo distalmente por toda a extensão do corpo do pênis. Ressalte-se que o corpoesponjoso é o único tecido erétil encontrado na região da glande que recobre e sustenta o osso peniano.

As especializações presentes da glande do cão assim como a presença do bulbo da glande e a parte longa da glande que envolvem o osso peniano disposto internamente (CHRISTENSEN, 1954; HART & KITCHELL, 1965; NINOMIYA *et al.*, 1989; NICKEL *et al.*, 1979, DYCE *et al.*, 2010, EVANS & De LAHUNTA, 2013; KÖNIG & LIEBICH, 2016) são circundadas por uma túnica albugínea rica em fibras elásticas. A túnica albugínea continua

com trabéculas que delineiam espaços contendo tecido erétil, estruturando um plexo de grandes cavernas (WROBEL & BERGMANN, 2006) que dão suporte ao comportamento de cópula deste animal, uma vez que o osso permite a penetração do pênis não totalmente ereto na vagina da fêmea. Além disso, o aumento do fluxo sanguíneo e completo ingurgitamento da glande peniana excede o diâmetro do canal vaginal e prende o macho à fêmea (BEACH, 1970; STABENFELDT & EDQVIST, 1996). Tal comportamento permite a ejaculação completa do macho, favorecendo a sua reprodução, uma vez que, no caso específico do cão, a ejaculação é intermitente (BEACH, 1970; JONHSTON *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2016).

Apesar do presente estudo ter caráter morfológico, não incluindo avaliação do comportamento de cópula de espécimes vivos de *C. thous* e *L. gymnocercus*, é razoável supor que este mesmo comportamento seja realizado pelas espécies do presente estudo.

Em mamíferos eutérios, como primatas não humanos, roedores, quirópteros e carnívoros em geral, o pênis pode ser enrijecido por uma estrutura óssea chamada osso peniano (HAMILTON, 1949), sendo essa estrutura altamente variável, podendo ser pequena ou alongada. Tipicamente o báculo ou osso peniano consiste em uma haste ossificada na extremidade distal do corpo cavernoso e se estende para a glande, aumentando sobre influência hormonal pela testosterona (DIXSON, 1998).

Várias hipóteses têm sido formuladas para explicar o surgimento do osso peniano. Alguns autores sugerem que o osso peniano surgiu como um subproduto da seleção indireta e pleiotropia (BURT, 1960; MAYR, 1963). Em contrapartida, os custos energéticos para o crescimento e manutenção dessa estrutura, bem como os riscos de infecção, fratura ou ruptura (SANDERSON, 1950; BOLTON *et al.*, 1996; KIERDOF, 1996) sugerem que o osso do pênis é uma característica adaptativa (LARIVIÈRE & FERGUSON, 2002).

Apesar das hipóteses em relação da presença de osso peniano e seleção sexual, Hosken *et al.* (2018) ressaltaram que inferências filogenéticas relacionadas às diferenças na morfologia e tamanhos de pênis em animais não são possíveis, visto que ainda existem muitas lacunas na literatura em relação à caracterização morfológica em muitas espécies e sobretudo análises moleculares mais abrangentes.

Embora a morfologia do osso peniano de *C. thous e L. gymnocercus* seja apenas de caráter macroscópico, a sua estrutura revelou semelhança àquelas descrições realizadas para o cão doméstico (CHRISTENSEN, 1954; NICKEL *et al.*, 1979; DYCE *et al.*, 2010, EVANS & De LAHUNTA, 2013; KÖNIG & LIEBICH, 2016). Neste contexto, as inferências clínicas feitas para o cão doméstico sobre a maior predisposição para a retenção de urólitos e

consequentemente obstrução uretral pela limitação da expansão uretral (BJORLING, 1998) parecem ser razoáveis para *C. thous e L. gymnocercus*. Sendo assim, o conhecimento da estrutura pode favorecer o manejo adequado destas espécies em caso da criação em cativeiro, seja em centros de triagem de animais silvestres ou zoológicos; além disso, as demandas clínicas que envolvam o pênis destes animais podem ser mais rapidamente solucionadas de modo a favorecer o prognóstico e contribuir com o bem-estar e a conservação destas espécies.

Neste estudo, feixes de fibras de colágeno foram identificadas nos espaços cavernosos formando trabéculas associadas aos aglomerados de adipócitos e vasos sanguíneos como descritos nos estudos de Christensem (1954) e Saadon (2016) para o pênis de cão doméstico.

Em relação à uretra peniana de *C. thous* e *L. gymnocercus* foi dmostrado que a uretra é formada por epitélio de transição (urotélio) que repousa sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo, constituindo uma mucosa pregueada, como descrita nos pênis de outros mamíferos (WROBEL & BERGMANN, 2006).

A histomorfometria peniana tem sido utilizada para demonstrar medidas de espécimes em condições normais e comparar com espécimes em condições de privações hormonais ou outras situações fisiopatológicas controladas (EL-SAKKA, 2011; MIRANDA *et al.*, 2012; BORGES *et al.*, 2017). O objetivo é analisar as possíveis mudanças na composição tecidual e ou tamanho das áreas penianas de modo a contribuir para a identificação das alterações patológicas que possam acometer o pênis, além de permitir um prognóstico mais acertado.

El-Sakka (2011) ressalta a importância da testosterona sobre o sistema genital masculino, tendo observado redução de 21% da área do corpo cavernoso após um mês de castração, em ratos. Este achado vai de encontro aos relatos de Miranda *et al.* (2012) ao descrever que a privação de andrógenos em ratos após castração induziam modificações nas estruturas penianas, incluindo alterações morfológicas no endotélio, redução no músculo liso trabecular e um aumento no número de adipócitos adjacentes à túnica albugínea do corpo cavernoso.

No presente estudo, os espécimes de *C. thous* e *L. gymnocercus* eram todos adultos provenientes de vida livre, coletados no ambiente, tendo sido mortos por atropelamento em rodovias e, deste modo, animais inteiros e sem histórico. Contudo, nenhuma evidência macroscópica de patologia foi constatada. Por conseguinte, áreas penianas como a área total do pênis, área do corpo cavernoso, área do corpo esponjoso e área luminal da uretra foram medidas e comparadas entre as espécies, uma vez que, até o presente momento, não foi encontrado nenhum relato em relação à morfologia do pênis destas espécies na literatura. Deste modo, os

resultados aqui apresentados podem auxiliar na interpretação de achados clínicopatológicos que possam acometer indivíduos desta espécie.

Borges *et al.* (2017), ao comparar o efeito da castração sobre a histoarquitetura peniana de gatos castrados e inteiros, não observaram diferenças estatísticas nas áreas analisadas morfometricamente. Entretanto, os autores destacam alterações da matriz extracelular em indivíduos castrados, além de observar alterações na área luminal da urtetra, ainda que estatisticamente não significativas. No presente estudo, a área luminal da uretra de *C. thous* e *L. gymnocercus* (0,089  $\pm$  0,048 e 0,095  $\pm$  0,037, respectivamente) não apresentou diferenças estatísticas (P = 0,8177).

Neste estudo foi observado diferença numérica, entretanto, não representou uma diferença estatística (P = 0.0673) para a área total do pênis em C. thous mediu ( $26.981 \pm 4.842$ ) e em L. gymnocercus ( $20.228 \pm 5.245$ ). Além disso, em relação aos tecidos eréteis, a área do corpo cavernoso de C. thous foi significativamente maior ( $9.929 \pm 2.607$ ) quando comparada com a área do corpo cavernoso de C. gymnocercus ( $6.083 \pm 1.048$ ) (P = 0.0156). Por outro lado, a área de corpo esponjoso de C. gymnocercus foi significativamente maior ( $2.068 \pm 0.424$ ) em relação ao corpo esponjoso de C. thous ( $1.520 \pm 0.188$ ) (P = 0.0297).

## 7. CONCLUSÕES

Os pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus* apresentaram a origem, morfologia macroscópia e microscópica semelhantes ao do cão doméstico.

A classificação anatômica do pênis proposta pela literatura anatomica animal não contempla na totalidade a organização estrutural do pênis de *C. thous* e *L. gymnocercus*.

Em relação às medidas obtidas para os pênis de *C. thous*, a área de corpo cavernoso foi significativamente maior quando comparada àquela de *L. gymnocercus*. Em contrapartida, *L. gymnocercus* revelou área de corpo esponjoso significativamente maior quando comparada à mesma área em *C. thous*.

Os resultados apresentados no presente estudo podem auxiliar na compreensão do comportamento de cópula destes animais, melhorando o manejo e promovendo a melhoria de estratégias reprodutivas em animais de cativeiro. Além disso, os resultados contribuem para aprimorar a conduta clínica em apoio ao diagnóstico de doenças que envolvam este órgão, promovendo melhoria da qualidade de vida destas espécies, além de contribuir para aumento das informações na área de morfologia animal comparada.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIDU, F. M.; RIBEIRO, I. C.; CHAGAS, M. A.; CARDOSO, L. E. M.; COSTA, W. S.; SAMPAIO, F. J. B. The penis in diabetes: structural analysis of connective tissue and smooth muscle alterations in a rabbit model. **BJU International**, v. 108, p. 400-404, 2010.

ABIDU, F. M.; COSTA W.S.; CHAGAS M.A.; SAMPAIO F.J.B.; CARDOSO L.E.M. Agerelated changes in the concentration of elastic fibers in different regions of the rabbit penis. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 28, p. 378-384, 2013.

AGNARSSON, I.; KUNTNER, M.; MAY-COLLADO, D. J. Dogs, cats and kin: a molecular species-level phylogeny of Carnivora. **Molecular Phylogenetics**. v. 54, p.726-745, 2010.

AKBARI, G.; BABAEI, M.; GOODARZI, N. The morphological characters of the male external genitalia of the european hedgehog (*Eurinaceus europaeus*). **Folia Morphologica**, v. 77, n. 2, p. 293-300, 2018.

AMARAL, C. Dieta de duas espécies carnívoras simpátricas (Graxaim-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) e quati *Nasua nasua* (Linnaeus, 1766) nos municípios de Tijucas do Sul e Agudos do Sul, Estado do Paraná. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. p. 55. 2007

ATALAR O.; CERIBASI A.O. The morphology of the penis in porcupine (*Hystrix cristata*). **Veterinarni Medicina**. v. 51. n. 2, p. 66–70, 2006.

AUGHLEY, E.; FRYE, L.F. Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlated. Manson Publishing Ltd, London. 2001

BABINSKI, M. A.; BRITO-GITIRANA, L.; CHAGAS, M. A.; ABIDÚ, F. M.; COSTA, W. S.; SAMPAIO, F. J. B. Immunohistochemical analysis of smooth muscle cells and volumetric density of the elastic system fibers of wild boar (Sus scrofa) penis. **Animal Reproduction Science**, v.86, n. 3-4, p. 317–328, 2005.

BARBOZA, R. R.; SOUTO, W. M. S.; MOURÃO, J. S. The use of zootherapeutics in folk veterinary medicine in the district of Cubati, Paraíba State, Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, n.1, p. 32, 2007.

BARISSON, J. D.; LOURO, C.H.; DIAS, S.J.T.; JOJIMA, F.S.; FERREIRA M.S.; OLIVEIRA F.S. Anatomo-radiographic description of the axial skeleton of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.1, p. 1-3, 2012.

BEACH, F. A. Coital behavior in dogs. IX. Sequelae to "Coitus Interruptus" in Male and Females. **Physiology and Behavior**, v. 5, p. 263-268, 1970.

BEISIEGEL, B. M.; LEMOS, F. G.; AZEVEDO, F. C.; QUEIROLO, D.; JORGE, R. S. P. Avaliação do risco de extinção do cachorro do mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 138-145, 2003

BENEDICTO H.G.; SENOS R.; MUNIZ T. Description of gluteal nerves in acrab-eating fox (*Cerdocyon thous*). **Brazilian journal of morphological sciences**. v. 25, p.18, 2008.

BENEDICTO H.G.; SENOS R. Distribuition of the femoral artery in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). **Brazilian journal of morphological sciences**. v.25, n. 19, 2008.

BERTA, A. Cerdocyon thous. Mammalian species. Washington, n.186, p. 1-4, 1982.

BERTA, A. Origin, diverfication and zoogeography of the South American Canidae. **Fieldiana Zoology**, 39, 455-471, 1987.

BISBAL, F. I.; J. OJASTI. Nicho trófico del zorro *Cerdocyon thous* (Mammalia, Carnivora). **Acta biologica venezuelica**. v.10, n.4, p.469-496, 1980.

BJORLING, D. E. Cirurgia uretral. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Clínica de pequenos animais. São Paulo: Roca, p.956-964, 1998.

BORGES, N.C.S.; PEREIRA, S.M.A.; PEREIRA, V.A.; ABIDU, F.M.; CHAGAS M.A. Effects of castration on penile extracellular matrix morphology in domestic cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 19. p. 1261-1266, 2017.

BOLTON, L.A.; CAMBY, D.; BOOMKER, J. Aberrant migration of ancylostoma caninum to the os penis of a dog. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 67, p. 161–162, 1996.

BURT, W.H. **Bacula of North American mammals**. Miscellaneous publications / University of Michigan, Museum of Zoology, vol. 113, p. 1-75, 1960.

BRADY, C.A. Observation on the behavior and ecology of the crab-eating fox *Cerdocyon thous*. In: EISENBERG JF (Ed.). **Vertebrate ecology in the northen neotropics**. Washington: Smithsonian Institution Press, p.161-171, 1979.

BURCHELL, R. K.; KIRBERGER, R. M.; JANSE VAN RENSBERG, D. D. haemangiosarcoma of the os penis in a dog: The most common neoplasm of the canine penis. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 85, n. 1, 2014.

CALDEIRA, B.C.; RÊGO, DE P. T.A.; MATTA S.L.P.; BALARINI M.K.; CAMPOS, P.K. A. Morphometry of testis and seminiferous tubules of the adult crabeating fox (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766). **Revista Ceres**. v.57, p. 569-575, 2010.

CARDINAL, M.; EISENBUD, D. E.; ARMSTRONG, D. G. Wound shape geometry measurements correlate to eventual wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v.17, p. 173-178, 2009

CASTILHO, M. S.; RAHAL, S.C.; MAMPRIM, M. J., INAMASU, L. R.; MELCHERT, A. AGOSTINHO, F. S.; MESQUITA, L. R.; TEIXEIRA R. H. F.; TEIXEIRA, C. R. Radiographic measurements of the hindlimbs in crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 47, n. 3, p. 216-221, 2018.

CHEIDA, C. C.; NAKANO-OLIVEIRA, E.; FUSKO-COSTA, R.; ROCHA-MENDES, F.; QUADROS, J. **Ordem Carnívora**. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. (Ed.). Mamíferos do Brasil. 2. ed. Londrina: Nelio R. dos Reis. p. 235-288, 2011.

CHRISTENSEN, G. C. Angioarchitecture of the canine penis and the process of erection. **American Journal of Anatomy**. v. 95, p.227-262, 1954.

CHRISTIANSEN P. Scaling of mammalian long bones: small and large mammals compared. **Journal of Zoology**. v.247, p.333-348, 1999.

COOPER, T. "Lycalopex gymnocercus" (On-line), Animal Diversity Web, 2003. < <a href="https://animaldiversity.org/accounts/Lycalopex\_gymnocercus/">https://animaldiversity.org/accounts/Lycalopex\_gymnocercus/</a> > Acessado em 11 de agosto de 2021.

COUTERNAY, O.; MAFFEI, L. *Cerdocyon thous* (Crab-eating fox). In: **Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Status Survey and Conservation Action Plan** (C. SILLERO-ZUBIRI, M. HOFFMANN and D.W. MACDONALD, eds). IUCN/SSC Canid Specialist Group. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 2004.

CRESPO, J. A. Ecologia del zorro gris Dusycion Gymnocercus antiquus (Ameghino) en la província de La Pampa. **Revista del Museo Argentino de Ciências Naturales Bernardino Rivadavia**. v.1, p.148-205, 1971.

COTTA-PEREIRA, G.; GUERRA, R.F.; BITTENCOURT-SAMPAIO, S. Oxytalan, eulaunin and elastic fibers in the human skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v.66, n. 143-148, 1976.

De BRITO-GITIRANA, L.B. Coleção conhecendo: Histologia dos Tecidos. Rio de Janeiro: Publit, 2019.

DEPEDRINI, J. S.; CAMPOS, R. A. Systematic Study of the Brain Base Arteries in the Pampas Fox (Dusicyon gymnocercus). **Brazilian journal of morphological sciences**. v.20, p.181–188, 2003.

DEPEDRINI, J.S.; CAMPOS, R.A. Systematization, Distribution and Territory of the Caudal Cerebral Artery on the Surface of the Brain in Pampas Foxes (*Pseudalopex gymnocercus*). **Brazilian journal of morphological sciences**. v. 24, p.126–136, 2007.

DIXSON, A.F. Primate sexuality: comparative studies of the prosimians, monkeys, apes and human beings. Oxford University Press, 1998

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro, p.193-195, 2010.

EIZIRIK, E.; MURPHY, W. J.; KOEPFLI, K-P.; JOHNSON, W. E.; DRAGOO, J. W.; WAYNE, R. K.; O'BRIEN, S. J. Pattern and timing of diversification of the mammalian order

Carnivora inferred from multiple nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.56, p.49-63, 2010.

EL-SAKKA, A. Reversion of penile fibrosis: current information and a new horizon. **Arab Journal of Urology**, v. 9, p. 49–55, 2011.

EMMONS, L. H. & FEER, F. Neotropical rainforest mammals: a field guide. Second edition. The University of Chicago Press, CHicago, USA, 1997.

EVANS, H. E.; de LAHUNTA, A. **Miller's Anatomy of the Dog**. 4.ed. Saunders/Elsevier, St. Louis, Missouri, USA. 2013. 872 pp.

FACURE, K.G.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Feeding habits of the crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Carnivora, Canidae) in a suburban area of southeastern Brazil. **Mammalia**. v.60, p. 147-149, 1996.

FACURE, K.G.; GIARETTA, A.A.; MONTEIRO-FILHO, E.L.A. Food habits of *Cerdocyon thous*, in an altitudinal forest of the Mantiqueira Range, southeastern Brasil. **Mammalia**. v.67, n.4, p.503-511, 2003.

FERGUSON S.H.; LARIVIÈRE S. Are long penis bones an adaption to high latitude snowy environments? **Oikos**. v.105, p.255-267, 2004.

FERNANDES, G. J. M. **Eponímia: glossário de termos epônimos em Anatomia; Etimologia: dicionário etimológico da nomenclatura anatômica**. São Paulo: Plêiade, p. 297, 1999.

GITTLEMAN, J. L.; FUNK, S. M.; MACDONALD, D.; WAYNE R. K. **Why "carnivore conservation"?** Inglaterra: Cambridge University Press. 675p. 2001.

GOERICKE, P, S.; HÖLSCHER, C.; FAILING, K.; WEHREND, A. Functional anatomy and ultrasound examination of the canine penis. **Theriogenology**, v. 80, p. 24-33, 2013.

GONZALEZ, R.C.; WOODS, R.E. **Processamento de Imagens Digitais**. Ed Edgard. Blücher; São Paulo, 2000.

GOSWAMI A. Morphological integration in the carnivoran skull. **Evolution**, v. 60, p.169-183, 2006.

HAMILTON, W.J.; J.R. The bacula of some North American vespertilionid, bats. **Journal of Mammalogy**, v. 30, p. 97-102, 1949.

HANYU, S. Morphological changes in penile vessels during erection: The mechanism of obstruction of arteries and veins at the tunica albuginea in Dog Corpora Cavernosa. **Urologia Internationalis**, v. 43.n 4. p. 219-224, 1988.

HANYU, S.; IWANAGA, T.; TAMAKI, M.; KEN-ICHI, K.; SATO, S. Increase in venous outflow from the corpora cavernosos during mild erection in dogs. **Urologia internationalis**, v. 58, p. 58-63, 1992.

HART, B. L.; KITCHELL, R. L. External morphology of the glans penis of the dog. **Anatomical record**. v. 152, p.193-198, 1965.

HELENO, A.R.; SANTOS, L.M.; MIGLINO, M.A.; PERES, J.A.; GUERRA, R.R. Biometry, histology, and morphometry of the digestive system of wild crab--eating fox (*Cerdocyon thous*). **Biotemas**. v.24, p.111-119, 2011.

HERDINA, A. N.; HERZIG-STRASCHIL, B.; HILGERS, H.; METSCHER, B. D.; PLENK, H. Histomorphology of the Penis Bone (Baculum) in the Gray Long-Eared Bat Plecotus austriacus (Chiroptera, Vespertilionidae). **Anatomical Record**, v. 293 p.1248-1258, 2010.

HOSKEN, D. J.; ARCHER, C. R.; HOUSE, C. M.; WENDELL, N. Penis evolution across especies: divergence and diversity. **Nature Reviews Urology**. p. 1-9, 2018

HUNTER, L. Carnivores of the world. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ, 2011.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. http://www.icmbio.gov.br/cenap/carnivoros-brasileiros.html <acessado em: 25 de julho de 2019>

JÁCOMO, A.T.A.; L. SILVEIRA, A.F.; DINIZ-FILHO. Niche separation between the maned wolf (Chrysocyon brachyurus), the creab-eating fox (*Dusicyon thous*) and the hoary fox (*Dusicyon vetulus*) in central Brasil. **Journal of Zoology**. v.262, p.99-106, 2004.

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. Canine and Feline Theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001, 592p.

JUAREZ, K.M.; J. MARINHO-FILHO. Diet hábitat use, and home range of sympatric canids in central **Brazil. Journal of Mammalogy**. v.83, n.4, p. 925-933, 2002.

JUNQUEIRA, L.C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemistry Journal**, v.11, p.447-455, 1979.

KIELTY, C. M. Elastic fibres in health and disease. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 8, p. 1-23, 2006.

KIERDORF, U. Verheilte baculum-fraktur bei einem iltis (*Mustela putorius*). **Zeitschrift für jagdwissenschaft**, v. 42, p. 308-310, 1996.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016

KREIS, T.; VALE, R. Guidebook to the Extracellular Matrix and Adhesion Proteins. Oxford University Press, Oxford, p.40-51, 1993.

KUSTRITZ, M. V. R. Disorders of the canine penis. Clinical theriogenology. v. 31, n. 2, p. 247-258, 2001.

LANGGUTH, A. Ecology and Evolution in the South American Canids. In: FOX, M.W. (Ed.) **The wild Canids: their systematics, behavioral ecology and evolution**. Washington. Dogwise Publishing. p. 192-206, 1975.

LARIVIÈRE, S.; FERGUSON, S.H. On the evolution of the mammalian baculum: vaginal friction, prolonged intromission or induced ovulation? **Mammal Review**, v. 32, p. 283-294, 2002.

LETNIC, M.; RITCHIE, E. G.; DICKMAN, C. R. Top predators as biodiversity regulators: the dingo Canis lupus dingo as a case study. **Biological Reviews**. v. 87, p.390-413, 2012.

LILLIE, R. D.; FULLMER, H. M. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 4th ed. McGraw-Hill, New York .1976

LORENZÃO, C.J.; ZIMPEL, A.V.; NOVAKOSKI, E.; SILVA, A.A.; MARTINE, P. M.A. Comparison of the Lumbosacral Nerves Formation in Pampas Fox (Pseudalopex gymnocercus) and Crab-Eating-Fox (Cerdocyon thous) in Relationship to Plexus Models in Dogs. **Anatomical Record**. v.299, p.361–369, 2016.

LUCHERINI, M. *Cerdocyon thous*. **The IUCN Red List of Threatened Species**:T4248A81266293.

http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T4248A81266293.en. 2015

LUCHERINI, M. *Lycalopex gymnocercus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**: e.T6928A85371194. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T6928A85371194.en. 2016

LUGOCH G., TAVARES N.C.; SOUZA JUNIOR P. Comparação da formação anatômica entre os nervos do plexo lombossacral que suprem o membro pélvico de *Cerdocyon thous* (graxaim-do-mato) e *Lycalopex gymnocercus* (graxaim-do-campo). Anais IV Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, Bagé, RS.(Resumo) .2012

LYRAS G.A.; VAN DER GEER A.A.E. External brain anatomy in relation to the phylogeny of Caninae (Carnivora: Canidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**.v.138, p. 505-522, 2003.

MACHADO, F. A.; HINGST-ZAHER, E. Investigating South American biogeographic history us ing pat terns of skull shape variation on Cerdocyon thous (Mammalia: Canidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 98, p. 77-84, 2009.

MACHADO, L. C.; ROBALLO, K. C. S.; CURY, F. S.; AMBRÓSIO, C. E. Female reproductive system morphology of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) and cryopreservation of genetic material for animal germplasm bank enrichment. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 46, n. 6, pp. 539-546, 2017.

MAIA, R. S.; BABINSKI, M.A.; ABIDU, F. M.; CHAGAS M.A; COSTA, W.S.; SAMPAIO, F.J.B. Concentration of elastic system fibers in the corpus cavernosum, corpus spongiosum, and tunica albuginea in the rabbit penis. **International Journal of Impotence Research**. v.18, n. 2, p.121-125, 2006.

MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. **Métodos Quantitativos em Morfologia**, 1 ed. Rio de Janeiro: EDUERJ, 1995.

MATTOS, K.; CARVALHO, N.C.; SOUZA, J. P. Descrição anatômica e mensuração da laringe do *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). **Anais do XXI Congresso de Iniciação Científica da UFPel**, Pelotas, RS. (Resumo). 2012

MAYR, E. Animal species and evolution. Harvard University Press, Cambridge, 1963.

MEDEL, R., F. JAKSIC. Ecología de los canideos sudamericanos: una revisión. **Revista Chilena de Historia Natural**, vol. 61, p. 67-79, 1988

MENEZES, L.T.; SANTOS, A.L.Q.; MORAES, F.M.; KAMINISHI, A.P.S.; LEONARDO T.G.; NASCIMENTO L.R. Anatomical types of renal arteries in crab-eating fox (*Cerdocyon thous* - Hamilton-Smith, 1839). **Pubvet**. v.5, p.1074, 2011.

MOLLINEAU, W.; ADOGWA, A.; JASPER, N.; YOUNG, K.; GARCIA, G. The Gross Anatomy of the Male Reproductive System of a Neotropical Rodent: the Agouti (*Dasyprota leporina*). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 35, n.1, p. 47–52, 2006.

MONTGOMERY, G.G.; LUBIN, Y. Social structure and food habits of the crab-eating fox in Venezuela Llanos. **Acta Cientifica Venezolana**. v. 29, p.382-383, 1978.

NASCIMENTO, L.R.; CANELLA, V.M.; GUIMARÃES, G.C.; GONÇALEZ, P.O. Aspectos anatômicos e biométricos do aparelho digestório do cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). **Anais VI Encontro sobre Animais Selvagens e Simpósio sobre Medicina e Conservação da Faunado Cerrado**, Uberlândia, MG. 32p. 2010

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE. E. **The Anatomy of the domestic animals**. Verlag Paul Parey, Berlin. p.304–348, 1979.

NINOMIYA, H.; NAKAMURA, T.; NIIZUMA, I.; TSUCHIYA, T. Penile vascular system of the dog. An injection-corrosion and histological study. **The Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 51, n. 4, p.765–773, 1989.

NOWAK, R. M. Walker's Mammal of the World. New York: Ed Jonhs Hopkins University Press, 1999.

NOWAK, R. M. Walker's carnivores of the world. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005.

PARERA, A. Los Mamíferos de la Argentina y La Región Austral de Sudamerica. El Ateneo. Buenos Aires, 589p. 2002.

PEÇANHA, S.; JUNGER DE CARVALHO, R.; SANTOS-SOUSA, C. A; RODRIGUES DOS SANTOS, E.; SOUZA-JÚNIOR, P.; ABIDU-FIGUEIREDO, M. Arteria renal doble en Cerdocyon thous. **Revista MVZ Córdoba**, v. 25, n. 1, p. 1713, 2020

PINHEIRO, A. C. A. D.; COSTA, W. S.; CARDOSO, L. E. M.; SAMPAIO, F. J. B. Organization and relative content of smooth muscle cells, collagen and elastic fibers in the corpus cavernosum of rat penis. **Journal of Urology**, v.164, n.5, p.1802–1806, 2000.

PINHEIRO, L.L.; LIMA, A.R.; SOUZA, A.C.B.; PEREIRA, L.C.; BRANCO, E.R. Topografia do cone medular do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766): relato de caso. **Biotemas.** v.24, p.129-133, 2011.

PUKAZHENTHI, B.; WILDT, D. E. Which reproductive technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife? **Reproductive Fertility development**. v.16, p. 33-46, 2004

QUEIROLO, D., KASPER, C. B & BEISIEGEL, B. M. Avaliação do risco de extinção do Graxaim-do-campo *Lycalopex gymnocercus* (G. Fischer, 1814) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 172–178, 2013.

REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. **Mamíferos do Brasil**. Londrina, Paraná. 437p. 2006

RIBEIRO I.C.A.; ABIDU, F M.; COSTA F.B.; PEREIRA, S. M.A.; CHAGAS, M.A. Stereological study of the elastic fiber and smooth muscle cell system in the bovine and buffalo penis. **Pesquisa Veteretinária Brassileira**, v. 33. p. 107, 2013.

ROCHA, V.J.; REIS, N.R.; SEKIAMA, M. L. Dieta e dispersão são de sementes por *Cerdocyon thous* (Linnaeus) (Carnívora, Canidae), em um fragmento florestal no Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n.4, p.871–876, 2004

ROCHA, A. C. C. L. Dieta de três espécies de carnívoros simpátricos no Parque Nacional Grande Sertão Veredas, MG e Ecologia e Comportamento do lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1815). Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais. Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da vida silvestre. 112p. 2008

ROCHA, B. O.; BERNARDO, J.S.L.; LOGUERCIO, M.F.C.; FREITAS, T.R.O.; SANTOS, M.J.R.; BIDAU, C.J. Penial morphology in three species of Brazilian Tuco-tucos, *Ctenomys torquatus*, *C. minutus*, and *C. flamarioni* (Rodentia: Ctenomyidae). **Brazilian Journal of Biology**, v.73, n.1, p. 201-209, 2013.

RODRIGUES, D. F., MENDES, F. F., DIAS, T. A., LIMA, A. R., SILVA, L. A. F. O programa image J como ferramenta de análise morfométrica de feridas cutâneas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17; p. 1957, 2013.

SAADON, A. H. Anatomical and histological study of local dog penis. **Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals**. v. 4, n. 3, p 8 – 14, 2016.

SAMUELS, J.X.; MEACHEN, J.A.; SAKAI, S.A. Postcranial Morphology & the Locomotor Habits of Living and Extinct Carnivorans. **Journal of Morphology**. v.274, p. 121–146, 2013.

SANDERSON, G.C. Methods of measuring productivity in raccoons. **Journal of Zoology**, v. 14, p. 389-402, 1950.

SANTOS, J. F. P.; GOMES, E. T.; SIQUEIRA, A. K. M.; CARDOSO, R. C. S. Andrologia e criopreservação de sêmen em cães. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 4, p. 167-179, 2016.

SCHIMMING, B.C.; MORAES, G.N. Morphological analysis of the elastic and collagen fibers in the ram penis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38 n.11 p, 2159-2165, 2018.

SILVA, F. Mamíferos Silvestres do Rio Grande do Sul, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 78, 1994.

SOUZA, JÚNIOR. P.; PINTO, R.J.F.; FREITAS A.B.; CARVALHO N.C. Morfometria do forame mandibular de *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766), cachorro--do-mato. **Biotemas**. v.26, p.175-183, 2013

SOUZA, JÚNIOR. P.; CARVALHO, N.C.; MATTOS, K.; SANTOS, A.L.Q. Origens e ramificações do plexo braquial no cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34, n.10, p.1011-1023, 2014

SOUZA, JÚNIOR. P.; CRUZ, N.C.; MATTOS, K.; ABIDU, F. M.; SANTOS, A.L.Q. Brachial Plexus in the Pampas Fox (*Lycalopex gymnocercus*): A Descriptive and Comparative Analysis. **Anatomical Record**, v. 300, n. 3, p. 537-548, 2017.

SOUZA, E. C.; NETO, L. F.; SANTOS, E. A. R.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; CARVALHO, A. D.; SOUZA-JÚNIOR, P. Caracterización anatómica de los riñones del zorro pampeano (*Lycalopex gymnocercus*): morfometría, topografía y vasos renales. **Revista eletrónica de Veterinaria**, v. 19, n. 5, 2018.

SOUZA, JÚNIOR. P.; SANTOS, L. M.; VIOTTO, S. W.; CARVALHO, N. D.; SOUZA, E. C.; KASPER, C. B.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; SANTOS, A. L. Functional myology of the thoracic limb in Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*): a descriptive and comparative analysis. **Journal of Anatomy**, v.233, p. 783-806, 2018.

SOUZA-JÚNIOR, P.; SOUZA, E. C.; PEÇANHA, S. V.; BERNARDES, F. C. S.; MONTANDA, M. M.; ABIDU-FIGUEIREDO, M. Dimensions and skeletopy of kidneys in two populations of Cerdocyon thous (Linnaeus, 1766). **Acta Veterinária Brasilica**, v. 14, n. 2, 2020.

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos nos machos. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 603-614, 1996.

TRIGO, T. C.; RODRIGUES, M. L. F.; KASPER, C. B. Carnívoros Continentais. In: M. M. Weber; C. Roman; N. C. Cáceres (Eds.); **Mamíferos do Rio Grande do Sul.** 1. ed., Santa Maria: Editora UFSM p.343–405, 2013.

VALDIERO, J. B. J. G.; CUNHA, R. L. D.; BRITO-GITIRANA. L. Replacement of the background stain in the Taenzer-Unna acid Orcein method: contemporary perspective on research and histopathological diagnosis. **Acta Scientiae Anatomica**, v.1, n.2, p. 131-135, 2019.

VALKENBURGH, B. V.; WAYNE R. K. Carnivores. Current Biology, v. 20, n.21, p. 915-919, 2010.

VAZ, M.G.R.; LIMA, A.R.; SOUZA, A.C.B.; PEREIRA, L.C.; BRANCO, E. Estudo morfológico dos músculos do antebraço de cachorro-do-mato-de-orelhas-curtas (*Atelocynus microtis*) e cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). **Biotemas**, v.24, p.121-127, 2011.

VIANA-PEÇANHA, S.; SOUZA, E. C.; GUERRA, D. M. L.; BERNARDES, F. C. S.; CARVALHO, R. B. J; SOUZA-JÚNIOR, P.; ABIDU-FIGUEIREDO, M. Origin and main ramifications of coelic artery in Cerdocyon thous. **Folia Morphologica**, v. 80, n. 2, 2021.

WARBURTON, N. M.; BATEMAN, P. W.; FLEMING, P. A. Anatomy of the cavernous muscles of the kangaroo penis highlights marsupial-placental dichotomy. **Journal of Anatomy**, v. 243, n. 3, p: 306-315, 2019.

WROBEL, K.H.; BERGMANN, M. Male reproductive system. In: Eurell, J. A.; Frappier, B. L. **Dellmann's Textbook of Veterinary Histology**. 6.ed.Iowa:Blackwell, 2006.

WOZENCRAFT, W.C. Order Carnivora. In: Wilson, D.E. & Reeder, D.M. (eds.). **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.** 3 ed. Johns Hopkins University Press. p. 532-628, 2005.