

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

**TESE**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO PÊNIS DE TRÊS ESPÉCIES  
DE *Leontopithecus* LESSON, 1840 (PRIMATES: CALLITRICHIDAE).**

**Thais Mattos Estruc**

**2025**



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

**Caracterização Morfológica do Pênis de Três Espécies de *Leontopithecus*  
Lesson, 1840 (Primates: Callitrichidae).**

**THAIS MATTOS ESTRUC**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Marcelo Abidu Figueiredo**

*e Coorientação da Professora*  
**Lycia de Brito Gitirana**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Biologia Animal**, no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração em Biodiversidade Animal.

Seropédica, RJ  
Abril de 2025

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

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

E82c Estruc, Thais Mattos, 21/06/1989-  
Caracterização Morfológica do Pênis de Três Espécies  
de Leontopithecus Lesson, 1840 (Primates:  
Callitrichidae). / Thais Mattos Estruc. - Seropédica,  
2025.  
91 f.: il.

Orientador: Marcelo Abidu-Figueiredo.  
Coorientadora: Lycia de Brito-Gitirana.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Biologia  
Animal, 2025.

1. órgão copulatório. 2. mico-leão. 3. primatas. 4.  
histologia. 5. estereologia. I. Abidu-Figueiredo,  
Marcelo, 1968-, orient. II. Brito-Gitirana, Lycia de  
, -, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Biologia  
Animal. IV. Título.



TERMO Nº 254 / 2025 - PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083.019301/2025-04

Seropédica-RJ, 14 de abril de 2025.

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

THAIS MATTOS ESTRUC

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor (a) em Ciências**, no Curso de pós-graduação em **BIOLOGIA ANIMAL**,  
área de concentração em **BIODIVERSIDADE ANIMAL**

TESE APROVADA EM 11/04/2025

(Assinado digitalmente em 14/04/2025 12:51 )  
LUCIANO DA SILVA ALONSO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptAnatAH (12.28.01.00.00.00.44)  
Matrícula: 1281417

(Assinado digitalmente em 14/04/2025 10:06 )  
MARCELO ABIDU FIGUEIREDO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptAnatAH (12.28.01.00.00.00.44)  
Matrícula: 2181722

(Assinado digitalmente em 14/04/2025 16:41 )  
MAURICIO ALVES CHAGAS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 013.870.447-37

(Assinado digitalmente em 14/04/2025 17:51 )  
CARLOS AUGUSTO DOS SANTOS SOUSA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 113.489.707-31

(Assinado digitalmente em 14/04/2025 10:09 )  
YURI KARACCAS DE CARVALHO  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 261.115.318-32

(Assinado digitalmente em 14/04/2025 13:50 )  
ALCIDES PISSINATTI  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 208.501.317-15

(Assinado digitalmente em 24/04/2025 16:57 )  
PAULO DE SOUZA JUNIOR  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 078.332.717-05

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp>  
informando seu número: **254**, ano: **2025**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **14/04/2025** e o  
código de verificação: **b3d59a2335**



## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe e à minha irmã, que, com muito amor e paciência, me incentivaram a chegar até aqui.

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, minha irmã e meu pai (*in memoriam*), por todo o incentivo, dedicação e amor, por todo o auxílio psicológico e financeiro para que eu pudesse estudar, por sempre acreditarem nos meus sonhos e não me deixarem desistir deles. Eu amo vocês!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Abidu Figueiredo, agradeço profundamente pelos longos anos de trabalho e ensinamentos compartilhados comigo. Sua orientação cuidadosa e seu incansável incentivo à vida acadêmica foram fundamentais para o meu crescimento como estudante e como profissional. Além disso, sou grata pela amizade construída ao longo dessa jornada, que me proporcionou não apenas aprendizado, mas também apoio e inspiração. Sua dedicação e exemplo serão sempre uma fonte de motivação.

À minha coorientadora Profa. Dra. Lycia de Brito Gitirana, por todo o ensinamento e por compartilhar seu conhecimento que foram fundamentais para o desenvolvimento deste estudo. Agradeço imensamente pela disponibilidade do laboratório e pelo fornecimento de material, além do constante apoio durante todo o processo.

Ao Prof. Dr. Alcides Pissinatti, por sua generosidade em compartilhar seu amplo conhecimento e pela constante disponibilidade em fornecer materiais essenciais para a realização deste estudo. Sua contribuição foi indispensável para o sucesso deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Maurício Chagas, agradeço a disponibilidade em realizar as análises no laboratório e pelos ensinamentos compartilhados, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu esposo, Ricardo, por todo o companheirismo, incentivo, conselhos, por entender e ouvir as minhas angústias e por tornar os dias mais leves e alegres.

Às minhas tias, Marlene e Marilda (*in memoriam*), e às minhas primas, Leila e Angélica, sempre tão participativas em minha vida, pela torcida e por fazerem parte desta caminhada também.

Aos meus cães companheiros, Raul (*in memoriam*) e Penny, por alegrarem todos os meus dias e por terem sido companheiros na escrita deste trabalho.

Aos amigos Renata Medeiros do Nascimento, Rayane Ferreira Dias e Carlos Augusto Santos Sousa, por toda a amizade, parceria, por compartilharem alegrias e conhecimentos, e por tornarem o dia a dia mais leve.

À Deus e a São Longuinho, pela minha vida, por terem permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho e por terem colocado pessoas especiais em minha vida.

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite e por disponibilizarem parte de seu tempo para contribuir com este trabalho.

Ao Instituto Estadual do Ambiente (INEA) e ao Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ) pela autorização e suporte concedidos para a realização deste estudo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, pela oportunidade de realizar este trabalho. Agradeço aos docentes, funcionários e colegas que fizeram parte desta jornada, contribuindo com ensinamentos e apoio ao longo dos anos.

Aos meus colegas de trabalho do curso de Medicina Veterinária e de outros cursos da UNISUAM, minha sincera gratidão por compartilharem conhecimentos, experiências e vivências, que enriqueceram minha jornada acadêmica e contribuíram imensamente para o meu crescimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. "This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001."

## RESUMO

ESTRUC, Thais Mattos. **Caracterização Morfológica do Pênis de Três Espécies de *Leontopithecus* Lesson, 1840 (Primates: Callitrichidae)**. 2025. 91 p. Tese. (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2025.

O gênero *Leontopithecus*, composto por primatas endêmicos da Mata Atlântica, inclui quatro espécies ameaçadas de extinção, principalmente em razão da fragmentação do habitat e da exposição a doenças como a febre amarela. Este estudo teve como objetivo caracterizar e analisar a morfologia peniana das espécies *Leontopithecus rosalia*, *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus* por meio de análises macroscópicas, histoquímicas, imuno-histoquímicas, histomorfométricas e por microscopia eletrônica de varredura (MEV), buscando identificar variações intra e interespecíficas. Foram analisados 10 pênis de cada espécie, obtidos de animais fixados em formol e provenientes do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ). As análises revelaram que o pênis das três espécies é composto por raiz, corpo e glândula. Os comprimentos médios do pênis foram semelhantes entre as espécies, com variações não significativas: 3,27 cm em *L. rosalia*, 3,37 cm em *L. chrysomelas* e 3,12 cm em *L. chrysopygus*. A raiz apresentou diferenças morfométricas, com *L. chrysomelas* apresentando maior comprimento e *L. chrysopygus*, menor diâmetro. Nessa região, observaram-se corpos cavernosos dorsais, fibras colagenosas dispostas de forma irregular e túnica albugínea formando um septo mediano. Fibras musculares lisas foram identificadas em *L. rosalia* e *L. chrysomelas*. O corpo do pênis também variou entre as espécies, com *L. rosalia* apresentando maior comprimento e *L. chrysomelas*, maior diâmetro. A glândula, recoberta por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado com espículas, apresentou variações morfológicas relevantes: *L. rosalia* e *L. chrysopygus* possuíam glândula triangular, enquanto *L. chrysomelas* exibia formato semelhante a um chapéu de cogumelo. A presença de papilas dérmicas foi observada apenas em *L. chrysomelas*. As dimensões da glândula variaram entre as espécies, com destaque para o maior diâmetro em *L. chrysomelas*. Quanto ao osso peniano, sua localização variou: estava na glândula em *L. rosalia* e *L. chrysopygus*, enquanto em *L. chrysomelas* situava-se no corpo cavernoso à direita do septo. A análise por MEV revelou diferenças nas espículas da glândula, com variações na forma e orientação: em *L. rosalia*, as espículas eram curtas e horizontais, enquanto em *L. chrysomelas* apresentavam formato de meia-lua e orientação cônica voltada para a base do pênis. O estudo destacou variações morfológicas e estruturais relevantes entre as espécies analisadas, como diferenças no comprimento e diâmetro das regiões penianas, morfologia do baculum, padrão das espículas e distribuição das fibras musculares. Essas características sugerem adaptações específicas relacionadas à reprodução e podem refletir pressões seletivas distintas, incluindo mecanismos de seleção sexual e estratégias de competição espermática. Os dados obtidos contribuem para o entendimento da evolução da morfologia peniana em primatas neotropicais e fornecem subsídios para futuras pesquisas sobre reprodução, comportamento sexual e conservação das espécies.

**Palavras-chave:** órgão copulatório, mico-leão, primatas, histologia, estereologia.

## ABSTRACT

ESTRUC, Thais Mattos. **Morphological Characterization of the Penis of Three Species of *Leontopithecus* Lesson, 1840 (Primates: Callitrichidae).** 2025. 91 p. Thesis. (Doctorate in Animal Biology). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2025.

The genus *Leontopithecus*, composed of primates endemic to the Atlantic Forest, includes four species currently threatened with extinction, primarily due to habitat fragmentation and exposure to diseases such as yellow fever. This study aimed to characterize and analyze the penile morphology of *Leontopithecus rosalia*, *L. chrysomelas*, and *L. chrysopygus* through macroscopic, histochemical, immunohistochemical, histomorphometric, and scanning electron microscopy (SEM) analyses, in order to identify intra- and interspecific variations. Ten penises from each species were examined, obtained from formalin-fixed specimens provided by the Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ). Analyses revealed that the penis in all three species consists of a root, body, and glans. Average penile lengths were similar among the species, with no significant variation: 3.27 cm in *L. rosalia*, 3.37 cm in *L. chrysomelas*, and 3.12 cm in *L. chrysopygus*. The root region exhibited morphometric differences, with *L. chrysomelas* displaying the greatest length and *L. chrysopygus* the smallest diameter. In this region, dorsal corpora cavernosa were observed, along with irregularly arranged collagen fibers and a tunica albuginea forming a median septum. Smooth muscle fibers were present in *L. rosalia* and *L. chrysomelas*. The penile body also varied among species: *L. rosalia* had the longest body, while *L. chrysomelas* showed the greatest diameter. The glans, covered by keratinized stratified squamous epithelium with spicules, presented notable morphological differences: *L. rosalia* and *L. chrysopygus* had triangular-shaped glandes, whereas *L. chrysomelas* exhibited a mushroom-cap shape. Dermal papillae were observed exclusively in *L. chrysomelas*. Glans dimensions also varied among species, with *L. chrysomelas* having the largest diameter. Regarding the penile bone, its position varied among species: it was located within the glans in *L. rosalia* and *L. chrysopygus*, while in *L. chrysomelas* it was found in the corpus cavernosum to the right of the septum. SEM analysis revealed differences in glans spicules, including variations in shape and orientation: in *L. rosalia*, spicules were short and horizontal, whereas in *L. chrysomelas*, they were crescent-shaped with a conical orientation directed toward the penile base. This study highlighted relevant morphological and structural differences among the analyzed species, including variations in the length and diameter of penile regions, baculum morphology, spicule patterns, and distribution of muscle fibers. These characteristics suggest species-specific adaptations related to reproduction and may reflect distinct selective pressures, including mechanisms of sexual selection and sperm competition strategies. The findings contribute to a better understanding of the evolution of penile morphology in Neotropical primates and provide a foundation for future research on reproduction, sexual behavior, and species conservation.

**Keywords:** copulatory organ, lion tamarin, primates, histology, stereology.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
BSA	Albumina sérica bovina
CENABIO	Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem
CEUA	Comissão de Ética para o Uso de Animais
cm	Centímetros
CPRJ	Centro de Primatologia do Rio de Janeiro
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
ha	Hectares
HE	Hematoxilina-eosina
HMDS	Hexamethyldisilazane
HRP	Horseradish peroxidase
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
IUCN	International Union for Conservation of Nature
kV	Quilovolts
m	Metros
M	Mols
mA	Miliampère
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mm	Milímetros
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetros
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UNIMICRO	Unidade de Microscopia Multiusuário Souto-Padrón Lins
µm	Micrômetros



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Classificação taxonômica da ordem Primates, apresentando as categorias hierárquicas até os gêneros encontrados na família Callitrichidae. Fonte: Adaptado de Richardson, 2023.....4
- Figura 2.** Fotografia de um espécime de mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) (Foto: Tomaz Nascimento de Melo). Fonte: [www.inaturalist.org](http://www.inaturalist.org).....8
- Figura 3.** Mapa de distribuição geográfica do mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*). Fonte: Ruiz-Miranda *et al.*, 2021.....8
- Figura 4.** Fotografia de um espécime de mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) (Foto: Leonardo Marques de Abreu). Fonte: [www.inaturalist.org](http://www.inaturalist.org).....10
- Figura 5.** Mapa de distribuição geográfica do mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*). Fonte: Oliveira *et al.*, 2021.....11
- Figura 6.** Fotografia de um espécime de mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*) (Foto: Rodrigo Amaral). Fonte: [www.inaturalist.org](http://www.inaturalist.org).....13
- Figura 7.** Mapa de distribuição geográfica do mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*). Fonte: Rezende *et al.*, 2020.....14
- Figura 8.** Desenho esquemático do pênis humano, uretra masculina e estruturas associadas. Fonte: Dalley & Agur, 2024.....19
- Figura 9.** Desenho esquemático do pênis humano na vista inferior (A) e em corte transversal do corpo do pênis (B). Fonte: Dalley & Agur, 2024.....19
- Figura 10.** Eletromicrografias de varredura da espícula peniana em vários primatas. A: Tipo 1, espícula simples de *Callithrix jacchus*; B: Tipo 2, espículas robustas na glândula do pênis de *Galagoides demidoffi*; C e D: Tipo 3, espículas complexas de *Galago garnettii* (C) e de *Microcebus murinus* (D). Fonte: Dixson, 2012.....22
- Figura 11.** Desenho esquemático representando as medições morfométricas do pênis nas três espécies de *Leontopithecus*. Fonte: Elaborada pela autora.....26

**Figura 12.** Fotomicrografias digitais e binarizadas, mostrando a área dos seios cavernosos em preto de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III).....34

**Figura 13.** Fotomacrografia digital da região pélvica de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III) em vista ventral. Observa-se o pênis pendular das espécies, com o corpo do pênis coberto pelo prepúcio (\*) e a glande exposta (⇒). e: escroto. Barra de escala: 1,0 cm.....36

**Figura 14.** Fotomacrografia digital da região pélvica de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI) em vista ventral (I, III e V) e vista do assoalho pélvico (II, IV e VI). O pênis, sem o prepúcio, destaca a região onde o corpo do pênis se torna pendular (\*) e a glande exposta (⇒). t: testículo, b: músculo bulboesponjoso, i: músculo isquiocavernoso, a: ânus, ➡: músculo esfíncter anal externo. Barra de escala: 1,0 cm.....38

**Figura 15.** Fotomacrografia digital dos cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso, e: corpo esponjoso, s: septo mediano, i: músculo isquiocavernoso, b: músculo bulboesponjoso, ➡: túnica albugínea, ★: uretra peniana, ●: veia dorsal profunda. Barra de escala: 0,2 cm.....40

**Figura 16.** Fotomacrografia digital dos cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; p: prepúcio; ➡: túnica albugínea; ★: uretra peniana. Linha tracejada indicando o fino septo mediano entre os corpos cavernosos. Barra de escala: 0,2 cm.....42

**Figura 17.** Fotomacrografia digital do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I) em vista lateral direita, e de *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III) em vista ventral. g: glande do pênis; ★: óstio uretral externo; →: colo da glande do pênis; c: porção distal do corpo do pênis com espículas; p: prepúcio. Barra de escala: 0,2 cm.....44

**Figura 18.** Fotomicrografia digital dos cortes transversais da glande do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; o: osso peniano; g: coroa da glande; ➡: túnica albugínea; ★: uretra peniana. As setas brancas (⇒) indicam a grande vascularização

do corpo esponjoso. A linha tracejada indica o fino septo mediano entre os corpos cavernosos. Barra de escala: 0,2 cm.....45

**Figura 19.** Fotomicrografia digital dos pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III) submetidos à técnica de diafanização, destacando o osso peniano em rosa. c: corpo do pênis; g: glândula do pênis. As setas fechadas (➡) indicam a base do osso peniano, enquanto as setas abertas (➔) apontam seu ápice. Barra de escala: 0,2 cm.....46

**Figura 20.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; ta: túnica albugínea; m: mucosa da uretra peniana; ★: uretra esponjosa. Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).....48

**Figura 21.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ★: uretra esponjosa. Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).....50

**Figura 22.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ⇨: artéria profunda do pênis; ★: uretra peniana. Coloração: Picrossírius red (I, III e V) e Orceína (II, IV e VI).....52

**Figura 23.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo esponjoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ★: uretra peniana; ➔: fibras musculares lisas. Em *L. chrysomelas* (II), observa-se as fibras musculares lisas na artéria profunda do pênis (⇨). Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.....53

**Figura 24.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; ta: túnica albugínea; s: septo mediano. Coloração: Picrossírius red com observação ao microscópio de luz polarizada.....55

**Figura 25.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; ta: túnica albugínea; s: septo mediano; ★: uretra peniana. Em *Leontopithecus chrysopygus* (V), observa-se o tecido conjuntivo frouxo (\*), envolvendo a túnica albugínea, além da veia dorsal profunda (⇨), central às duas artérias dorsais (➡) inseridas no tecido conjuntivo. Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).....56

**Figura 26.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso, e: corpo esponjoso, ta: túnica albugínea, s: septo mediano, ★: uretra peniana. Nas imagens (I, III e V), feixes espessos de fibras colagenosas (➔) na túnica albugínea são evidenciados em vermelho intenso. Em *L. rosalia* (VI), observam-se as fibras elásticas (⇨) na artéria profunda do pênis. Coloração: Picrossírius red (I, III e V) e Orceína (II, IV e VI).....58

**Figura 27.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III) e *L. chrysopygus* (IV). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ★: uretra peniana; ➔: fibras musculares lisas. Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.....59

**Figura 28.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; c: corpo cavernoso; o: osso peniano; ta: túnica albugínea; er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); ★: uretra peniana. Corpo esponjoso da glândula do pênis apresentando nervos (➔). Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).....61

**Figura 29.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; c: corpo cavernoso; o: osso peniano; ta: túnica albugínea; er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); ★: uretra peniana. Em *L. chrysomelas* (IV), observa-se a presença de uma espícula queratinizada (➔) no epitélio de revestimento da glândula do pênis. Coloração: Picrossírius red (I, III e V) e Orceína (II, IV e VI).....62

**Figura 30.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; o: osso peniano; er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); ★: uretra peniana. Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.....63

**Figura 31.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). Notar as espículas da glândula revestidas por queratina (→). er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); e: corpo esponjoso. Coloração: Tricrômico de Mallory.....64

**Figura 32.** Eletromicrografia da superfície distal da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). g: glândula do pênis; p: prepúcio; c: corpo do pênis; ★: óstio uretral externo.....65

**Figura 33.** Eletromicrografia da superfície da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). g: glândula do pênis; c: corpo do pênis; ★: óstio uretral externo. As setas abertas (→) indicam as espículas penianas. As setas cheias (⇒) indicam o colo da glândula do pênis.....66

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Parâmetros reprodutivos dos <i>Leontopithecus</i> .....	16
<b>Tabela 2.</b> Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal e do comprimento total do pênis em <i>Leontopithecus</i> (n = 30). Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o comprimento corporal e o comprimento total do pênis.....	39
<b>Tabela 3.</b> Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal, do comprimento da raiz do pênis e do diâmetro da raiz do pênis em <i>Leontopithecus</i> (n = 30). Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o comprimento corporal e o comprimento da raiz do pênis.....	41
<b>Tabela 4.</b> Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal, do corpo do pênis e do diâmetro do corpo do pênis em <i>Leontopithecus</i> (n = 30). Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o comprimento corporal e o comprimento do corpo do pênis.....	43
<b>Tabela 5.</b> Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal, do comprimento da glândula do pênis e do diâmetro da glândula do pênis em <i>Leontopithecus</i> (n = 30). Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o comprimento corporal e o comprimento da glândula do pênis.....	47

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1 Ordem Primates e Família Callitrichidae	3
2.2 Gênero <i>Leontopithecus</i>	6
2.2.1 <i>Leontopithecus rosalia</i>	7
2.2.2 <i>Leontopithecus chrysomelas</i>	9
2.2.3 <i>Leontopithecus chrysopygus</i>	12
2.3 Aspectos Reprodutivos dos <i>Leontopithecus</i>	15
2.4 Morfologia do Pênis	18
<b>3 OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>24</b>
4.1 Comitê de Ética	24
4.2 Amostragem	25
4.3 Dissecção	25
4.4 Análise Morfológica	27
4.4.1 Procedimento para a estereomicroscopia	27
4.4.2 Diafanização	27
4.4.3 Procedimento para microscopia de luz	28
4.4.3.1 Técnicas histoquímicas para caracterização morfológica	29
4.4.3.1.a Coloração pela hematoxilina-eosina (Lillie & Fullmer, 1976 <i>apud</i> de Brito-Gitirana, 2022)	29
4.4.3.1.b Coloração pelo tricrômico de Mallory (Mallory, 1905 <i>apud</i> de Brito-Gitirana, 2022)	29
4.4.3.1.c Coloração pelo picrossírius red (Sweat <i>et al.</i> , 1964 <i>apud</i> de Brito-Gitirana, 2022)	30
4.4.3.1.d Coloração seletiva pela Orceína (Henwood, 2002 <i>apud</i> de Brito-Gitirana, 2022)	30
4.4.3.1.e Coloração por Fucsina-Resorcina de Weigert	31
4.4.4 Imuno-histoquímica	31
4.5 Análise Histomorfométrica do Corpo do Pênis	32
4.5.1 Quantificação das fibras elásticas	33
4.5.3 Área da uretra	33

4.5.4 Área dos corpos cavernosos e esponjoso .....	34
4.5.5 Espessura da túnica albugínea .....	34
4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	35
4.7 Análise Estatística .....	35
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
5.1 Análise Macroscópica.....	36
5.1.1 Raiz do pênis.....	40
5.1.2 Corpo do pênis .....	41
5.1.3 Glândula do pênis .....	43
5.2 Análise Microscópica.....	47
5.2.1 Raiz do pênis.....	49
5.2.2 Corpo do pênis .....	54
5.2.3 Glândula do pênis .....	60
5.3 Análise da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	64
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>78</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>89</b>
<b>ANEXO II.....</b>	<b>91</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Os micos-leões compreendem o gênero *Leontopithecus* (Lesson, 1840), e estão entre os primatas platirrinos mais raros e menos conhecidos. São descritas quatro espécies, todas endêmicas da Mata Atlântica: *L. rosalia*, no Rio de Janeiro e Espírito Santo; *L. chrysomelas*, observado no estado da Bahia; *L. chrysopygus*, em São Paulo; e *L. caissara*, em São Paulo e no Paraná (Rylands & Neto, 1994).

As espécies deste gênero são os maiores dentro da família Callitrichidae (Gray, 1821), com peso variando de 410 a 700 g, comprimento rostrossacral em média de 26 cm e comprimento de cauda de 37 cm. As mãos são longas e adaptadas ao forrageio extrativo de presas em micro-habitat específicos. A face é quase nua, cercada por uma juba de pelos na cabeça e pescoço, e os dentes caninos excedem os incisivos no comprimento (Kierulff *et al.*, 2008; Bicca-Marques *et al.*, 2006).

As espécies deste gênero são identificadas de acordo com seu padrão de pelagem. *Leontopithecus rosalia* apresenta todo o corpo dourado; *L. chrysomelas* possui o corpo negro, com a juba ao redor da face, braços e base da cauda dourados; em *L. chrysopygus*, predomina o negro, mas o quadril e a base da cauda são dourados; e *L. caissara* possui o corpo todo dourado, com a juba ao redor da face, mãos, antebraços, pés e cauda negros (Bicca-Marques *et al.*, 2006).

Os micos-leões possuem uma dieta frugívora e vivem em grupos compostos por dois a 14 indivíduos, incluindo mais de um macho adulto, jovens de diferentes idades e, geralmente, uma única fêmea reprodutora. A estação reprodutiva ocorre de setembro a fevereiro, e a gestação dura aproximadamente quatro meses, gerando uma prole de dois filhotes (Kierulff *et al.*, 2008; Bicca-Marques *et al.*, 2006).

A fragmentação e a degradação da Mata Atlântica no último século, além da caça e do tráfico de animais endêmicos, afetaram significativamente as populações de *Leontopithecus*. Além disso, surtos de doenças, como o da febre amarela, representam grandes ameaças para essas populações de primatas, desencadeando um processo de redução populacional (Bicca-Marques *et al.*, 2017; Estrada *et al.*, 2017; Dietz *et al.*, 2019; Mares-Guia *et al.*, 2020).

Estudos morfológicos das estruturas reprodutivas de primatas não humanos são escassos, principalmente em espécies ameaçadas de extinção. No entanto, o

conhecimento da morfologia reprodutiva, possibilita um melhor manejo reprodutivo sob cuidados humanos, representando uma importante reserva genética diante do quadro de redução do número de indivíduos em vida livre.

No que se refere ao sistema reprodutor masculino, Watanabe (2015) investigou os parâmetros reprodutivos seminais e moleculares do gameta masculino de *L. chrysomelas*, identificando variáveis que podem influenciar a fertilidade da espécie. O autor observou uma diferença significativa no pH seminal entre animais jovens e idosos, além de uma correlação negativa entre o coeficiente de endogamia por pedigree e parâmetros como motilidade total, motilidade progressiva retilínea e integridade da membrana plasmática. Esses achados sugerem a possibilidade de um aumento na frequência de alelos deletérios, que podem afetar negativamente esses parâmetros reprodutivos.

Complementando essas investigações, Grabner (2016) descreveu a ultraestrutura dos espermatozoides de *L. chrysomelas*, revelando componentes que são característicos dos espermatozoides humanos, como a cabeça, o colo e a cauda. Os espermatozoides dessa espécie apresentam uma cabeça proporcionalmente delgada em relação ao comprimento, com um acrossomo que tende a ocupar de metade a dois terços da extremidade anterior da cabeça. A peça intermediária possui um comprimento significativo em relação à largura, enquanto o ânulo é discreto.

Essas características morfológicas se inserem em um contexto mais amplo, onde, entre espécies intimamente relacionadas que utilizam fertilização interna, a genitália — especialmente a masculina — frequentemente exhibe as diferenças morfológicas mais marcantes e confiáveis (Eberhard, 1990). O estudo da anatomia reprodutiva dos primatas revela que a genitália pode ser extremamente especializada (Dixson, 1987a), e isso se aplica especialmente à morfologia peniana, que pode variar consideravelmente, mesmo entre espécies de primatas intimamente relacionadas (Dixson, 1987b; Dixson, 1991; Anderson, 1998).

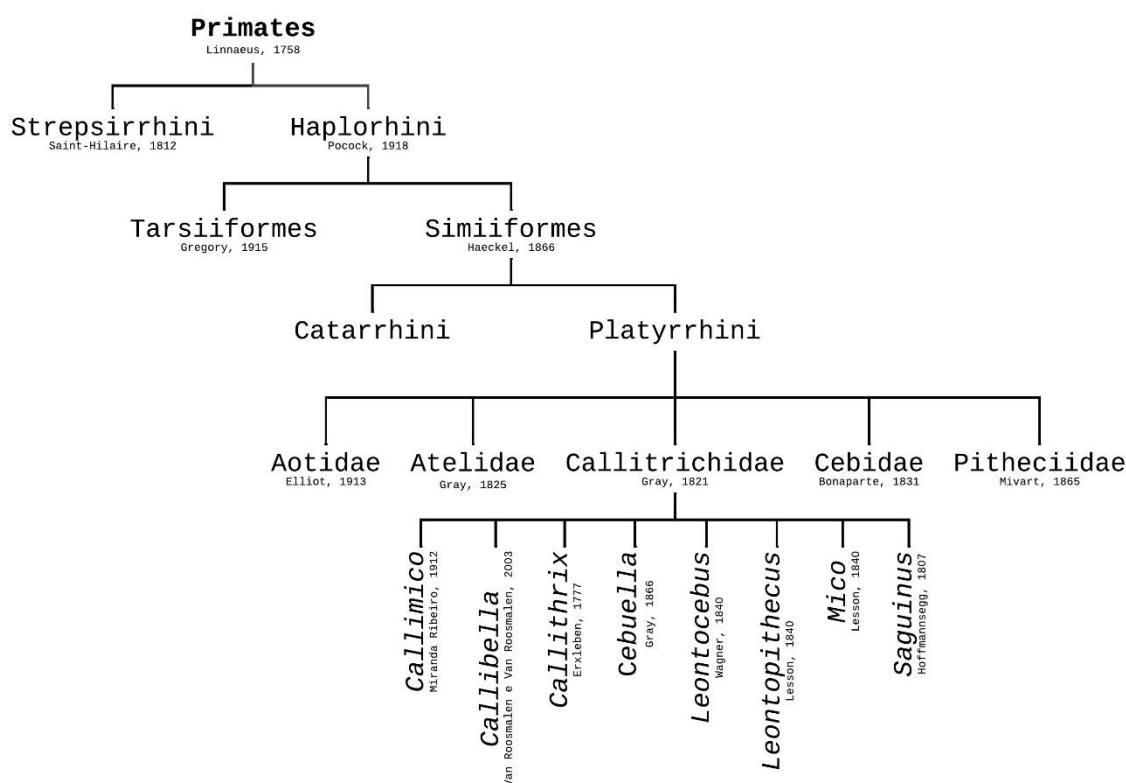
Os pênis dos primatas não humanos costumam ser extremamente complexos, mas características específicas parecem exibir pouca variação dentro de cada espécie. Na verdade, são comuns níveis baixos de variação intraespecífica e níveis comparativamente mais elevados de variação interespecífica. O estudo dessa

diversidade é mais útil na avaliação da taxonomia, onde técnicas morfológicas comparativas podem auxiliar na classificação (Anderson, 2000).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Ordem Primates e Família Callitrichidae**

A ordem Primates (Linnaeus, 1758) (Figura 1) reúne os últimos remanescentes de um grupo de espécies de mamíferos placentários que evoluíram na América do Sul quando esta era isolada, e que são bem adaptados ao ambiente arborícola. É um dos grupos de mamíferos com maior riqueza de espécies, superado apenas pelas ordens Chiroptera e Rodentia (Bicca-Marques *et al.*, 2006). Nos primatas, as glândulas mamárias estão localizadas no tórax e, geralmente, são duas, uma vez que a quantidade de filhotes não costuma exceder esse número. A dentição não é especializada, o que possibilita uma ampla variedade de dietas. Uma característica marcante dos primatas é a presença de molares com quatro tubérculos fechados, conhecida como dentição bunodonte (Auricchio, 1995).



**Figura 1.** Classificação taxonômica da ordem Primates, apresentando as categorias hierárquicas até os gêneros encontrados na família Callitrichidae. Fonte: Adaptado de Richardson, 2023.

A evolução dos primatas em termos de especialização comportamental está relacionada ao grande volume dos hemisférios cerebrais e ao elevado número de circunvoluções presentes neles, o que permitiu a movimentação tridimensional nas árvores. Esse cérebro, juntamente com o cerebelo e as grandes órbitas oculares, resulta em um volume craniano que se posiciona de forma mais vertical sobre o corpo, reduzindo assim a força muscular cervical necessária (Auricchio, 1995).

Na braquiação, um tipo de locomoção em que o corpo permanece pendente pelos membros anteriores, a anatomia das extremidades ósseas, com articulações esféricas e a presença da clavícula, permitem uma grande mobilidade dos membros anteriores. Além disso, a oponibilidade do polegar e do hálux favorece significativamente as capacidades de apreensão e precisão (Auricchio, 1995).

Dentro da ordem Primates, observa-se a família Callitrichidae (Gray, 1821), que possui pequeno tamanho e baixa massa corporal, aproximadamente 100 a 800 g, além de cauda longa e não preênsil. Com exceção do hálux, todos os dedos possuem unhas em forma de garras, facilitando a captura de insetos em frestas (Auricchio, 1995).

Os calitriquídeos são encontrados apenas na região neotropical da América do Sul. Eles ocorrem nas florestas caribenhas do norte da Colômbia e sul do Panamá (*Saguinus*), nas florestas andinas orientais e na bacia amazônica (*Callimico*, *Cebuella*, *Mico* e *Saguinus*), no Cerrado do Brasil central (*Callithrix*), na Caatinga do nordeste do Brasil (*Callithrix*), no Pantanal e no Chaco da Bolívia, Brasil e Paraguai (*Mico*), e na Mata Atlântica do leste e sudeste do Brasil (*Leontopithecus* e *Callithrix*) (Ruivo & Stevenson, 2017). A pelagem desses primatas caracteriza-se por ser vistosa e abundante, com variações específicas entre as espécies. Em *Leontopithecus* e *Cebuella*, o maior volume é apresentado na região da cabeça, assemelhando-se a uma juba. Já em *Callithrix*, esse ornamento predomina ao redor das orelhas, enquanto em *Saguinus*, a pelagem mais destacada localiza-se em torno dos lábios (Auricchio, 1995).

A maioria das espécies pode ser encontrada no Brasil, sendo muitas delas endêmicas de alguns biomas. Eles ocorrem em florestas primárias ou secundárias e são mais abundantes em florestas secundárias ou perturbadas, pois este ambiente fornece maiores possibilidades às suas necessidades alimentares (Ruivo & Stevenson, 2017). Todas as espécies pertencentes a essa família são onívoras, consumindo uma ampla variedade de alimentos de origem vegetal, como exsudatos, sementes, flores, frutos e néctar, além de itens de origem animal, incluindo artrópodes e moluscos. Todos os calitriquídeos são adaptados à vida saltatória, com locomoção vertical pelos troncos (Auricchio, 1995).

Nos grupos de calitriquídeos, geralmente há apenas uma fêmea reprodutora, embora, em raros casos, possam existir duas. A fêmea dominante exerce controle sobre o grupo, inibindo a ovulação dos demais. Nessas espécies, o padrão reprodutivo predominante é a monogamia, embora também seja observada a poliandria, nos quais dois ou três machos ativos se relacionam com uma única fêmea reprodutora. Não há sinais perceptíveis de estro. Os calitriquídeos têm filhotes relativamente grandes,

correspondendo de 16% a 24% do peso da mãe, e cada gestação resulta, normalmente, em dois filhotes (Auricchio, 1995).

## **2.2 Gênero *Leontopithecus***

O gênero *Leontopithecus* compreende os micos-leões e possui quatro espécies endêmicas da Mata Atlântica: *L. rosalia* (Linnaeus, 1766) (mico-leão-dourado); *L. chrysomelas* (Kuhl, 1820) (mico-leão-de-cara-dourada); *L. chrysopygus* (Mikan, 1823) (mico-leão-preto); e *L. caissara* (Lorini & Persson, 1990) (mico-leão-de-cara-preta). As espécies desse gênero são as maiores dentre os calitriquídeos, com peso variando de 410 a 700 g. Apresentam pelos extremamente sedosos e a face quase nua cercada por pelos longos na região cefálica, fato que originou a designação "mico-leão". São restritos à Mata Atlântica, principalmente em florestas primárias, utilizando também as secundárias em altitudes menores do que 700 m (Coimbra-Filho, 1976; Rosemberg & Coimbra-Filho, 1984; Auricchio, 1995; Smith & Jungers, 1997; Bicca-Marques, 1999).

Os micos-leões apresentam mãos e dedos longos e estreitos, com sindactilia parcial nos três dedos medianos das mãos, sendo essa uma adaptação associada ao forrageamento manipulativo de presas (Coimbra-Filho, 1976; Bicca-Marques, 1999). Ou seja, as mãos são inseridas em bromélias, fendas e microhabitats "cegos" para capturar presas animais escondidas (Dietz *et al.*, 1997).

Os dentes caninos excedem os incisivos em comprimento (Kleiman *et al.*, 1988), e sua dieta consiste principalmente em invertebrados, uma ampla variedade de frutos e pequenos vertebrados (Kleiman *et al.*, 1988; Auricchio, 1995; Kierulff *et al.*, 2008). Espécies das ordens de insetos Blattaria, Orthoptera, Homoptera, Lepidoptera e Coleoptera (especialmente larvas) são importantes na dieta (Coimbra-Filho & Mittermeier, 1973).

Esses primatas ocupam troncos anteriormente abandonados por outras espécies, como locais de reserva. A ocupação vertical ocorre em estratos de vegetação entre 3 e 10 m de altura. Os grupos sociais consistem em 2 a 8 indivíduos, caracterizando-se por um alto nível de cooperação familiar. Os filhotes permanecem junto aos pais por um longo período, durante o qual aprendem as habilidades

permitidas para o cuidado parental. Essa função é compartilhada por todos os membros do grupo, evidenciando um comportamento cooperativo (Auricchio, 1995).

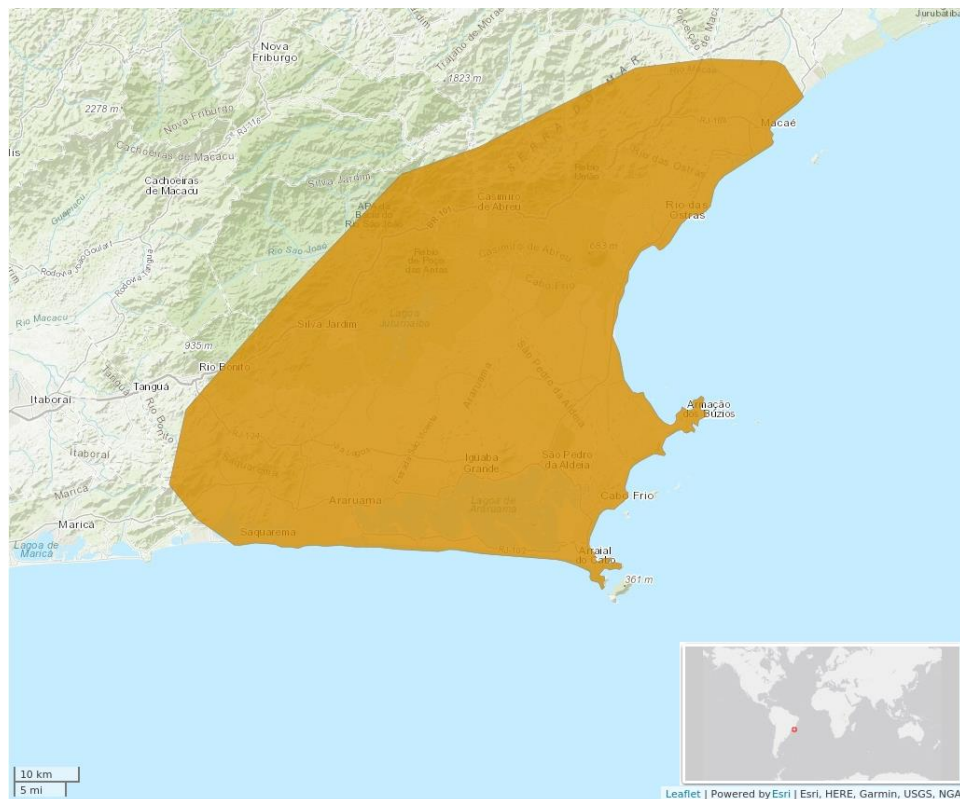
Nos micos-leões, não há evidências de dimorfismo sexual entre os indivíduos. A maioria dos partos ocorre à noite, entre setembro e novembro, período em que há um aumento na disponibilidade de alimentos. Durante a fase de parto, a fêmea adota um comportamento defensivo em relação ao macho e aos demais membros do grupo. O período de gestação varia de 125 a 134 dias, e a fêmea entra em atividade reprodutiva entre 3 e 10 dias após o nascimento dos filhotes. Na natureza, é comum a produção de dois filhotes por ano, ocorrendo entre fevereiro e agosto, com peso médio de 60 g (Auricchio, 1995; French *et al.*, 2008).

### **2.2.1 *Leontopithecus rosalia***

O mico-leão-dourado (*L. rosalia*) (Figura 2) está classificado como uma espécie em perigo pela International Union for Conservation of Nature (IUCN) (Ruiz-Miranda *et al.*, 2021; MMA, 2022). Sua localidade tipo é restrita à costa oriental, especificamente entre 22 e 23°S, ao longo do lado direito do rio São João, ao norte de Cabo Frio, no estado do Rio de Janeiro (Wied, 1826, *apud* Carvalho, 1965, p. 22) (Figura 3). Esta espécie é capaz de sobreviver em florestas degradadas ou secundárias, dependendo das condições das fontes de alimento presentes no local durante o ano. A presença de espaços em árvores para se abrigarem e dormirem também é um fator determinante para sua sobrevivência (Coimbra-Filho & Mittermeier, 1973).



**Figura 2.** Fotografia de um espécime de mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*) (Foto: Tomaz Nascimento de Melo). Fonte: [www.inaturalist.org](http://www.inaturalist.org).



**Figura 3.** Mapa de distribuição geográfica do mico-leão-dourado (*Leontopithecus rosalia*). Fonte: Ruiz-Miranda *et al.*, 2021.



A morfologia externa de *L. rosalia* é caracterizada pela presença de garras modificadas no local das unhas, com exceção da primeira falange do membro pélvico, e pela pelagem corporal com coloração uniforme, que pode variar do dourado ao alaranjado. Os filhotes nascidos sob cuidados humanos são geralmente mais claros do que os indivíduos da mesma idade de origem selvagem devido à dieta (Ruiz-Miranda *et al.*, 2021). Tanto machos quanto fêmeas variam pouco em relação ao tamanho e ao peso, mas, de um modo geral, em uma mesma população, os machos adultos são ligeiramente maiores (Coimbra-Filho, 1976).

Os nascimentos do mico-leão-dourado ocorrem entre setembro e março, abrangendo o início da primavera até o final do verão no sul do Brasil, períodos caracterizados por temperaturas mais altas e chuvas intensas. Embora gêmeos sejam comuns, também podem ocorrer nascimentos simples ou triplos. O tamanho dos grupos varia de dois a oito indivíduos, sendo três a quatro o número mais frequentemente observado (Coimbra-Filho & Mittermeier, 1973).

Esta espécie possui três dentes molares de cada lado da mandíbula, e sua dieta alimentar é composta por frutas, flores e presas pequenas (animais vertebrados e invertebrados, como insetos, caracóis etc.). Este grupo se diferencia dos outros por apresentar mãos e dedos longos, o que facilita a procura por alimentos em locais de cantos ou recantos, até mesmo durante o forrageamento (Ruiz-Miranda *et al.*, 2021).

Além de suas características biológicas, o mico-leão-dourado é utilizado como espécie-bandeira na conservação da Mata Atlântica e tem como objetivo chamar a atenção do público para a situação de perigo dessa espécie e de seu ecossistema, o que auxilia na difusão da mensagem conservacionista, essencial para o sucesso de um programa de conservação. Apesar de ser o foco das ações do programa, a espécie também traz benefícios para outras menos conhecidas ou menos carismáticas e para seu habitat (Rezende, 2014).

### **2.2.2 *Leontopithecus chrysomelas***

O mico-leão-da-cara-dourada (*L. chrysomelas*) (Figura 4) encontra-se em perigo pela IUCN (Oliveira *et al.*, 2021; MMA, 2022) e tem como habitat florestas ombrófilas litorâneas e estacionais semidecíduas. Sua localidade-tipo foi restrita ao

Ribeirão das Minhocas, um pequeno afluente do alto Rio Ilhéus, no estado da Bahia (Figura 5) (Kuhl, 1820, *apud* Coimbra-Filho & Mittermeier, 1973; Oliveira *et al.*, 2021). A espécie é endêmica da Mata Atlântica, ocorrendo nos estados da Bahia e Minas Gerais, embora já seja considerada extinta neste último (Oliveira *et al.*, 2021).



**Figura 4.** Fotografia de um espécime de mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) (Foto: Leonardo Marques de Abreu). Fonte: [www.inaturalist.org](http://www.inaturalist.org).



superior são negros. A coloração dourada, ou mais frequentemente dourado-ferrugem, encontra-se na região rostral, fronte, pescoço e nos lados da cabeça. Os braços, cotovelos e mãos também apresentam tonalidade dourado-ferrugínea. A metade proximal da parte dorsal da cauda, outro campo dourado nesta espécie, possui uma tonalidade mais clara, tendendo para o amarelo claro (Coimbra-Filho, 1976).

A maturação sexual ocorre entre 18 e 29 meses de idade. Normalmente, esses primatas são monogâmicos, mas estudos indicam a existência de grupos de vida livre com acasalamentos poliândricos e poligínicos, resultando no nascimento de gêmeos ou de apenas um filhote. O tempo gestacional é, em média, de 125 dias (French *et al.*, 2008).

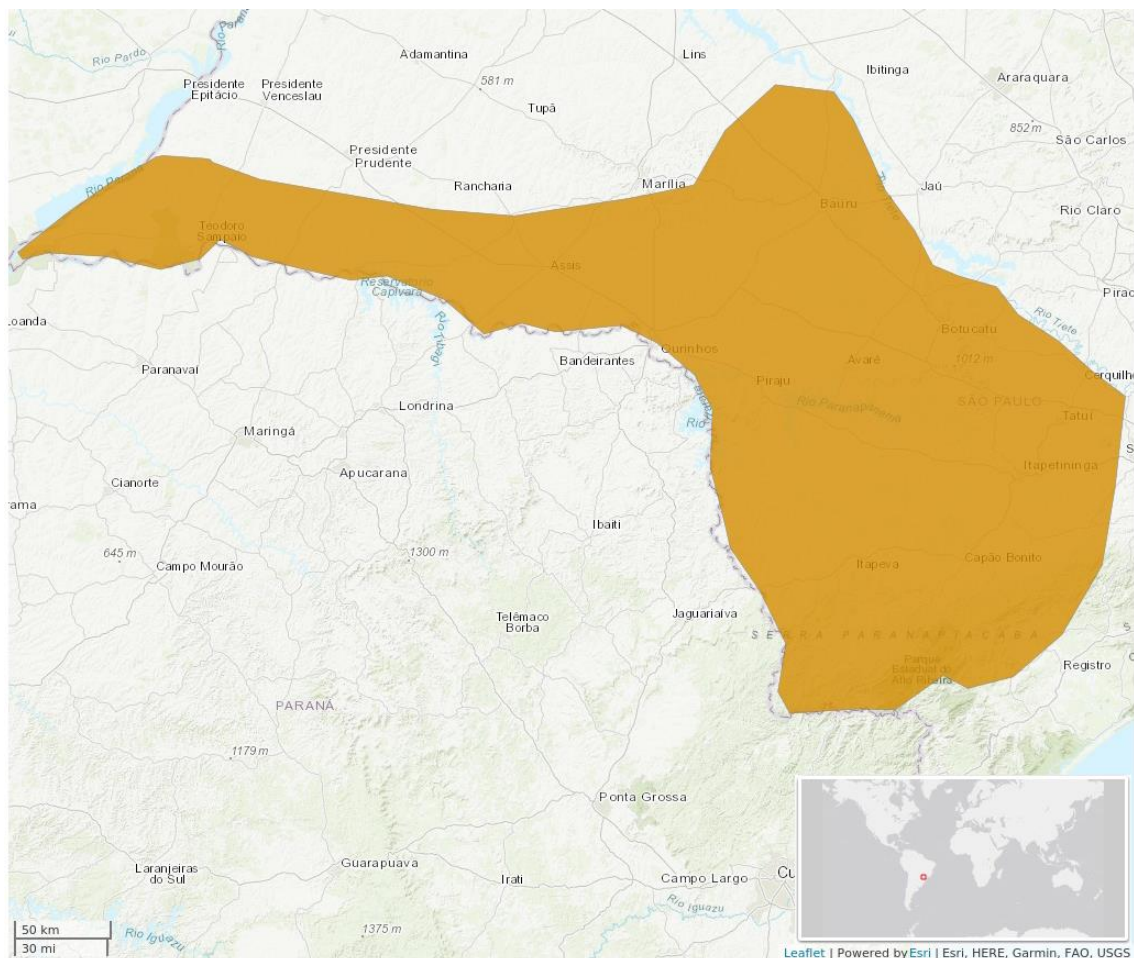
### **2.2.3 *Leontopithecus chrysopygus***

O mico-leão-preto (*L. chrysopygus*) (Figura 6) encontra-se em perigo pela IUCN (Rezende *et al.*, 2020; MMA, 2022). É endêmico da Mata Atlântica do Estado de São Paulo, com distribuição original restrita às partes baixas da Mata Atlântica, no interior do estado, entre os rios Tietê (ao norte), Paranapanema (ao sul) e Paraná (a oeste) (Figura 7) (Coimbra-Filho & Mittermeier, 1973; Rylands *et al.*, 2008; Rezende *et al.*, 2020). Essa espécie não se limita às florestas primárias, sendo capaz de viver em ambientes modificados ou perturbados, como florestas secundárias, dependendo apenas dos recursos disponíveis ao longo do ano, como ocos de árvores usados como locais de descanso, e árvores frutíferas ou áreas de forrageamento (Coimbra-Filho & Mittermeier, 1973; Coimbra-Filho, 1976).





**Figura 6.** Fotografia de um espécime de mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*) (Foto: Rodrigo Amaral). Fonte: [www.inaturalist.org](http://www.inaturalist.org).



**Figura 7.** Mapa de distribuição geográfica do mico-leão-preto (*Leontopithecus chrysopygus*). Fonte: Rezende *et al.*, 2020.

O mico-leão-preto é caracterizado por sua pelagem preta brilhante, com regiões apresentando coloração que varia do amarelo ao acastanhado nas partes dorsal, inferior e ventral, bem como nas faces externas das coxas (Moraes, 2004). Os micos-leões-pretos, devido a seus dedos alongados e garras modificadas em vez de unhas em todos os dedos, exceto no hálux, podem procurar presas com eficácia nos cantos e em bromélias de tanques epífitos (Coimbra-Filho, 1970 *apud* Rezende *et al.*, 2020, p. 4). São generalistas, e sua dieta consiste em frutas, exsudatos vegetais e pequenas presas vivas, como anfíbios, lagartos, aves, invertebrados e outros animais, apresentando variação sazonal (Passos, 1999).

A espécie vive em grupos familiares, que variam de dois a oito indivíduos, sendo a média de três a quatro indivíduos por grupo (Coimbra-Filho, 1976). O mico-

leão-preto pesa cerca de 600 g, atingindo a maturidade aos 18 meses de vida (Valladares-Padua, 1993; Baker *et al.*, 2008). Normalmente, apenas uma fêmea por grupo procria durante uma determinada estação reprodutiva. Eles se reproduzem uma vez por ano, e a gestação dura entre 125 e 132 dias, com a prole geralmente consistindo em gêmeos (Valladares-Padua, 1993; Baker *et al.*, 2008; Rezende *et al.*, 2020).

O mico-leão-preto é uma espécie considerada naturalmente rara, ou seja, com baixa densidade populacional dentro de sua área de distribuição. Isso, aliado às suas características físicas (coloração, tamanho, locomoção rápida e discreta), torna difícil seu encontro no ambiente (Paranhos, 2006). A principal ameaça ao *L. chrysopygus* é a perda de seu habitat, que resulta em florestas fragmentadas e subpopulações isoladas (Holst *et al.*, 2006). No estado de São Paulo, apenas 6,4% do habitat do mico-leão-preto permanece, com a espécie ocorrendo em menos de 10% dessa área (Garbino *et al.*, 2016).

### **2.3 Aspectos Reprodutivos dos *Leontopithecus***

Os micos-leões têm um sistema social de reprodução cooperativa que pode ser classificado como monogamia (Kleiman, 1977; Baker *et al.*, 1993, 2008), onde um macho forma um par com uma única fêmea. Além disso, eles podem apresentar poliandria cooperativa (Sussman & Garber, 1987; Baker *et al.*, 1993), que é caracterizada por grupos sociais em que dois ou mais machos colaboram na criação da prole de uma única fêmea.

A reprodução dos micos-leões ocorre sazonalmente, especialmente durante o período próximo ao solstício de inverno, de abril a junho, com a maioria dos nascimentos registrada entre agosto e março (Dietz *et al.*, 1994; French *et al.*, 1996; De Vleeschouwer *et al.*, 2000). As concepções, tanto em micos-leões sob cuidados humanos quanto na natureza, tendem a ocorrer em torno do solstício de inverno, em junho. O pico da estação de nascimento se dá nos meses de setembro e outubro, que coincidem com o início de um período de aumento nas chuvas e de temperaturas mais elevadas na Mata Atlântica. A gestação dura aproximadamente 125 ( $\pm 5$ ) dias (Tabela 1) (Dietz *et al.*, 1994).

**Tabela 1.** Parâmetros reprodutivos dos *Leontopithecus*.

Espécies	Gestação (dias)	Intervalo entre partos (dias)	Duração do ciclo (dias)	Crias por ano	Ovulação pós-parto
<i>L. chrysomelas</i>	125,3	-	21,5 ± 2,5	1	Sim Não-fecundo 17,3 ± 3,5 dias
<i>L. chrysopygus</i>	-	-	23,0 ± 2,0	1	Sim Não-fecundo
<i>L. rosalia</i>	125,0	194,0	19,6 ± 1,9	1	Sim Não-fecundo

Fonte: Adaptado de French *et al.*, 2008.

A estação de nascimento de oito meses reflete a tendência de algumas fêmeas podem produzir duas ninhadas por ano. Embora o número modal de ninhadas por fêmea seja de um, uma proporção significativa (19,7%) de fêmeas produziu duas ninhadas em pelo menos uma ocasião durante sua vida reprodutiva. Além disso, o início da atividade reprodutiva ocorreu mais cedo para as fêmeas que produziram duas ninhadas por ano, o que se reflete em datas de parto antecipadas durante as temporadas em que ocorreram duas ninhadas (French *et al.*, 1996).

Em casais reprodutores de micos-leões-dourados bem estabelecidos, observa-se uma relativa escassez de interações afiliativas entre os pares adultos que coabitam, exceto durante comportamentos de catação (Kleiman, 1977). Segundo Kleiman (1977), a atividade sexual em casais reprodutores de longa data é pouco frequente, ocorrendo apenas durante um período de estro que dura de um a dois dias. Em contraste, pares recém-formados podem exibir atividade sexual com maior frequência, não restrita ao pico do estro.

Durante o período do estro, a frequência e a duração do comportamento de monta dos machos de micos-leões-dourados aumentam significativamente. Além disso, os machos se aproximam, farejam e cuidam da parceira com maior frequência. A fêmea também apresenta um aumento no cheiro, na aproximação e na preparação do macho; no entanto, esse comportamento geralmente ocorre dois a quatro dias antes do pico nos comportamentos de montagem e contato por parte do macho (Kleiman, 1977). O início do estro pode ser previsto pelo aumento na aproximação e



no cheiro da fêmea pelo parceiro, mesmo que o comportamento de montagem não seja observado (Kleiman & Mack, 1977).

Kleiman & Mack (1977) observaram que os machos apresentam altas frequências de comportamento de cheirar durante a concepção. Essas frequências diminuem ao longo do primeiro mês de gestação, seguido por um ligeiro aumento na metade da gestação. Em contraste, os picos de cheiramento nas fêmeas são mais definidos, com níveis elevados na concepção e um aumento notável de sete a oito semanas antes do nascimento. Essa alteração comportamental durante o período de gestação está correlacionada com o aumento dos níveis de estrogênio circulante.

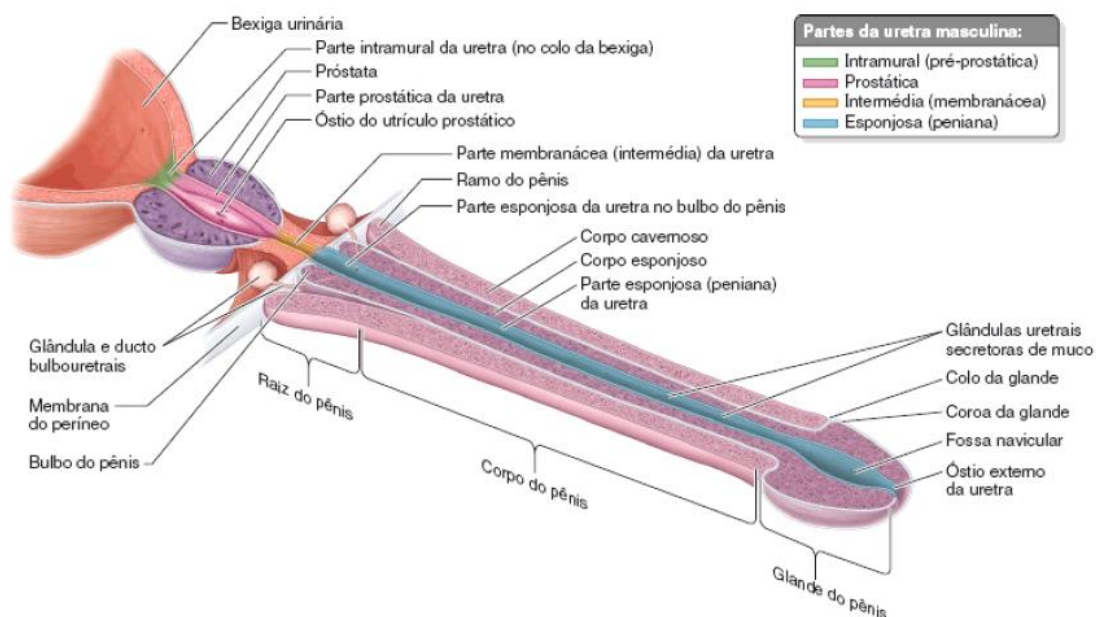
Os grupos de micos-leões-dourados frequentemente incluem dois machos adultos que não têm relação com a fêmea reprodutora (Baker *et al.*, 2008). Embora ambos copulem com ela, o acesso à fêmea durante os períodos de estro é monopolizado pelo macho com comportamento dominante (Baker *et al.*, 1993). Os irmãos frequentemente emigram juntos de seus grupos natais (Baker & Dietz, 1996) e se inserem em um novo grupo como um casal reprodutor dominante e subordinado. Além disso, quando uma fêmea reprodutora morre e uma nova fêmea entra no grupo, pai e filho frequentemente copulam com essa nova fêmea, formando uma dupla subordinada e dominante (Baker *et al.*, 2008). A distinção entre duplas masculinas relacionadas e não relacionadas é biologicamente significativa por várias razões. Duplas de micos-leões-dourados compostas por machos não aparentados tendem a ser menos estáveis (Baker *et al.*, 2008).

Os níveis de andrógenos em machos de mico-leão-dourado variam conforme o *status* social, a estação reprodutiva e o parentesco. Machos subordinados que não estão relacionados ao macho dominante de seu grupo apresentam níveis de andrógenos mais baixos do que os machos dominantes. Em contraste, machos subordinados que são parentes do macho dominante exibem níveis de andrógenos fecais estatisticamente indistinguíveis daqueles do macho dominante. Além disso, os níveis de andrógenos também variam ao longo das estações reprodutivas, apresentando um aumento durante a época de acasalamento. Esse período é caracterizado por altos níveis de vigilância de parceiros, interações macho-macho e acesso a fêmeas reprodutoras (Baker *et al.*, 1993).

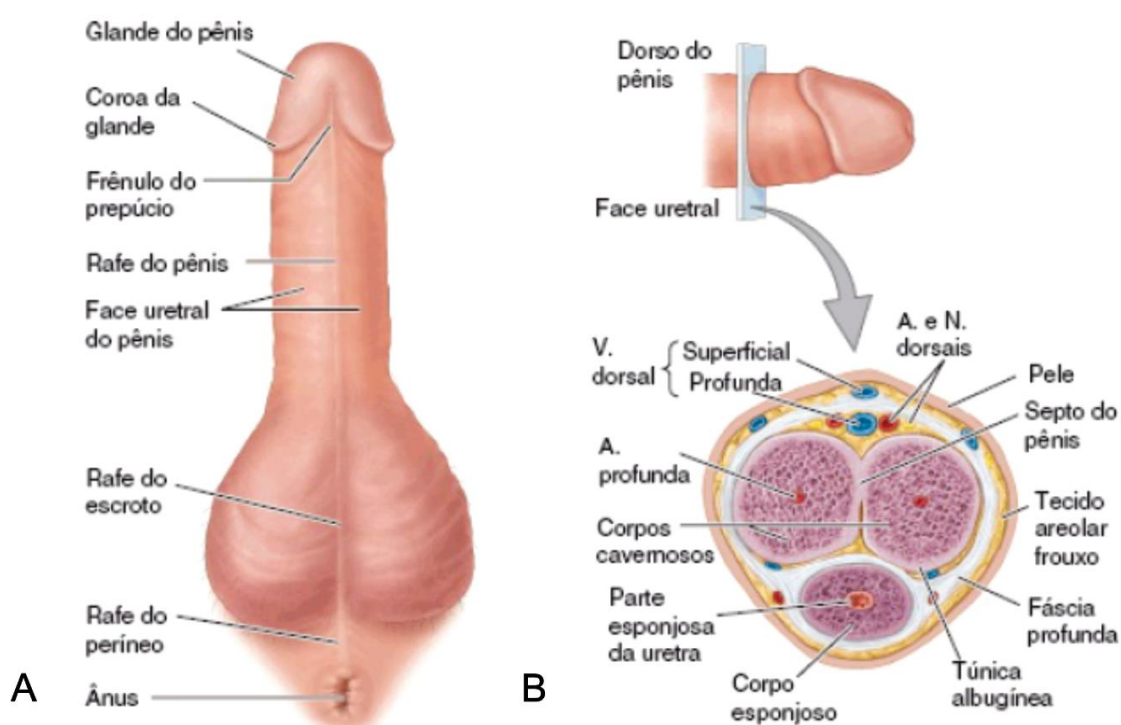
## 2.4 Morfologia do Pênis

O pênis é o órgão copulador masculino e também serve como saída comum para a urina e o sêmen. O termo deriva do latim *pendere*, que significa "pendurar" ou "pendurado". Entre os romanos, assim como na língua portuguesa, existiam inúmeras expressões populares para designar o pênis, como *clava*, *vomer*, *radix*, *ramus* e *gladius* (Fernandes, 1999). O termo é amplamente utilizado para uma variedade de animais, tanto invertebrados quanto vertebrados. Entretanto, em espécimes filogeneticamente mais distantes da classe Mammalia, esse órgão frequentemente permanece internalizado, sendo exposto apenas no momento da cópula (Hosken *et al.*, 2019).

O pênis humano e o dos animais domésticos é cilíndrico e anatomicamente dividido em regiões que, da base para o ápice, são: raiz, corpo e glande (Figura 8). Ele é composto por três estruturas cilíndricas de tecido erétil: dois corpos cavernosos dorsalmente e um corpo esponjoso ventralmente (Figura 9). O tecido erétil consiste em um labirinto tridimensional de seios que contêm sangue, formando as cavernas vasculares, revestidos por células endoteliais e envoltos por trabéculas de tecido fibromuscular. Cada corpo cavernoso possui um revestimento fibroso externo chamado túnica albugínea (Martini *et al.*, 2009; Tortora & Nielsen, 2019; Dalley & Agur, 2024). Os corpos cavernosos são separados de forma incompleta pelo septo do pênis. O corpo esponjoso contém a parte peniana da uretra.



**Figura 8.** Desenho esquemático do pênis humano, uretra masculina e estruturas associadas. Fonte: Dalley & Agur, 2024.



**Figura 9.** Desenho esquemático do pênis humano na vista inferior (A) e em corte transversal do corpo do pênis (B). Fonte: Dalley & Agur, 2024.

No homem, a raiz do pênis é a parte fixa e proximal. Ela é formada pelo bulbo do pênis, que é a continuação posterior expandida da base do corpo esponjoso, e pelos ramos do pênis, que são as duas extensões separadas e conectadas dos corpos cavernosos. A raiz do pênis está localizada no espaço superficial do períneo (Martini *et al.*, 2009; Tortora & Nielsen, 2019; Dalley & Agur, 2024). Os ramos e o bulbo do pênis consistem em massas de tecido erétil. Cada ramo está fixado à parte inferior da face interna do ramo isquiático correspondente. O bulbo do pênis está fixado à face inferior do músculo transverso profundo do períneo e é envolvido pelo músculo bulboesponjoso. A contração do músculo bulboesponjoso auxilia a ejaculação. Cada ramo do pênis curva-se lateralmente, afastando-se do bulbo para se fixar aos ramos isquiático e púbico inferior, sendo envolvido pelo músculo isquiocavernoso. O peso do pênis é sustentado por dois ligamentos contínuos com a fáscia do pênis: o ligamento fundiforme, que origina-se na parte inferior da linha alba, e o ligamento suspensor do pênis, que origina-se na sínfise púbica (Martini *et al.*, 2009; Tortora & Nielsen, 2019).

Nos primatas não-humanos, como *Callithrix jacchus* e *Pongo pygmaeus*, os músculos isquiocavernosos geralmente surgem dos músculos ísquios pélvicos e se inserem ao longo dos lados do pênis, na túnica resistente que envolve os corpos cavernosos. Entretanto, em alguns gêneros de primatas não-humanos, como *Cercopithecus*, esses músculos formam uma massa mais compacta, circundando o períneo e também a face lateral da base peniana. No *Macaca mulata*, Wislocki (1993) descreveu um par de músculos separados e menores que surgem medialmente aos músculos isquiocavernosos e se inserem ao longo da borda cranial do pênis, os músculos levantadores do pênis. Esses músculos, sugeriu Wislocki (1993), funcionam "para elevar e endireitar a extremidade pendular do pênis."

O músculo bulboesponjoso insere-se ao longo da superfície perineal do pênis, medialmente aos músculos isquiocavernosos, em algumas espécies de primatas. No entanto, em certos primatas não-humanos, ele está situado mais proximalmente, circundando o bulbo peniano. Nessa posição, o músculo está especialmente bem-posicionado não só para controlar a série de contrações que resultam na ejaculação, mas também para causar alterações morfológicas na glândula do pênis durante esse processo (Dixon, 2012).

A ejaculação ocorre quando contrações rítmicas se iniciam nos músculos isquiocavernosos e bulboesponjoso do períneo. Os músculos isquiocavernosos inserem-se ao longo das superfícies laterais do pênis, e a função primária de suas contrações está relacionada ao enrijecimento do órgão. O músculo bulboesponjoso circunda a raiz do pênis, e suas contrações propulsam o sêmen na direção do óstio uretral externo. Essas contrações são controladas por reflexos que envolvem os segmentos lombares inferiores e sacrais superiores da medula espinal (Martini *et al.*, 2009).

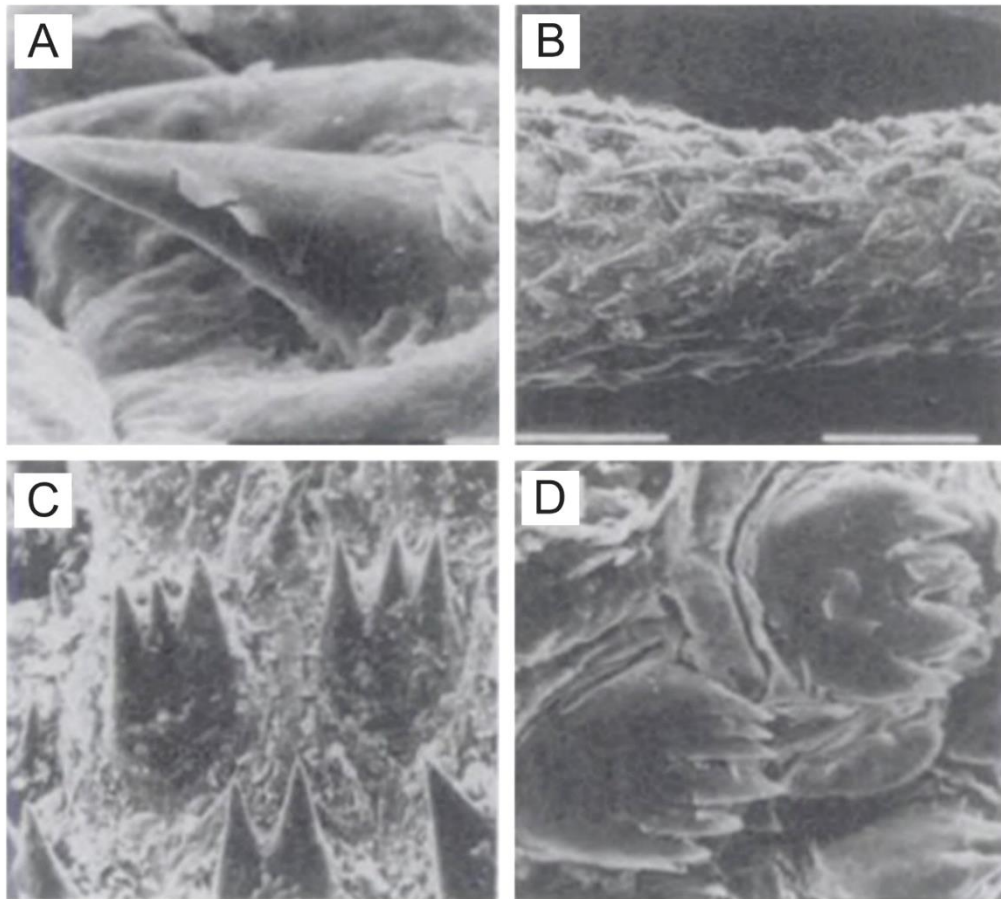
O corpo do pênis é a parte pendular livre, suspensa da sínfise púbica. Na parte distal, o corpo esponjoso se expande para formar a glândula do pênis. A margem da glândula projeta-se além das extremidades dos corpos cavernosos, formando a coroa da glândula. A coroa pende sobre uma constrição sulcada oblíqua, o colo da glândula, que separa a glândula do corpo do pênis. A parte distal da uretra expande-se na glândula, com uma abertura terminal em forma de fenda, o óstio uretral externo (Dalley & Agur, 2024).

A pele do pênis é fina, com pigmentação mais escura em relação à pele adjacente, e está unida à túnica albugínea por tecido conjuntivo frouxo. No colo da glândula, a pele e a fáscia do pênis se prolongam como uma dupla camada de pele, formando o prepúcio do pênis, que, em homens não circuncidados, cobre a glândula em extensão variável (Dalley & Agur, 2024).

Em algumas espécies de primatas não-humanos, observam-se espículas penianas queratinizadas que apresentam variações interespecíficas marcantes em tamanho e forma. As espículas são dependentes de andrógenos e crescem na puberdade como resultado da estimulação androgênica. Elas são compostas por várias camadas sobrepostas de material queratinizado, podendo ser classificadas em três categorias com base no tamanho e na forma:

- I. Espículas simples: pequenas estruturas pontiagudas de comprimento moderado. Ocorrem amplamente entre os primatas não-humanos (Figura 10A).
- II. Espículas simples e robustas: estruturas pontiagudas, muito alargadas e frequentemente espessadas na base. São encontradas em alguns antropóides e, mais comumente, em alguns prossímios (Figura 10B).

- III. Espículas complexas: estruturas multipontiagudas, normalmente de grande tamanho. O número de pontos pode variar de dois a três por coluna. São restritas aos prossímios (Figura 10C e 10D) (Dixson, 2012).



**Figura 10.** Eletromicrografias de varredura da espícula peniana em vários primatas. A: Tipo 1, espícula simples de *Callithrix jacchus*; B: Tipo 2, espículas robustas na glânde do pênis de *Galagoides demidoff*; C e D: Tipo 3, espículas complexas de *Galago garnettii* (C) e de *Microcebus murinus* (D). Fonte: Dixson, 2012.

Dixson (2012) propôs cinco funções para as espículas penianas que podem ser aplicáveis aos primatas não-humanos. São elas:

- I. As espículas geralmente estão situadas acima dos receptores táteis na derme da glânde do pênis; sua deflexão durante os movimentos de impulso pélvico pode aumentar os sinais táteis necessários para atingir a intromissão e/ou a ejaculação.

- II. As espículas podem ajudar a transmitir estimulação tátil à fêmea e, assim, facilitar as respostas neuroendócrinas que afetam o transporte de espermatozoides.
- III. As espículas podem fornecer estimulação tátil que melhora a postura sexualmente receptiva da fêmea durante o estro. Estímulos táteis do macho, enquanto ele monta, apalpam os flancos da fêmea e empurram vigorosamente contra sua área perineal, facilitando o reflexo lordótico da fêmea receptiva. A estimulação peniana da vagina e do colo do útero da fêmea durante a série de montagens também aumenta a expressão da lordose. No entanto, dada a longa duração da intromissão nos prossímios noturnos, é possível que a seleção sexual por escolha feminina tenha encorajado a evolução de genitália masculina complexa, que estimula a fêmea receptiva e a induz a permanecer imóvel.
- IV. As espículas penianas podem ajudar na remoção de sêmen coagulado ou tampões copulatórios depositados em acasalamientos anteriores e, portanto, são relevantes para reduzir a competição potencial de espermatozoides.
- V. As espículas penianas podem cumprir uma função mecânica ao agarrar as paredes da vagina durante a cópula, produzindo assim uma espécie de bloqueio genital. A cópula envolvendo intromissões prolongadas, com episódios intermitentes de impulso pélvico, tem sido relatada em vários galagos e em *Artocebus*.

Na glândula do pênis de pelo menos sete ordens de eutérios (Eulipotyphla, Carnivora, Chiroptera, Primates, Rodentia, Lagomorpha e Afrosoricidae), foi observado um osso peniano (Carosi & Scalici, 2017). Ele é classificado como osso heterotópico, ou seja, não pertence ao esqueleto propriamente dito, sendo uma estrutura acessória. O osso peniano se desenvolve no septo distal dos corpos cavernosos do pênis, dorsalmente à uretra, sob controle parcial de andrógenos durante a puberdade (Dixson, 2012, 2018; Carosi & Scalici, 2017). O tecido ósseo do osso peniano é caracterizado pela redução da densidade mineral e da rigidez geral, provavelmente para reduzir o risco de fratura durante a cópula (Carosi & Scalici, 2017).

Eberhard (1985 *apud* Dixson, 2012) propôs que especializações da genitália masculina também ocorreram para aumentar a probabilidade de que a fêmea "faça uso" dos gametas depositados em seu trato reprodutivo. Nas espécies em que as

fêmeas acasalam com vários machos, o pênis pode funcionar como um "dispositivo interno de cortejo", incentivando o transporte ou armazenamento de esperma e, portanto, aumentando a probabilidade de fertilização bem-sucedida. Pequenas características adaptativas da morfologia ou comportamento peniano que são vantajosas durante o ato da cópula, portanto, tornam-se sujeitas à rápida seleção sexual pela "escolha feminina", da mesma maneira que alguns caracteres sexuais secundários masculinos. A hipótese de Eberhard diz respeito às propriedades anatômicas e fisiológicas da genitália feminina que influenciam e "testam" a morfologia genital ou o padrão de cópula do macho e, portanto, afetam o sucesso reprodutivo masculino (Dixson, 1987a).

### **3 OBJETIVOS**

Caracterizar, por meio de análise macroscópica e das técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas e de microscopia eletrônica de varredura, os elementos constituintes do pênis das espécies *Leontopithecus rosalia*, *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus*, estabelecendo parâmetros morfométricos e identificando possíveis variações inter e intraespecíficas.

Analisar, por meio de técnicas histomorfométricas, os elementos constituintes do pênis das espécies em estudo, contribuindo com informações para a anatomia comparada de animais silvestres.

### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1 Comitê de Ética**

Este estudo faz parte do projeto intitulado "Pesquisa Básica e Aplicada em Morfologia dos Animais Silvestres e Exóticos", submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sob o protocolo número 018/2017. Ressalta-se que o estudo também recebeu autorização para Pesquisa Científica no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro, administrado pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA), com o número de autorização nº 001/2022 (ANEXO I).



## 4.2 Amostragem

Foram utilizados 30 pênis de cadáveres adultos de *Leontopithecus rosalia*, *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus*, sendo 10 de cada espécie (ANEXO II), provenientes do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro (CPRJ), localizado em Guapimirim, RJ. Os animais selecionados para este estudo faleceram por diferentes causas naturais enquanto estavam sob cuidados humanos, as quais não interferiram na morfologia peniana.

Os animais foram fixados em solução de formol a 10% por meio de infusões intramusculares e nas cavidades corporais no CPRJ, sendo posteriormente acondicionados em caixas plásticas de polietileno de baixa densidade, contendo solução de formol a 30%. Os espécimes foram encaminhados ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Morfologia de Animais Domésticos e Selvagens da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde foram identificados com etiquetas plásticas numeradas.

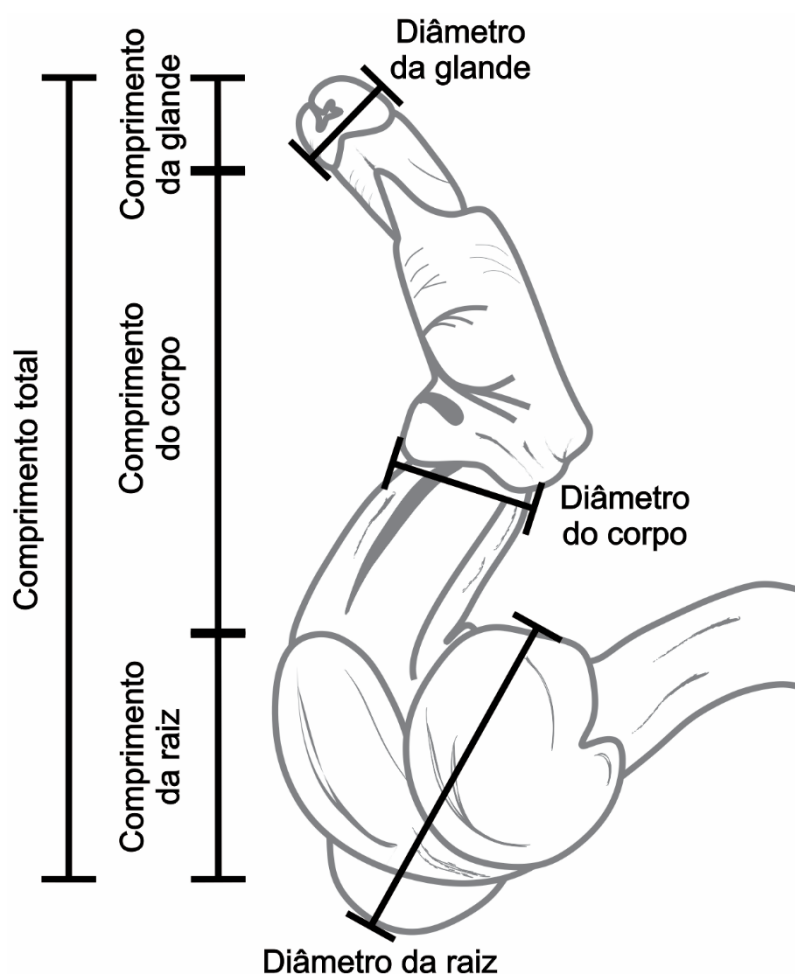
Cada animal foi mensurado com o auxílio de uma trena metálica de precisão, tendo como referência o comprimento crânio-sacral, ou seja, desde a extremidade do focinho até a inserção da cauda.

## 4.3 Dissecção

Para a realização da dissecção, os espécimes foram posicionados em decúbito dorsal e os membros pélvicos abduzidos manualmente, de modo a expor a região inguinal. Antes do início da dissecção, foram realizadas fotografias digitais (Nikon D7200 24.2 MP) dos órgãos genitais *in situ*.

Com o uso de materiais básicos de dissecção, as peles das regiões abdominal caudal, inguinal, perineal e escrotal foram afastadas. Com o auxílio do bisturi, foi realizada a abertura da cavidade peritoneal por meio de uma incisão longitudinal na linha alba e desarticulação da sínfise pélvica. Em seguida, procedeu-se à transposição dos músculos isquiocavernosos, seccionando-se os pilares do pênis próximos à sua fixação nos ossos ísquios, de modo a desfazer a inserção da raiz do pênis e expor o órgão genital *ex situ*.

Com o auxílio de um paquímetro digital de precisão (resolução de 0,01 mm, MTX®), os pênis *ex situ*, sem o prepúcio, foram mensurados, obtendo-se: comprimento total, comprimento da glândula, diâmetro da glândula, comprimento do corpo, diâmetro do corpo, comprimento da raiz e diâmetro da raiz (Figura 11). As medições foram realizadas em três repetições para cada parâmetro, obtendo-se a média de cada medida por espécime, com o objetivo de minimizar os erros de mensuração.



**Figura 11.** Desenho esquemático representando as medições morfométricas do pênis nas três espécies de *Leontopithecus*. Fonte: Elaborada pela autora.

Após a conclusão desta etapa, os pênis foram acondicionados individualmente em potes de vidro contendo álcool etílico a 70%. Os resultados foram

documentados por meio de esquemas elaborados no software CorelDraw 2020 e fotografias digitais feitas com a câmera Nikon D7200 24.2 MP e com o estereomicroscópio Leica EZ4 E.

#### **4.4 Análise Morfológica**

O processamento das amostras para análise macroscópica foi realizado no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Morfologia de Animais Domésticos e Selvagens da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), enquanto a análise da estrutura tecidual ocorreu no Laboratório de Histologia Integrativa da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). A estereologia foi realizada no Laboratório de Biomorfologia Celular e Extracelular da Universidade Federal Fluminense (UFF).

A nomenclatura adotada baseou-se na Nomina Anatomica Veterinaria (2017).

##### **4.4.1 Procedimento para a estereomicroscopia**

Segmentos transversais da raiz, corpo e glânde dos pênis de *Leontopithecus rosalia*, *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus* foram analisados ao estereomicroscópio Leica EZ4 E para observar a arquitetura interna do pênis, cujas imagens foram obtidas com o apoio do software Leica LAS EZ.

##### **4.4.2 Diafanização**

Para a realização da técnica de diafanização, os prepúcios dos pênis foram removidos e, em seguida, os órgãos foram imersos em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 3% por três dias, com o objetivo de desengordurar e preparar os tecidos. Após esse período, o material foi retirado da solução de hidróxido de sódio, lavado em água corrente e imerso em água oxigenada (30 volumes) até que a coloração do tecido se tornasse branca. Os pênis retornaram à solução de hidróxido de sódio a 3% por cerca de quatro dias ou até apresentarem uma aparência semi-translúcida.

Para a coloração, foi preparada uma solução de hidróxido de sódio a 1%, à qual foi adicionada uma pitada mínima de alizarina (corante). O material foi imerso

nessa solução por um período de dois a cinco dias, dependendo da intensidade de cor desejada. Após a coloração, o material foi lavado em hidróxido de sódio a 1% por pelo menos um dia, com o intuito de remover o excesso de corante.

Em seguida, os pênis foram imersos em uma solução composta por uma parte de glicerina e uma parte de hidróxido de sódio a 1%, sendo mantidos nesse ambiente por uma semana. Após esse período, a proporção da solução foi ajustada para duas partes de glicerina e uma parte de hidróxido de sódio a 1%, e o material permaneceu na solução por mais uma semana. Para a conservação final, o material foi transferido para glicerina pura, com uma pitada de timol para evitar o crescimento de fungos e garantir a preservação a longo prazo.

O osso peniano dos pênis das três espécies estudadas, corado pela técnica aplicada, foi analisado em estereomicroscópio Leica EZ4 E. As imagens foram obtidas com o auxílio do software Leica LAS EZ, no qual foram realizadas três repetições de medidas do osso peniano, calculando-se a média de cada medida por espécime.

#### **4.4.3 Procedimento para microscopia de luz**

Para a análise histológica, fragmentos com cerca de 5-6 mm de espessura da glândula, corpo e raiz de três pênis de cada espécie foram obtidos com o uso de uma navalha descartável. Para a observação da estrutura tecidual, os fragmentos foram acondicionados em cassetes plásticos e processados segundo a técnica histológica para inclusão em parafina.

Os fragmentos foram inicialmente submetidos à desidratação por meio de uma série crescente de álcool: álcool 70% (uma passagem de 5 minutos), álcool 90% (uma passagem de 20 minutos) e álcool 100% (duas passagens de 30 minutos cada). Esses tempos foram definidos com base na estrutura do material e se mostraram os mais adequados. Após a desidratação, os fragmentos foram clarificados com xilol (dois banhos de 30 minutos cada) e impregnados em parafina (dois banhos de 30 minutos cada). Ressalta-se que o procedimento histológico foi realizado com o auxílio de um processador de bancada semifechado e automatizado, modelo Leica TP1020. O emblocamento (feitura dos blocos) foi feito com o auxílio de um inclusor de parafina (EasyPath) em formas de aço inox.

Em seguida, os blocos de parafina foram submetidos à etapa de microtomia. Cortes de 5 µm de espessura foram obtidos com o auxílio do micrótomo manual Leica RM2125 RT, sendo coletados em lâminas e levados à estufa a 37°C para secagem. Os cortes histológicos foram submetidos a diferentes técnicas de coloração, com a finalidade de caracterizar a morfologia geral dos pênis das espécies utilizadas neste estudo.

#### **4.4.3.1 Técnicas histoquímicas para caracterização morfológica**

##### **4.4.3.1.a Coloração pela hematoxilina-eosina** (Lillie & Fullmer, 1976 *apud* de Brito-Gitirana, 2022)

Os cortes histológicos foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados em álcool etílico (100%, 90% e 70%) e levados à água destilada. A seguir, os cortes foram corados com hematoxilina de Harris por 15 segundos, diferenciados em água corrente (da torneira) por até 10 minutos. Em seguida, os cortes foram imersos em água destilada e corados com eosina por 30 segundos. Após rápida lavagem em água destilada, os cortes foram desidratados em álcool etílico (70%, 90%, 100% e 100%), diafanizados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas utilizando Entellan® (Entellan® New, Merck).

Neste método, os núcleos são corados em azul e o citoplasma, em rosa, permitindo a visualização geral da estrutura tecidual.

##### **4.4.3.1.b Coloração pelo tricrômico de Mallory** (Mallory, 1905 *apud* de Brito-Gitirana, 2022)

Os cortes histológicos foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados em álcool etílico (100%, 90% e 70%) e levados à água destilada. Em seguida, os cortes foram corados em solução aquosa de fucsina ácida a 1% por dois minutos e lavados em água destilada. Na sequência, os cortes foram corados em solução aquosa de ácido fosfomolibdico a 1% por dois minutos e lavados em água destilada. Posteriormente, os cortes foram corados com a mistura de Mallory por 30 minutos. Após, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados em álcool

etílico (70%, 90%, 100% e 100%), diafanizados em dois banhos de xilol e montados com lâminulas utilizando Entellan® (Entellan® New, Merck).

Na coloração, os núcleos são corados em azul, as fibras colagenosas em azul, a queratina em amarelo-avermelhado, as hemácias em vermelho e o tecido muscular em laranja.

#### **4.4.3.1.c Coloração pelo picrossírius red** (Sweat *et al.*, 1964 *apud* de Brito-Gitirana, 2022)

Os cortes histológicos foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados em álcool etílico (100%, 90% e 70%) e levados à água destilada. Em seguida, os cortes foram corados por uma hora em solução de picrossírius red. Posteriormente, os cortes foram lavados em solução de ácido clorídrico 0,01N por dois minutos para remover o excesso de corante, seguidos de lavagem em água destilada. Na sequência, os cortes foram corados em hematoxilina de Harris por 30 segundos, lavados em água corrente por até 10 minutos e, em seguida, lavados em água destilada. A seguir, os cortes foram desidratados em álcool etílico (70%, 90%, 100% e 100%), diafanizados em dois banhos de xilol e montados com lâminulas utilizando Entellan® (Entellan® New, Merck).

A coloração pelo picrossírius red é utilizada para visualizar elementos fibrosos à base de colágeno, que se coram em vermelho.

#### **4.4.3.1.d Coloração seletiva pela Orceína** (Henwood, 2002 *apud* de Brito-Gitirana, 2022)

Os cortes histológicos foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados em álcool etílico (100%, 90% e 70%) e imersos em solução acetificada de álcool 70% por um minuto. Em seguida, os cortes foram corados em solução de orceína 1% em estufa a 60°C por 30 minutos. Posteriormente, os cortes foram imersos em solução acetificada de álcool 70%, seguidos de lavagem em água destilada. A seguir, os cortes foram contracorados com solução aquosa acetificada de light green 1% por três minutos. Após essa etapa, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados em álcool etílico (70%, 90%, 100% e 100%), diafanizados em dois

banhos de xilol e montados com lamínulas utilizando Entellan® (Entellan® New, Merck).

Na coloração seletiva pela orceína, as fibras elásticas são evidenciadas em marrom.

#### **4.4.3.1.e Coloração por Fucsina-Resorcina de Weigert**

Para o preparo da solução de fucsina-resorcina de Weigert, em 100 mL de água destilada, foi adicionado 1 g de fucsina básica e 2 g de resorcina. Após a fervura da solução, foram adicionados 12,5 mL de solução de cloreto férrico a 30%. A fervura foi mantida por mais cinco minutos. Decorrido esse tempo, a solução foi resfriada e filtrada, sendo o filtrado descartado. O precipitado obtido foi completamente dissolvido em 100 mL de etanol a 95%, utilizando-se uma placa aquecedora para controle da temperatura. Em seguida, foram adicionados 2 mL de ácido clorídrico concentrado.

Os cortes histológicos foram desparafinados em dois banhos de xilol e hidratados em álcool etílico a 100%, 90% e 70%. Em seguida, foram imersos em monopersulfato de potássio a 10% por uma hora a 37 °C, sendo posteriormente lavados em água corrente por três minutos. Os cortes foram desidratados em álcool a 70% e 90% por três minutos cada e corados em solução de Weigert por 60 minutos. Posteriormente, foram hidratados em álcool a 90% e 70% por três minutos cada e lavados em água destilada por um minuto. Em seguida, foram corados em solução de Orange G por dez segundos. Após essa etapa, os cortes foram lavados em água destilada, desidratados em álcool etílico (70%, 90%, 100% e 100%), diafanizados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas utilizando Entellan® (Entellan® New, Merck).

Na coloração com fucsina-resorcina de Weigert, as fibras elásticas foram evidenciadas em tonalidade marrom-arroxeadas.

#### **4.4.4 Imuno-histoquímica**

Os cortes de 5 µm foram colocados em lâminas previamente adesivadas e acondicionados em estufa a 37°C por 24 horas para garantir a adesão dos cortes. Em

seguida, os cortes foram desparafinizados em dois banhos de xilol, hidratados em soluções de álcool etílico (100%, 90% e 70%) e lavados com água destilada. Posteriormente, realizou-se a recuperação antigênica utilizando uma solução de tripsina 0,1% por 20 minutos, seguida de nova lavagem com água destilada.

O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado mergulhando os cortes em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) 30% diluído em tampão fosfato 1M por 30 minutos. Em seguida, os cortes foram lavados em tampão fosfato 0,1M por 10 minutos.

Em seguida, realizou-se o bloqueio das ligações inespecíficas com albumina sérica bovina (BSA) 1% em tampão fosfato por uma hora, seguido de nova lavagem com tampão fosfato 0,1M. As lâminas foram então incubadas com o anticorpo primário anti- $\alpha$ -actina de músculo liso (HHF35, Cod. M0851, DAKO), diluído na proporção 1:50, e mantidas em câmara úmida a 4°C por 24 horas. Posteriormente, os cortes foram lavados duas vezes em tampão fosfato 0,1M por 10 minutos, seguidos de incubação com o polímero HRP (sistema de detecção do kit Reveal SPD, Dako) por 15 minutos à temperatura ambiente. Na sequência, os cortes foram novamente lavados em tampão fosfato, e o produto da reação foi revelado com DAB (reagente DABC do kit Reveal, Dako). Ao final, os cortes foram contra-corados com hematoxilina por 10 segundos, desidratados em álcool etílico (70%, 90%, 100% e 100%), diafanizados em dois banhos de xilol e montados com lamínulas utilizando-se Entellan®.

O anticorpo anti- $\alpha$ -actina foi utilizado com o objetivo de detectar células musculares lisas, permitindo a identificação dessas células no tecido erétil do pênis das três espécies estudadas.

#### **4.5 Análise Histomorfométrica do Corpo do Pênis**

As imagens utilizadas para a análise da morfologia e quantificação dos parâmetros histomorfométricos do corpo do pênis dos animais estudados foram obtidas com um microscópio óptico Olympus BX-51, acoplado a uma câmera de vídeo Olympus DP-72. As imagens dos campos microscópicos foram transferidas para um monitor LG Flatron W1752T, o qual foi utilizado para visualização e análise. Para essas análises, foram empregadas imagens de cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina.



#### **4.5.1 Quantificação das fibras elásticas**

A quantificação das fibras elásticas nos corpos cavernosos e esponjoso foi realizada por meio de técnicas de coloração histoquímica. Para a avaliação das fibras elásticas, foi utilizada a coloração com Fucsina Resorcina de Weigert, que permite a visualização detalhada das fibras. As imagens dos cortes corados foram capturadas utilizando um microscópio óptico Olympus BX-51, acoplado a uma câmera de vídeo Olympus DP-72. A área ocupada pelas fibras elásticas foi quantificada em imagens digitalizadas com o software ImageJ, utilizando o plug-in color segmentation. Todos os tons de cor que se aproximaram da coloração das fibras elásticas foram selecionados e, ao final da análise, as porcentagens correspondentes foram obtidas em relação à área total do tecido. A quantificação foi realizada em três campos aleatórios por amostra, totalizando 12 medições por espécie.

#### **4.5.2 Análise qualitativa das fibras colagenosas**

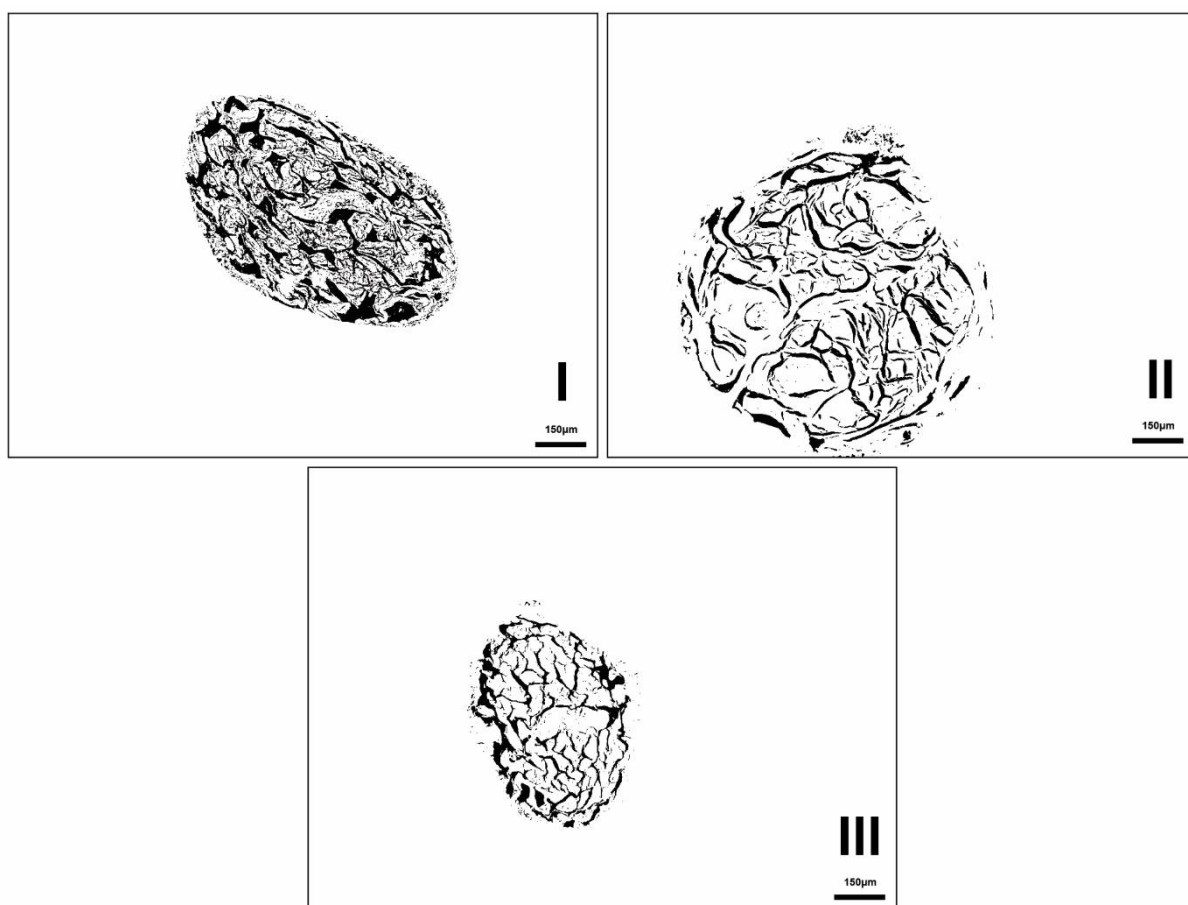
O padrão das fibras colagenosas foi avaliado qualitativamente em cortes corados com picrossírius red e observados sob luz polarizada, com ampliação de 200x. Essa técnica permitiu a identificação das fibras colagenosas, diferenciando-as de acordo com sua espessura: fibras mais grossas adquiriram uma coloração avermelhada/alaranjada, geralmente associada ao colágeno tipo I, enquanto fibras mais finas apresentaram coloração esverdeada, geralmente associada ao colágeno tipo III.

#### **4.5.3 Área da uretra**

A área luminal uretral foi medida em cortes corados com picrossírius red, com ampliação de 200x. A borda apical do epitélio uretral foi delineada com o auxílio do mouse, delimitando a área luminal da uretra. Após a seleção, o software ImageJ foi utilizado para medir a área selecionada em mm<sup>2</sup>.

#### 4.5.4 Área dos corpos cavernosos e esponjoso

A área dos corpos cavernosos e esponjoso foi medida em imagens binarizadas de cortes transversais (Figura 12), nas quais as áreas dos seios foram marcadas em preto, utilizando o software ImageJ. A área de cada estrutura foi calculada automaticamente e expressa em mm<sup>2</sup>. Para cada espécime, foram analisadas três lâminas em seções transversais, com imagens capturadas em três campos aleatórios por lâmina.



**Figura 12.** Fotomicrografias digitais e binarizadas, mostrando a área dos seios cavernosos em preto de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III).

#### 4.5.5 Espessura da túnica albugínea

A espessura da túnica dos corpos cavernosos e esponjoso foi medida em quatro pontos diferentes de cada amostra: dorsal, ventral, medial e lateral. As medições foram realizadas utilizando a ferramenta de calibração do software ImageJ,

com três medições em cada ponto da túnica por lâmina. A espessura média da túnica foi calculada para cada animal e as medições foram comparadas entre as espécies.

#### **4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura**

Para a análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foram utilizados dois fragmentos do pênis de cada espécie, totalizando seis fragmentos. As amostras foram clivadas transversalmente na porção médio-distal do corpo do pênis, com o objetivo de observar tridimensionalmente a região da glândula.

Os fragmentos foram transferidos para uma placa de cultura (Costar® CLS3524) e desidratados em álcool etílico, seguindo o protocolo: 70% por 10 minutos, 80% por 30 minutos, 90% por 30 minutos, e três lavagens consecutivas em álcool 100% por 30 minutos cada. Após a desidratação, as amostras foram secas pelo método do hexametildisilazano (HMDS) (Sigma-Aldrich®), sendo submersas em uma solução de HMDS e etanol absoluto na proporção 1:1 por 5 minutos, seguida de imersão em HMDS 100% por 5 minutos. As amostras foram, então, secas à temperatura ambiente. Todas as etapas do processo foram realizadas em capela de exaustão. Posteriormente, as amostras foram montadas sobre suporte metálico ("stub") utilizando fita dupla face de carbono e pulverizadas com ouro, formando uma camada de 18 nm de espessura. O tempo de pulverização foi de 70 segundos, com corrente de 40 mA (Leica EM SCD050). O processamento das amostras e a pulverização foram realizados na Unidade de Microscopia Multiusuário Souto-Padrón Lins (UNIMICRO). As micrografias eletrônicas de varredura foram obtidas com um microscópio eletrônico de varredura a 30 kV (ZEISS EVO 10), no Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO-UFRJ).

#### **4.7 Análise Estatística**

Na análise macroscópica, foram calculadas as médias e o desvio-padrão para o comprimento rostrissacral, comprimento total do pênis, comprimento da glândula, diâmetro da glândula, comprimento do corpo, diâmetro do corpo, comprimento da raiz e diâmetro da raiz, bem como para o comprimento do osso peniano e para as áreas da uretra, do corpo cavernoso, do corpo esponjoso, do seio venoso e da espessura

da túnica albugínea do corpo cavernoso. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade da distribuição. Os valores obtidos foram comparados entre as espécies por meio da análise de variância (ANOVA) não pareada com post-test Kruskal-Wallis, adotando-se um nível de significância de 5%.

O coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) foi calculado para o comprimento total do pênis, comprimento da glândula, comprimento do corpo e comprimento da raiz em relação ao comprimento rostrossacral, assim como para o comprimento do osso peniano em relação ao comprimento total do pênis. Além disso, foi analisada a porcentagem que o comprimento do osso peniano representa em relação ao comprimento total do pênis.

Todas as análises foram realizadas no software GraphPad Prism 5.

## 5 RESULTADOS

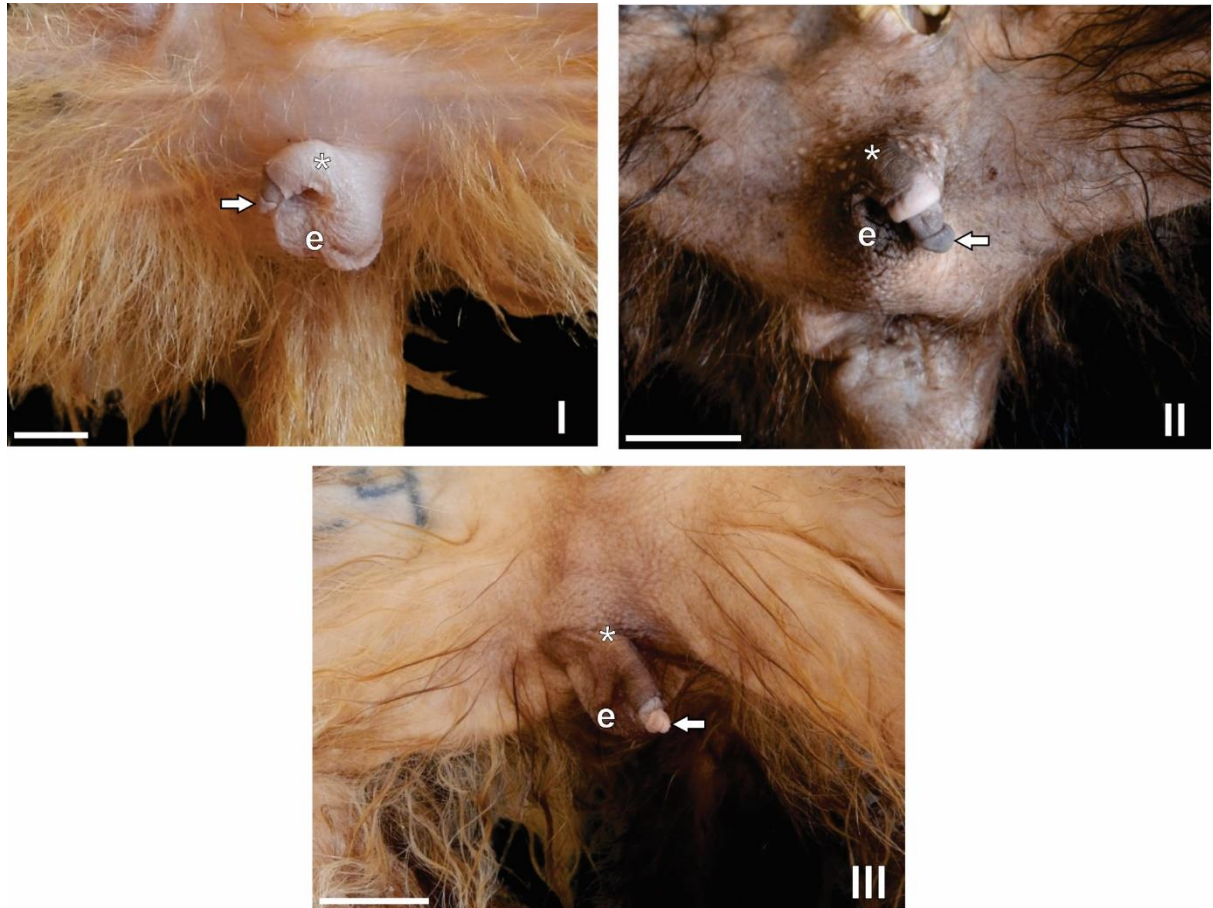
As dissecções e as técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas e de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) possibilitaram a análise dos achados macroscópicos e microscópicos dos pênis de *L. rosalia*, *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus*, permitindo a caracterização da morfologia externa e interna dos pênis, por meio da identificação de seus elementos teciduais.

O comprimento corporal médio foi de  $22,60 \pm 1,11$  cm em *L. rosalia*,  $23,87 \pm 1,77$  cm em *L. chrysomelas* e  $24,13 \pm 2,11$  cm em *L. chrysopygus*. Os resultados indicaram que o comprimento corporal apresentou distribuição normal em *L. rosalia* ( $p = 0,5928$ ), *L. chrysomelas* ( $p = 0,1685$ ) e *L. chrysopygus* ( $p = 0,0572$ ), e não foi observada diferença estatística entre as espécies ( $p = 0,2508$ ).

### 5.1 Análise Macroscópica

A análise macroscópica revelou que o pênis em repouso, *in situ*, das três espécies de *Leontopithecus* estudadas apresentou-se pendular a partir da borda caudal da sínfise púbica. O pênis, nas três espécies, consiste em três regiões cilíndricas anatomicamente distintas: raiz, corpo e glândula. O órgão originou-se em sua raiz e seguiu cranioventralmente, encoberto pela pele da região pélvica. Próximo ao

tubérculo púbico, curvou-se caudoventralmente, tornando-se pendular e sendo revestido pelo prepúcio. A glândula e a porção mais distal do corpo do pênis apresentaram-se expostas no pênis não erétil (Figura 13).

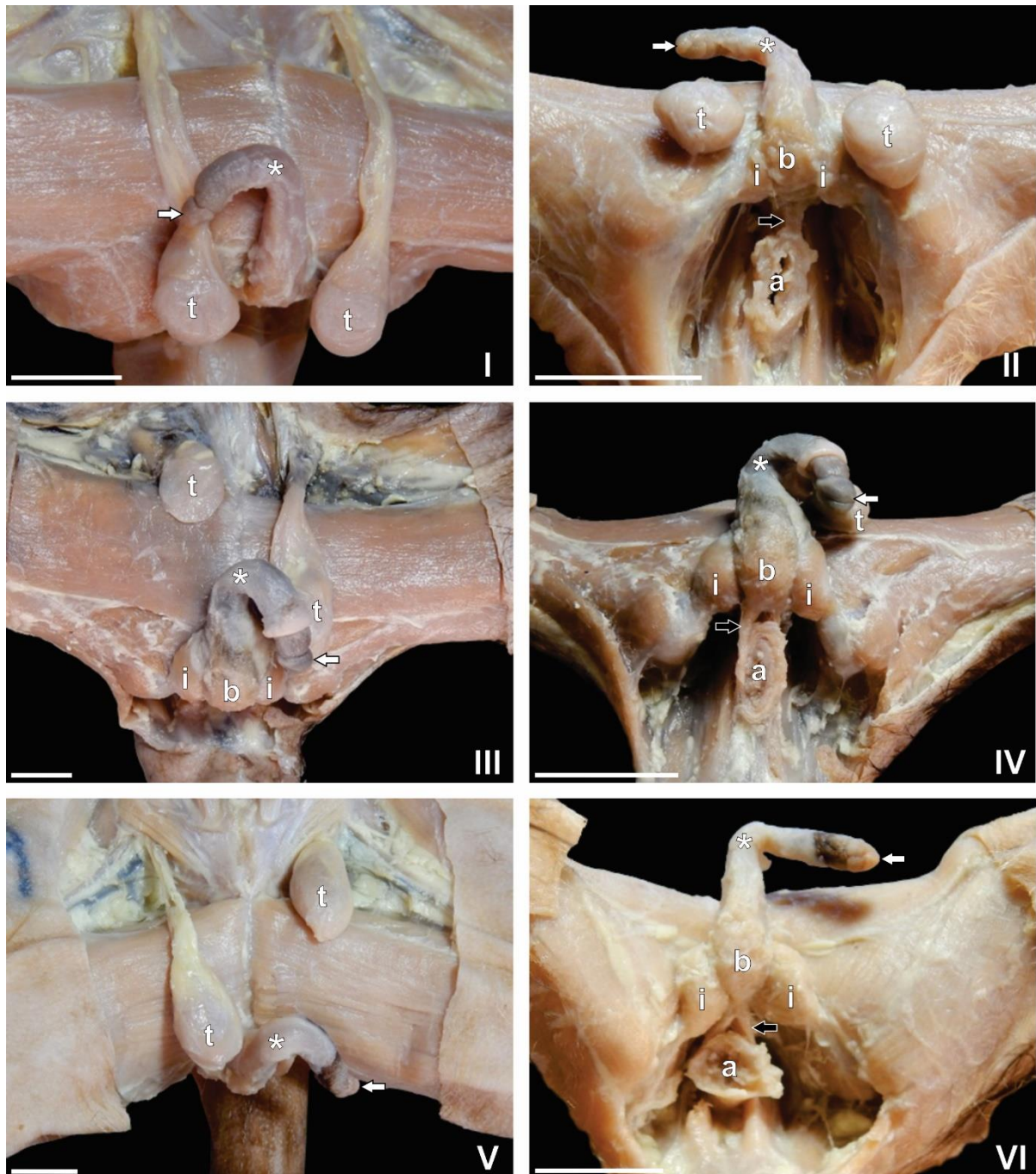


**Figura 13.** Fotomacrografia digital da região pélvica de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III) em vista ventral. Observa-se o pênis pendular das espécies, com o corpo do pênis coberto pelo prepúcio (\*) e a glândula exposta (⇒). e: escroto. Barra de escala: 1,0 cm.

O períneo foi dissecado e foi identificada a origem do pênis, composta por dois pilares do arco isquiático e um bulbo ímpar, que correspondem aos músculos isquiocavernosos e bulboesponjoso, respectivamente (Figura 14). O músculo bulboesponjoso localiza-se no plano mediano, e as duas partes são unidas pela rafe



tendínea inferior ao bulbo do pênis. Os músculos isquiocavernosos envolvem os ramos situados na raiz do pênis, formando os pilares do órgão. Os pilares do pênis foram seccionados, expondo o órgão genital *ex situ*.



**Figura 14.** Fotomacrografia digital da região pélvica de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI) em vista ventral (I, III e V) e vista do assoalho pélvico (II, IV e VI). O pênis, sem o prepúcio, destaca a região onde o

corpo do pênis se torna pendular (\*) e a glânde exposta ( $\Rightarrow$ ). t: testículo, b: músculo bulboesponjoso, i: músculo isquiocavernoso, a: ânus,  $\Rightarrow$ : músculo esfíncter anal externo. Barra de escala: 1,0 cm.

O comprimento total médio do pênis em *L. rosalia* foi de  $3,27 \pm 0,43$  cm, em *L. chrysomelas* foi de  $3,37 \pm 0,50$  cm e em *L. chrysopygus* foi de  $3,12 \pm 0,53$  cm. O pênis de *L. rosalia* representou 14,48% do comprimento do corpo, *L. chrysomelas* 14,12% e *L. chrysopygus* 12,88%. Observou-se uma correlação entre o comprimento corporal e o comprimento total do pênis em *L. chrysopygus* ( $r = 0,8279$  e  $p = 0,0059$ ). Não foi observada diferença no comprimento total do pênis entre as três espécies ( $p = 0,5401$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal e do comprimento total do pênis em *Leontopithecus* ( $n = 30$ ). Coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) entre o comprimento corporal e o comprimento total do pênis.

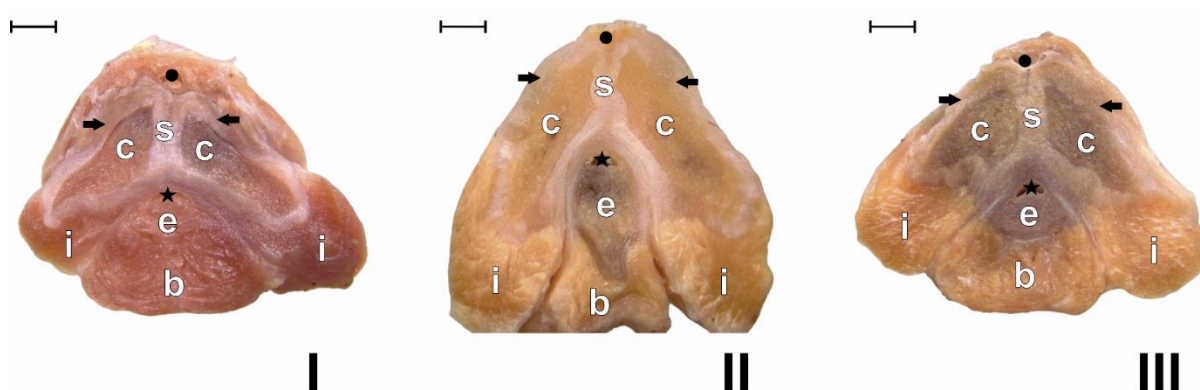
Espécie	Comprimento corporal	Comprimento total do pênis	$r$	$p$ value
<i>L. rosalia</i> (n=10)	$22,60 \pm 1,11$	$3,27 \pm 0,43$	0,3624	0,2733
<i>L. chrysomelas</i> (n=10)	$23,87 \pm 1,77$	$3,37 \pm 0,50$	0,4876	0,1830
<i>L. chrysopygus</i> (n=10)	$24,13 \pm 2,11$	$3,12 \pm 0,53$	0,8279	0,0059*

\*significativamente diferente ( $p < 0,05$ ).

O pênis *ex situ* das três espécies de *Leontopithecus* foi seccionado nas três regiões: raiz, corpo e glânde, para análise macroscópica. A estrutura interna básica do pênis apresentou-se típica de um pênis de mamífero, ou seja, vascularizada, com um corpo esponjoso ventral e ao redor da uretra peniana e dois corpos cavernosos dorsais e pareados.

### 5.1.1 Raiz do pênis

O pênis dos espécimes de *Leontopithecus* estava conectado ao arco isquiático na região perineal por dois músculos isquiocavernosos. Na raiz, os corpos cavernosos estavam separados entre si e cobertos pelos músculos isquiocavernosos. Na parte caudomedial, entre os dois corpos cavernosos, foi observado o bulbo do pênis, independente dos corpos cavernosos e coberto pelo músculo bulboesponjoso, que era bem desenvolvido e circundava o corpo esponjoso e a uretra peniana. Na parte distal da raiz do pênis, em corte transversal, observou-se os dois corpos cavernosos alongados, separados por um espesso septo mediano contínuo e envolvidos por uma túnica albugínea robusta. Ventralmente ao sulco formado pelos dois corpos cavernosos, observou-se o corpo esponjoso envolvendo a uretra peniana. Este tecido erétil também estava envolvido por uma fina túnica albugínea (Figura 15).



**Figura 15.** Fotomicrografia digital dos cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso, e: corpo esponjoso, s: septo mediano, i: músculo isquiocavernoso, b: músculo bulboesponjoso, ➡: túnica albugínea, ★: uretra peniana, ●: veia dorsal profunda. Barra de escala: 0,2 cm.

A raiz do pênis apresentou, em *L. rosalia*,  $0,78 \pm 0,17$  cm de comprimento médio e  $0,64 \pm 0,29$  cm de diâmetro; em *L. chrysomelas*,  $0,90 \pm 0,16$  cm de comprimento médio e  $0,63 \pm 0,24$  cm de diâmetro; e em *L. chrysopygus*,  $0,72 \pm 0,18$  cm de comprimento médio e  $0,45 \pm 0,10$  cm de diâmetro. Observou-se uma correlação entre o comprimento corporal e o comprimento da raiz do pênis em *L. chrysopygus* (r



= 0,8957 e  $p = 0,0011$ ). Não foi observada diferença no comprimento ( $p = 0,0711$ ) e no diâmetro ( $p = 0,1174$ ) da raiz do pênis entre as três espécies (Tabela 3).

**Tabela 3.** Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal, do comprimento da raiz do pênis e do diâmetro da raiz do pênis em *Leontopithecus* ( $n = 30$ ). Coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) entre o comprimento corporal e o comprimento da raiz do pênis.

Espécie	Comprimento corporal	Raiz do pênis		$r$	$p$ value
		Comprimento	Diâmetro		
<i>L. rosalia</i> ( $n=10$ )	22,60 $\pm$ 1,11	0,78 $\pm$ 0,17	0,64 $\pm$ 0,29	0,4882	0,1276
<i>L. chrysomelas</i> ( $n=10$ )	23,87 $\pm$ 1,77	0,90 $\pm$ 0,16	0,63 $\pm$ 0,24	0,01210	0,9753
<i>L. chrysopygus</i> ( $n=10$ )	24,13 $\pm$ 211	0,72 $\pm$ 0,18	0,45 $\pm$ 0,10	0,8393	0,0047*

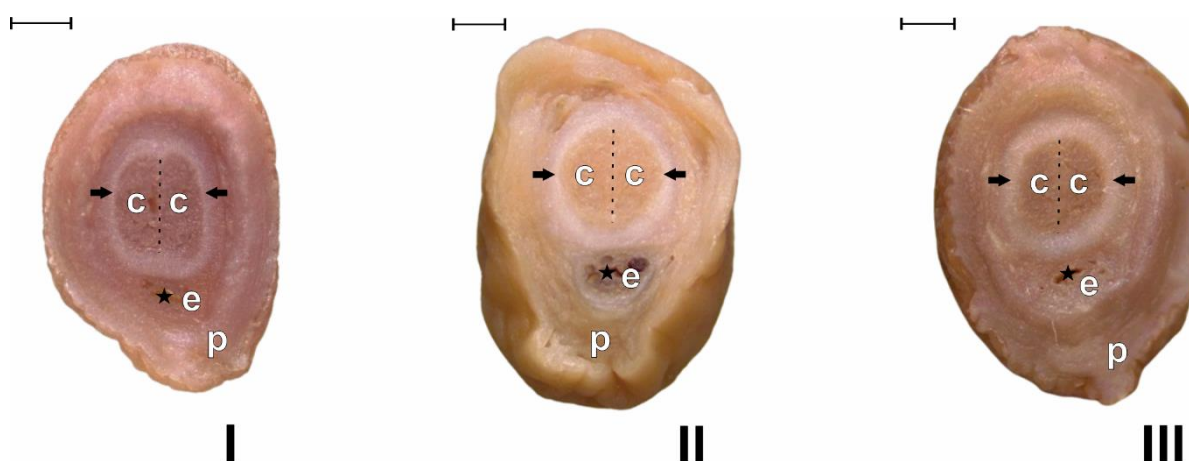
\*significativamente diferente ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.2 Corpo do pênis

O corpo do pênis nas três espécies de *Leontopithecus* estava, em sua maior parte, encoberto pelo prepúcio em estado de repouso, exceto pela porção mais distal. Na superfície ventral do terço médio distal do corpo do pênis de *L. chrysomelas*, foi observado um sulco mediano que percorre toda a sua extensão até o colo da glândula. Em *L. rosalia* e *L. chrysopygus*, a superfície ventral apresentou uma prega mediana, mais larga na porção distal, terminando no colo da glândula do pênis, em uma projeção mediana elevada. O corpo do pênis era cilíndrico em toda a sua extensão, exceto na flexura caudoventral, onde apresentava um leve achatamento no sentido dorso-ventral.

No corte transversal, os corpos cavernosos apresentaram-se em formato de meia-lua e eram menores em relação à raiz, separados por um fino septo mediano e envoltos por uma túnica albugínea espessa. A uretra situava-se ventral aos corpos cavernosos e estava envolta pelo corpo esponjoso, que era delimitado por uma fina

túnica albugínea (Figura 16). Na extremidade mais distal, próxima à glânde, o corpo do pênis apresentou espículas queratinizadas dispersas sobre o epitélio, as quais continuaram a se distribuir pela glânde.



**Figura 16.** Fotomacrografia digital dos cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; p: prepúcio; ➡: túnica albugínea; ★: uretra peniana. Linha tracejada indicando o fino septo mediano entre os corpos cavernosos. Barra de escala: 0,2 cm.

O corpo do pênis apresentou, em *L. rosalia*,  $2,44 \pm 0,41$  cm de comprimento médio e  $0,24 \pm 0,06$  cm de diâmetro médio; em *L. chrysomelas*,  $2,20 \pm 0,42$  cm de comprimento médio e  $0,33 \pm 0,10$  cm de diâmetro médio; e em *L. chrysopygus*,  $2,01 \pm 0,41$  cm de comprimento médio e  $0,30 \pm 0,05$  cm de diâmetro médio. Foi observada correlação significativa entre o comprimento corporal e o comprimento do corpo do pênis em *L. chrysopygus* ( $r = 0,7132$  e  $p = 0,0310$ ). Não foi observada diferença significativa no comprimento ( $p = 0,0748$ ) do corpo do pênis entre as três espécies. No entanto, o diâmetro ( $p = 0,0288$ ) do corpo do pênis apresentou diferenças entre *L. rosalia* e *L. chrysomelas* (Tabela 4).

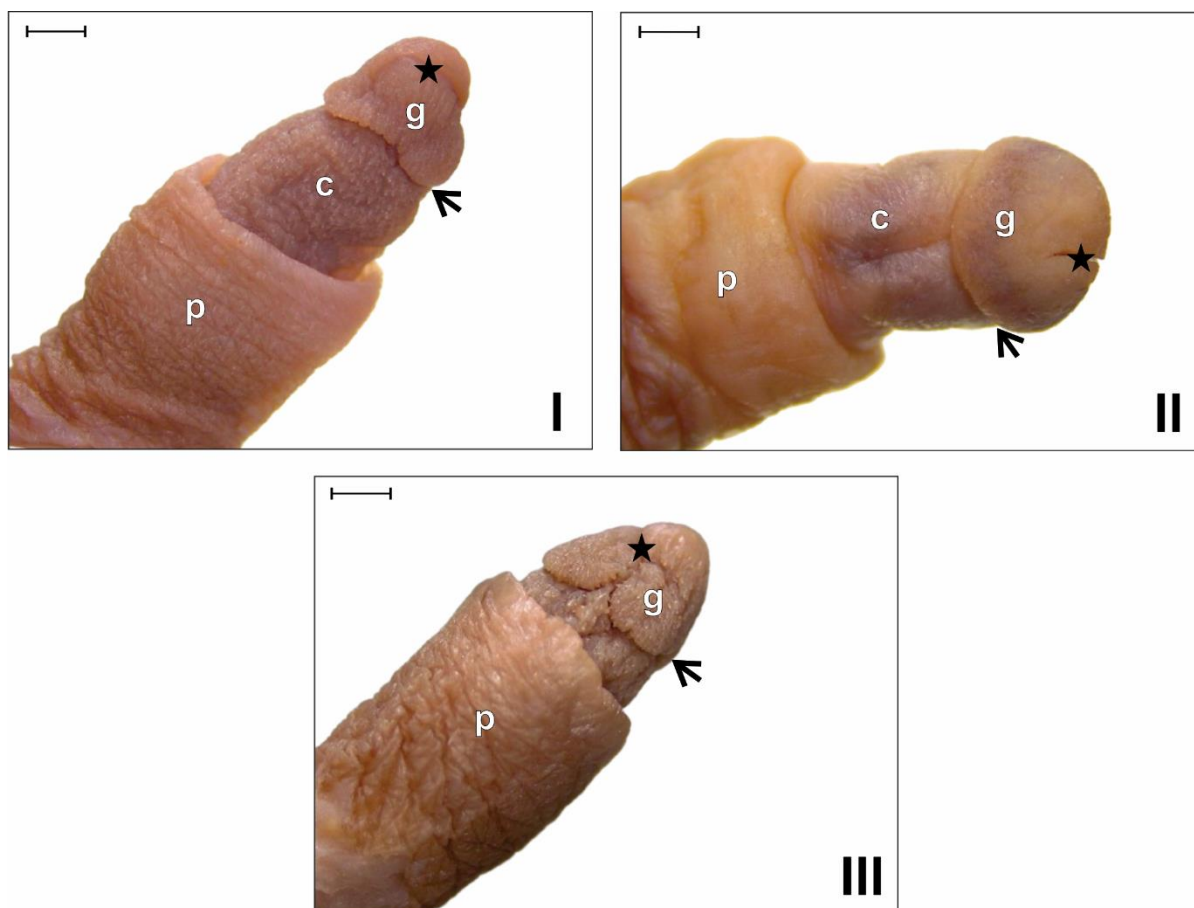
**Tabela 4.** Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal, do corpo do pênis e do diâmetro do corpo do pênis em *Leontopithecus* (n = 30). Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o comprimento corporal e o comprimento do corpo do pênis.

Espécie	Comprimento corporal	Corpo do pênis		r	p value
		Comprimento	Diâmetro		
<i>L. rosalia</i> (n=10)	22,60 ± 1,11 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,41 <sup>a</sup>	0,30 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,1355	0,6913
<i>L. chrysomelas</i> (n=10)	23,87 ± 1,77 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,42 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,2077	0,5918
<i>L. chrysopygus</i> (n=10)	24,13 ± 211 <sup>a</sup>	2,44 ± 0,41 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,7132	0,0310*

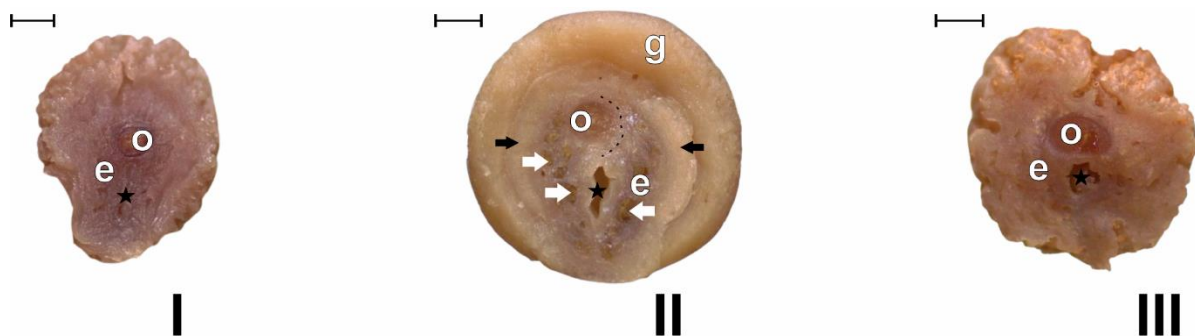
\*significativamente diferente (p<0,05). Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente no nível 0,05.

### 5.1.3 Glande do pênis

A glande do pênis apresentou forma triangular em *L. rosalia* e *L. chrysopygus*, e formato de chapéu (píleo) de cogumelo em *L. chrysomelas*, formando uma coroa e demarcando o colo da glande. O óstio uretral externo estava situado na extremidade da glande assimetricamente, em forma de fissura (fenda) transversal. Espículas queratinizadas e direcionadas proximalmente estavam dispersas na glande, exceto na porção mais distal, próxima ao óstio uretral externo (Figura 17). Em corte transversal, foi observado osso peniano dorsal e centralizado à uretra, envolto pelo corpo esponjoso, em *L. rosalia* e *L. chrysopygus*. Já em *L. chrysomelas*, o osso peniano apresentou-se no corpo cavernoso, à direita do septo mediano (Figura 18).

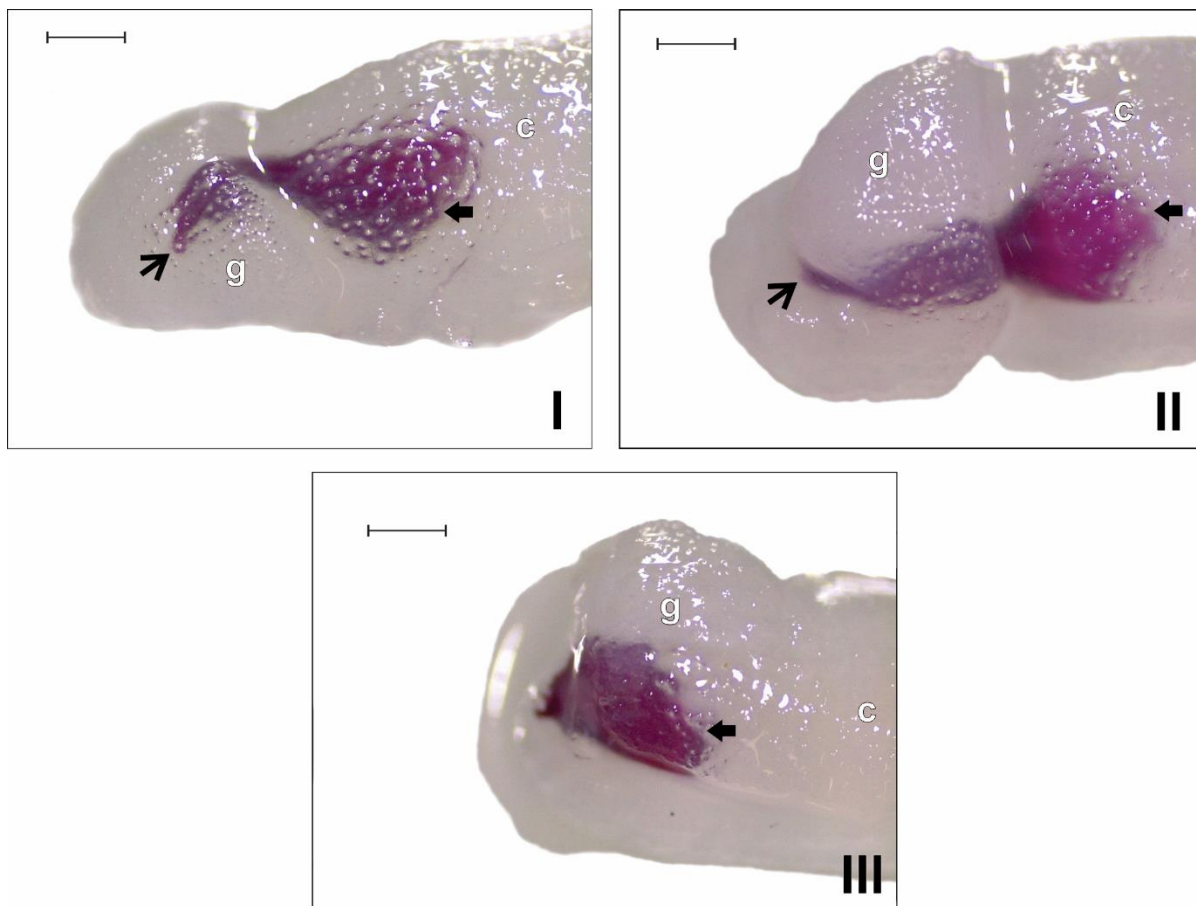


**Figura 17.** Fotomacrografia digital do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I) em vista lateral direita, e de *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III) em vista ventral. g: glande do pênis; ★: óstio uretral externo; →: colo da glande do pênis; c: porção distal do corpo do pênis com espículas; p: prepúcio. Barra de escala: 0,2 cm.



**Figura 18.** Fotomicrografia digital dos cortes transversais da glânde do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; o: osso peniano; g: coroa da glânde; ➔: túnica albugínea; ★: uretra peniana. As setas brancas (⇨) indicam a grande vascularização do corpo esponjoso. A linha tracejada indica o fino septo mediano entre os corpos cavernosos. Barra de escala: 0,2 cm.

O osso peniano, analisado por meio da técnica de diafanização, apresentou variações morfológicas entre as três espécies de *Leontopithecus* estudadas. Em *L. rosalia*, a base do osso estava localizada ainda no corpo do pênis, sendo larga e plana. À medida que se estendia em direção à extremidade distal da glânde, adquiria formato cônico, com o ápice curvado em sentido ventral. Em *L. chrysomelas*, o osso peniano apresentava uma base larga e plana, tornando-se progressivamente mais estreito em direção ao ápice. Além disso, exibia uma curvatura sobre si mesmo, conferindo-lhe a aparência de um saca-rolhas. Já em *L. chrysopygus*, o osso peniano estava restrito à porção mais distal da glânde, apresentando formato de trapézio invertido, com a base mais estreita e o ápice mais largo (Figura 19). O comprimento médio do osso peniano foi de  $0,900 \pm 0,1546$  cm em *L. rosalia*, correspondendo a 27,52% do comprimento total do pênis;  $1,287 \pm 0,0180$  cm em *L. chrysomelas*, representando 38,19% do pênis; e  $0,6687 \pm 0,0535$  cm em *L. chrysopygus*, equivalente a 21,43% do pênis. O comprimento do osso peniano foi estatisticamente diferente entre as três espécies ( $p < 0,0001$ ).



**Figura 19.** Fotomicrografia digital dos pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III) submetidos à técnica de diafanização, destacando o osso peniano em rosa. c: corpo do pênis; g: glânde do pênis. As setas fechadas (➡) indicam a base do osso peniano, enquanto as setas abertas (➔) apontam seu ápice. Barra de escala: 0,2 cm.

A glânde do pênis apresentou, em *L. rosalia*,  $0,23 \pm 0,02$  cm de comprimento médio e  $0,23 \pm 0,03$  cm de diâmetro médio; em *L. chrysomelas*,  $0,27 \pm 0,05$  cm de comprimento médio e  $0,31 \pm 0,06$  cm de diâmetro médio; e em *L. chrysopygus*,  $0,27 \pm 0,04$  cm de comprimento médio e  $0,28 \pm 0,04$  cm de diâmetro médio. Foi observada correlação entre o comprimento corporal e o comprimento da glânde do pênis em *L. chrysopygus* ( $r = 0,7648$ ,  $p = 0,0164$ ). Houve diferença no comprimento ( $p = 0,0328$ ) e no diâmetro ( $p = 0,0015$ ) da glânde do pênis entre as três espécies (Tabela 5).

**Tabela 5.** Média e desvio padrão (cm) do comprimento corporal, do comprimento da glândula do pênis e do diâmetro da glândula do pênis em *Leontopithecus* (n = 30). Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o comprimento corporal e o comprimento da glândula do pênis.

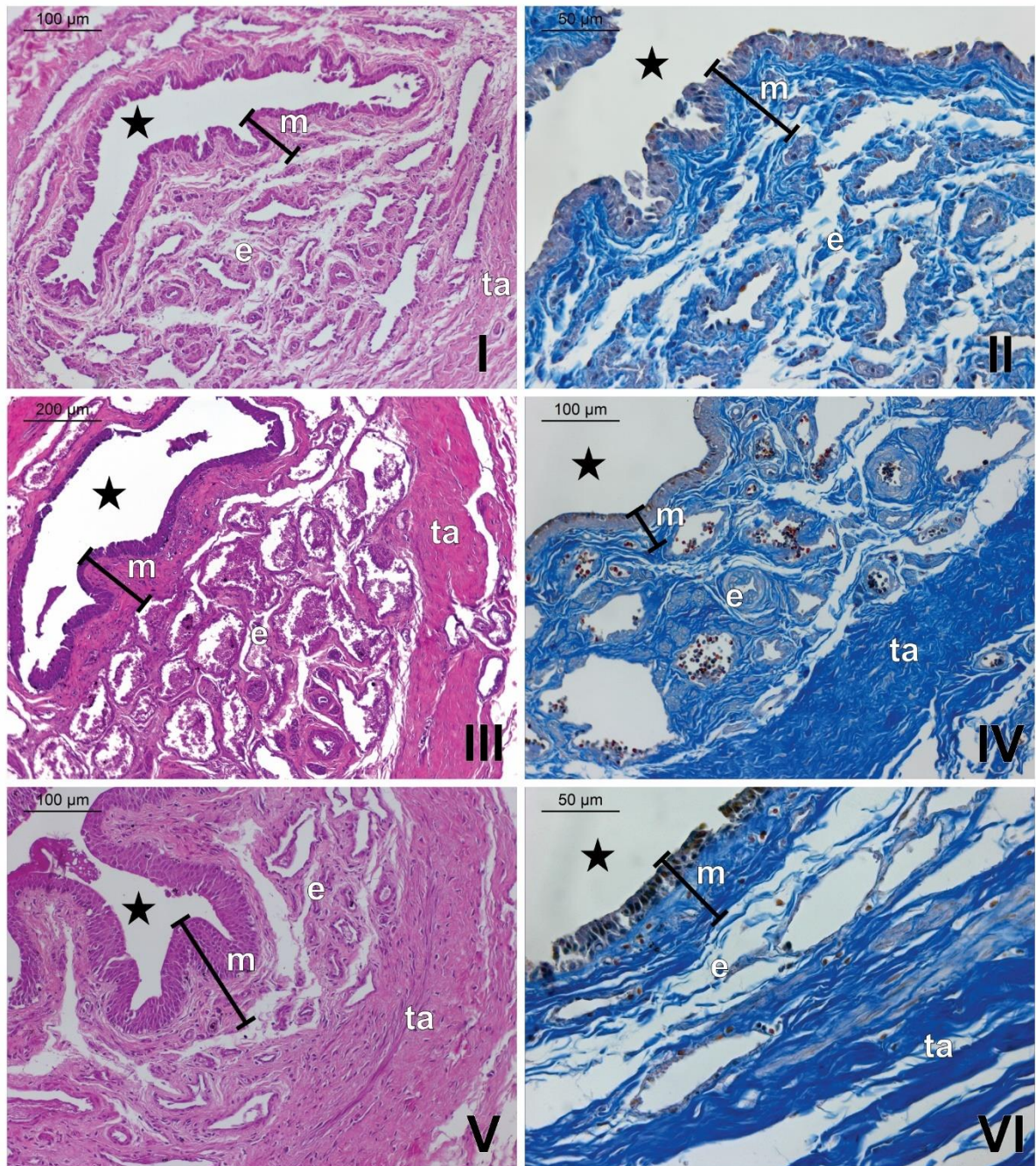
Espécie	Comprimento corporal	Glândula do pênis		r	p value
		Comprimento	Diâmetro		
<i>L. rosalia</i> (n=10)	22,60 ± 1,11 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,1327	0,6972
<i>L. chrysomelas</i> (n=10)	23,87 ± 1,77 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,06 <sup>a</sup>	-0,4754	0,1830
<i>L. chrysopygus</i> (n=10)	24,13 ± 211 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,04 <sup>ab</sup>	0,28 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,7648	0,0164*

\*significativamente diferente (p<0,05). Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente no nível 0,05.

## 5.2 Análise Microscópica

A uretra peniana apresentou-se pregueada e estendeu-se ao longo de todo o comprimento do pênis nas três espécies de *Leontopithecus* estudadas, sendo composta por uma mucosa formada por epitélio de revestimento, que repousava sobre uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo. Ela foi envolta, em toda a sua extensão, pelo corpo esponjoso, terminando na extremidade da glândula do pênis, onde se localizava o óstio uretral externo. O corpo esponjoso continha espaços vasculares revestidos por endotélio (Figura 20).





**Figura 20.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; ta: túnica albugínea; m: mucosa da uretra peniana; ★: uretra esponjosa. Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).

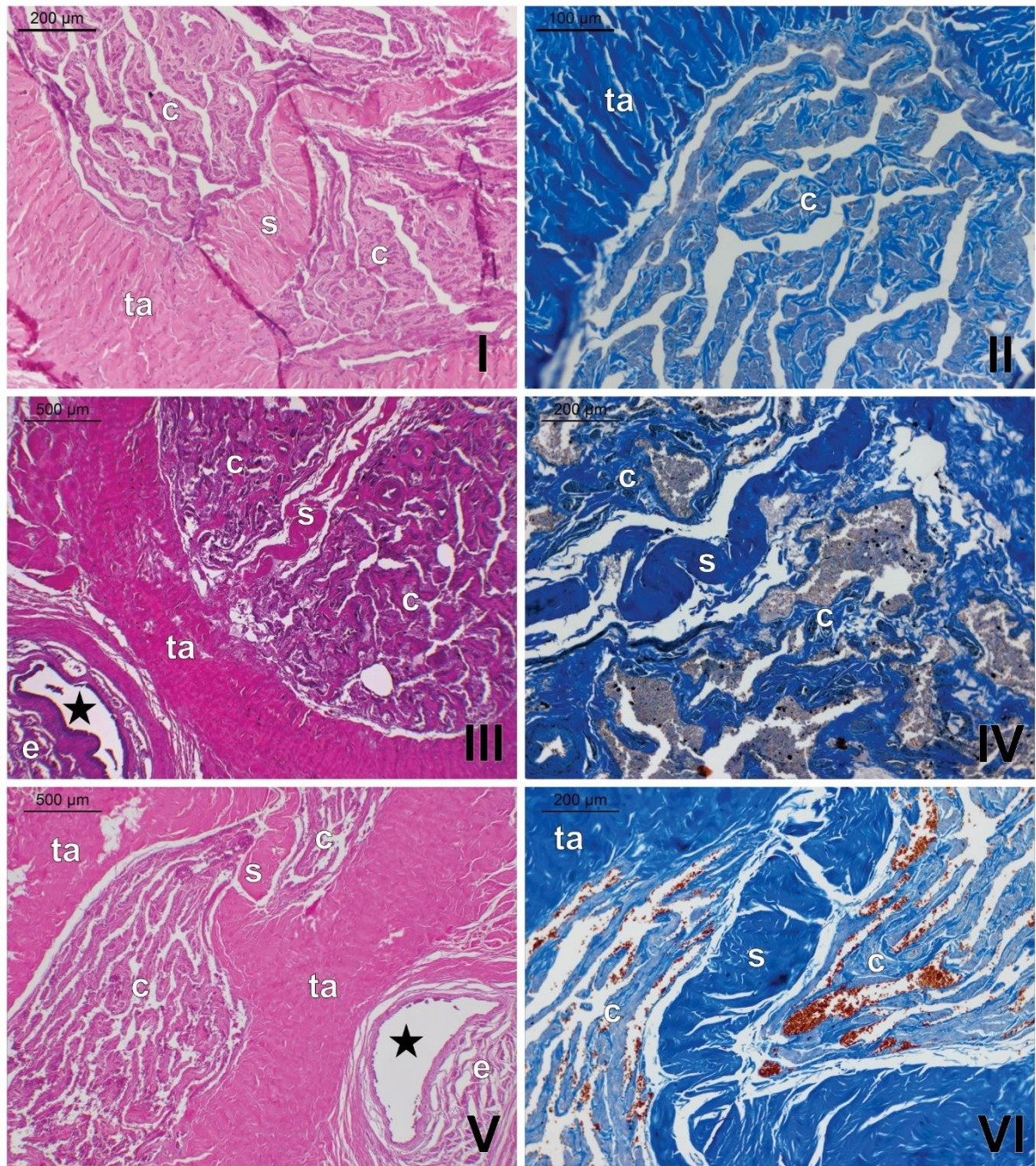
A análise da área da uretra nas três espécies de *Leontopithecus* revelou que os dados não seguem uma distribuição normal. A área média da uretra em *L. rosalia*



foi de  $0,0311 \pm 0,0194 \text{ mm}^2$ , em *L. chrysomelas* de  $0,0825 \pm 0,0398 \text{ mm}^2$ , e em *L. chrysopygus* de  $0,1077 \pm 0,1708 \text{ mm}^2$ . As comparações entre as espécies indicaram diferenças estatisticamente significativas entre *L. rosalia* e *L. chrysomelas* ( $p = 0,0002$ ), e entre *L. rosalia* e *L. chrysopygus* ( $p = 0,0072$ ).

### **5.2.1 Raiz do pênis**

Os dois corpos cavernosos das três espécies de *Leontopithecus* eram dorsais e continham fibras colagenosas espessas em diferentes orientações. Eles estavam envoltos por uma túnica albugínea de tecido conjuntivo denso não modelado, que formava um septo mediano espesso e contínuo, separando os dois corpos cavernosos (Figura 21).

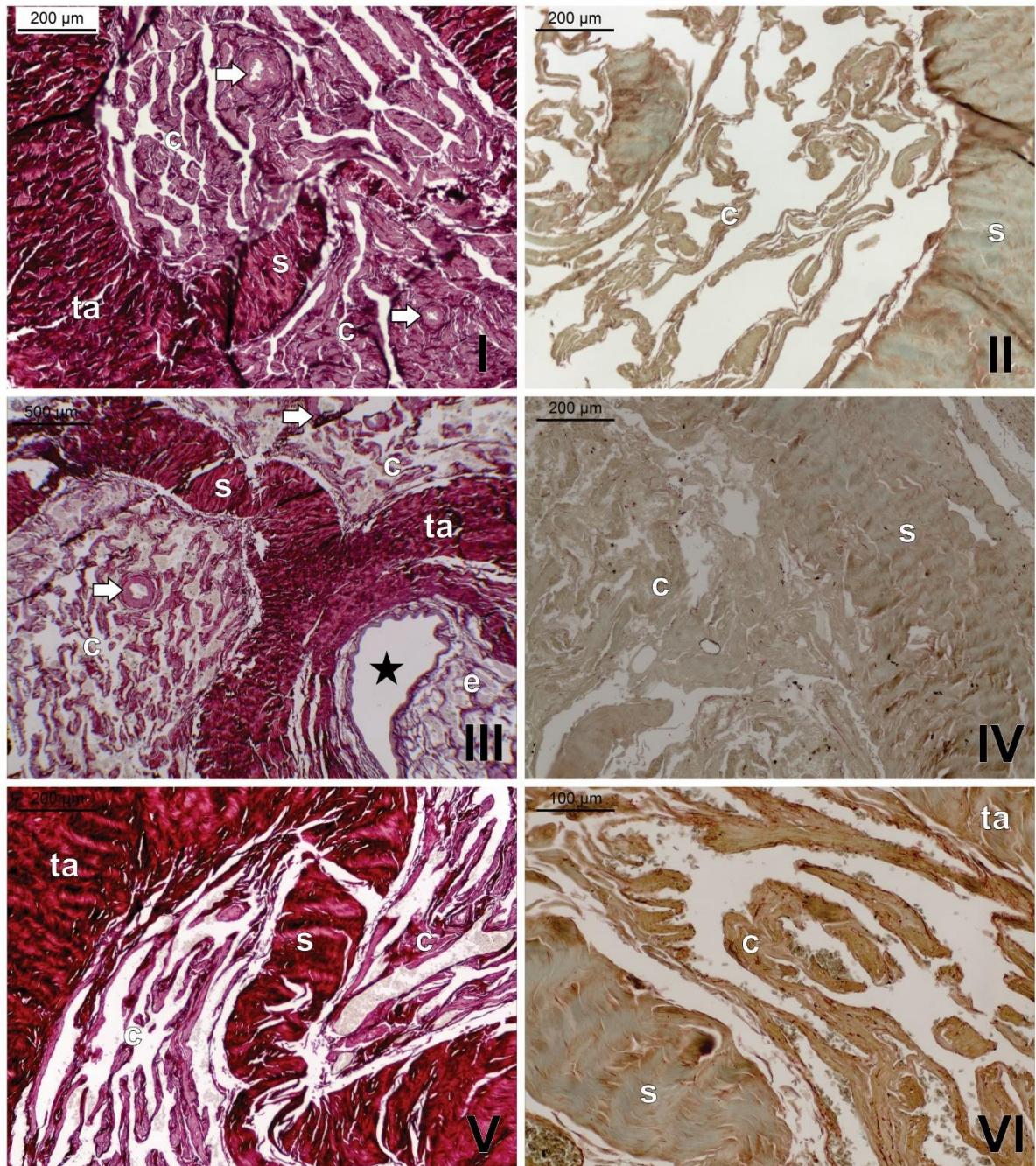


**Figura 21.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ★: uretra esponjosa. Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).

As fibras colagenosas da túnica albugínea estavam organizadas em duas camadas. A camada interna apresentou-se mais espessa nas três espécies de

*Leontopithecus* e seus feixes estavam dispostos circularmente em relação ao longo eixo do pênis, enquanto a camada externa era a mais fina e disposta longitudinalmente. A túnica albugínea apresentou fibras elásticas em menor quantidade, entremeadas nas fibras colagenosas. As trabéculas dos corpos cavernosos eram compostas por fibras colagenosas e elásticas. Em *L. rosalia* e *L. chrysomelas*, observou-se maior concentração de fibras elásticas no corpo esponjoso. Em *L. chrysopygus*, observou-se grande quantidade de fibras elásticas no corpo cavernoso e esponjoso, dispostas longitudinalmente (Figura 22).

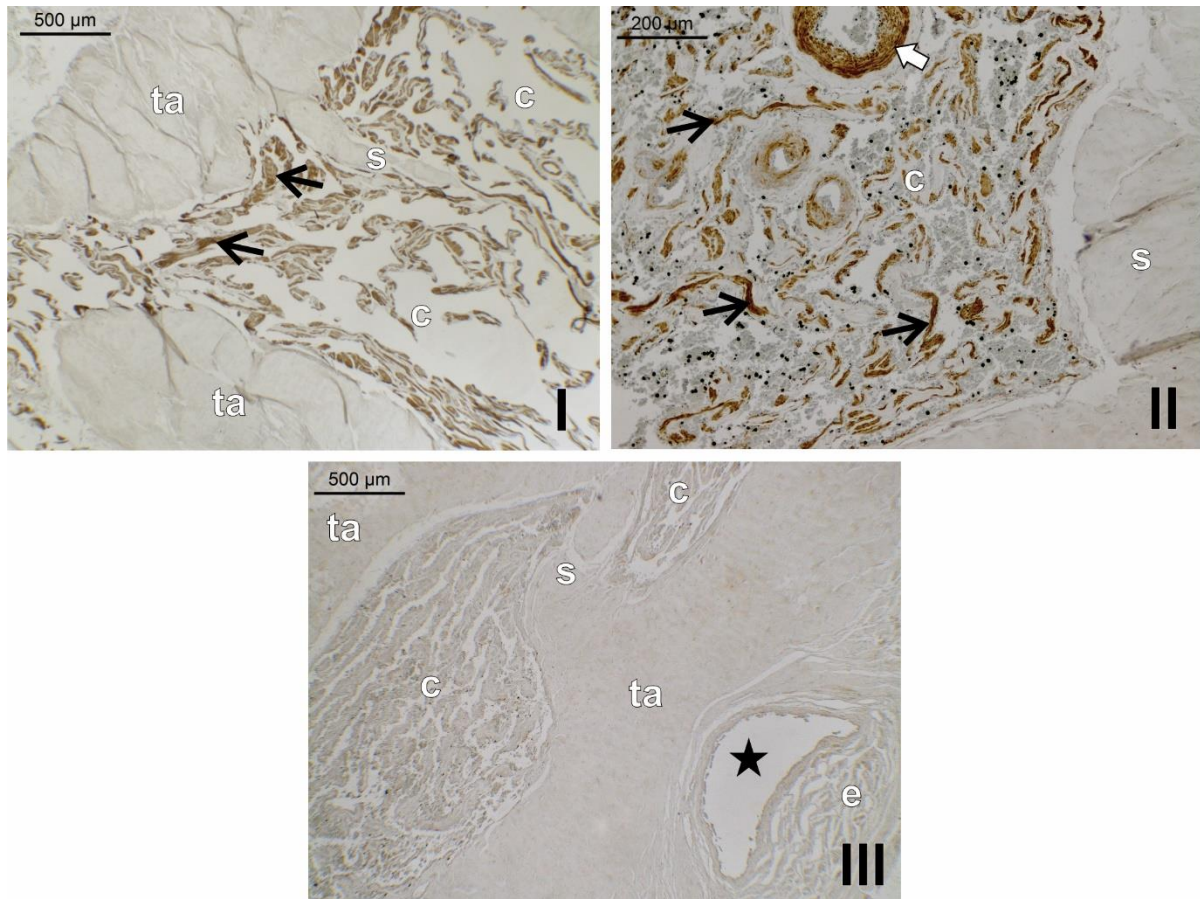




**Figura 22.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ⇨: artéria profunda do pênis; ★: uretra peniana. Coloração: Picrossírius red (I, III e V) e Orceína (II, IV e VI).



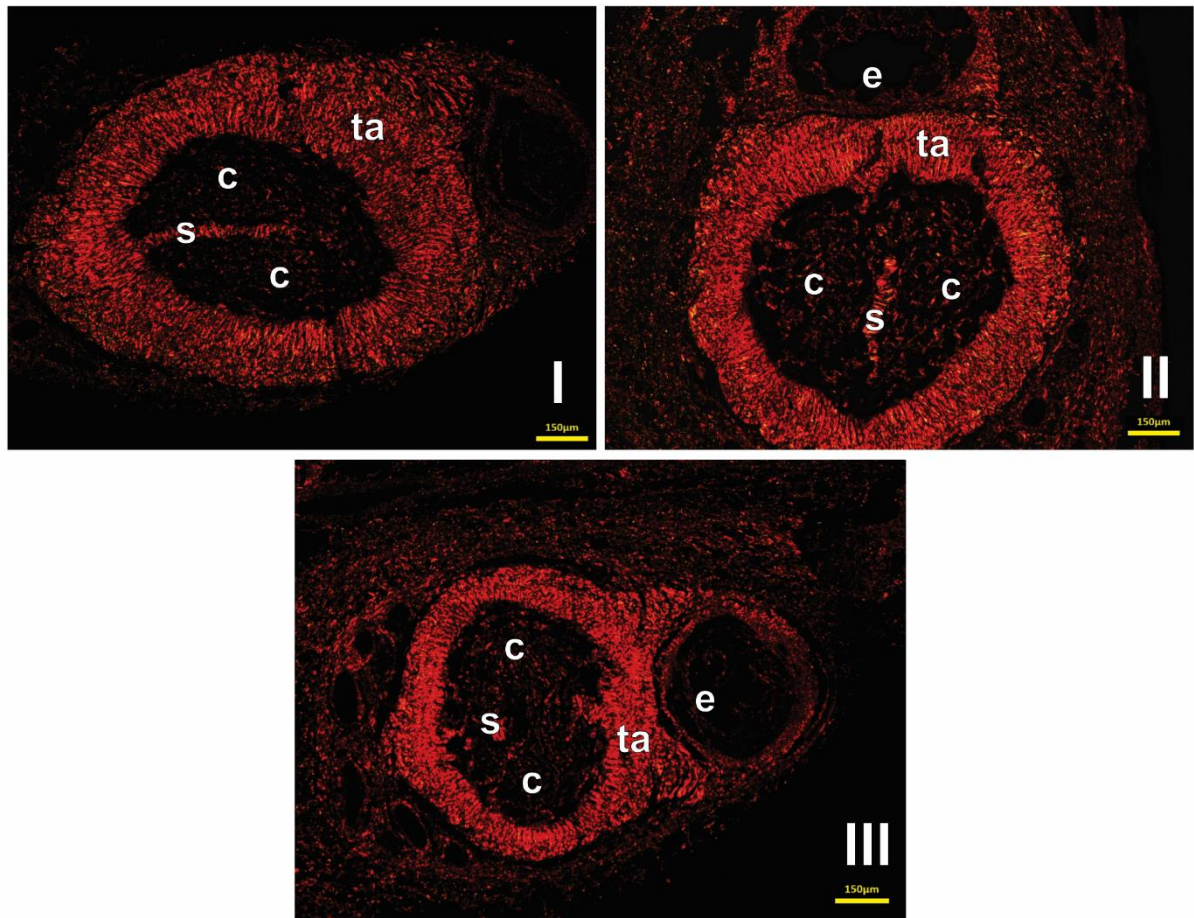
Os tecidos eréteis da raiz do pênis apresentaram quantidades variáveis de fibras musculares lisas. Em *L. rosalia* e *L. chrysomelas*, fibras musculares lisas estavam dispersas nos dois corpos cavernosos, sendo observados feixes mais espessos em *L. chrysomelas*. Em *L. chrysopygus*, não foram observadas fibras musculares lisas nos dois corpos cavernosos e no corpo esponjoso (Figura 23).



**Figura 23.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da raiz do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo esponjoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ★: uretra peniana; →: fibras musculares lisas. Em *L. chrysomelas* (II), observa-se as fibras musculares lisas na artéria profunda do pênis (⇨). Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.

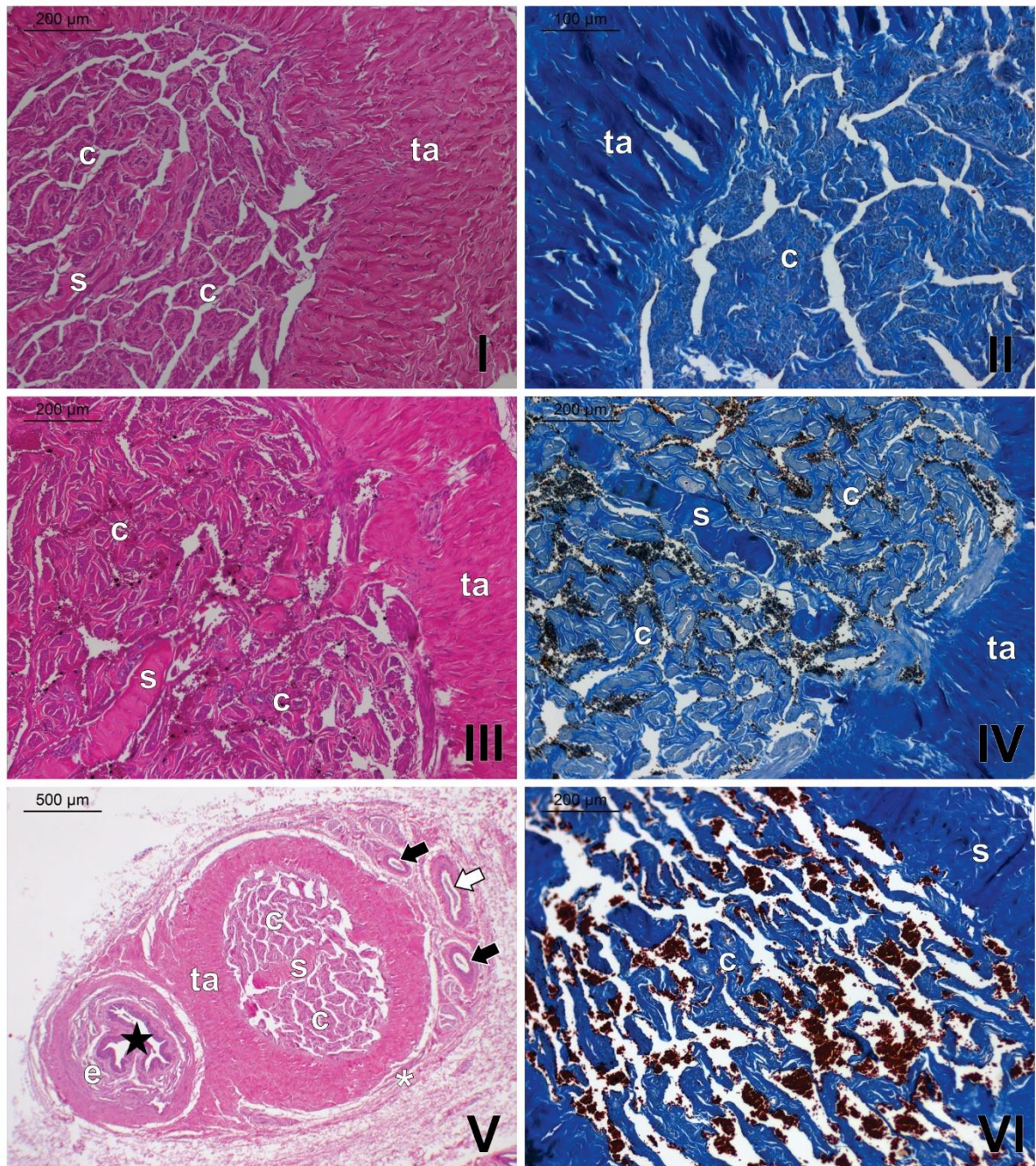
### 5.2.2 Corpo do pênis

Nas três espécies de *Leontopithecus* estudadas, os dois corpos cavernosos e o corpo esponjoso são envoltos pela túnica albugínea de tecido conjuntivo denso não modelado e rica em fibras de colágeno tipo I, como observado nos cortes com coloração por Picrossirius red em microscópio de luz polarizada (Figura 24), sendo mais espessa na porção que envolve os corpos cavernosos. A espessura média da túnica albugínea que envolve os corpos cavernosos em *L. rosalia* foi de  $0,3058 \pm 0,0570 \text{ mm}^2$ , em *L. chrysomelas* de  $0,3465 \pm 0,0379 \text{ mm}^2$  e em *L. chrysopygus* de  $0,3270 \pm 0,1075 \text{ mm}^2$ . Foi observada diferença estatística da espessura da túnica albugínea entre *L. rosalia* e *L. chrysomelas* ( $p= 0,0084$ ). Entre os dois corpos cavernosos, observou-se um delgado septo mediano de fibras de colágeno tipo I, descontínuo nas extremidades dorsal e ventral do corpo do pênis. Os corpos cavernosos apresentaram trabéculas com fibras de colágeno tipo I em diferentes orientações e seios vasculares menores, em comparação com a raiz do pênis (Figura 25).



**Figura 24.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; ta: túnica albugínea; s: septo mediano. Coloração: Picrossirius red com observação ao microscópio de luz polarizada.



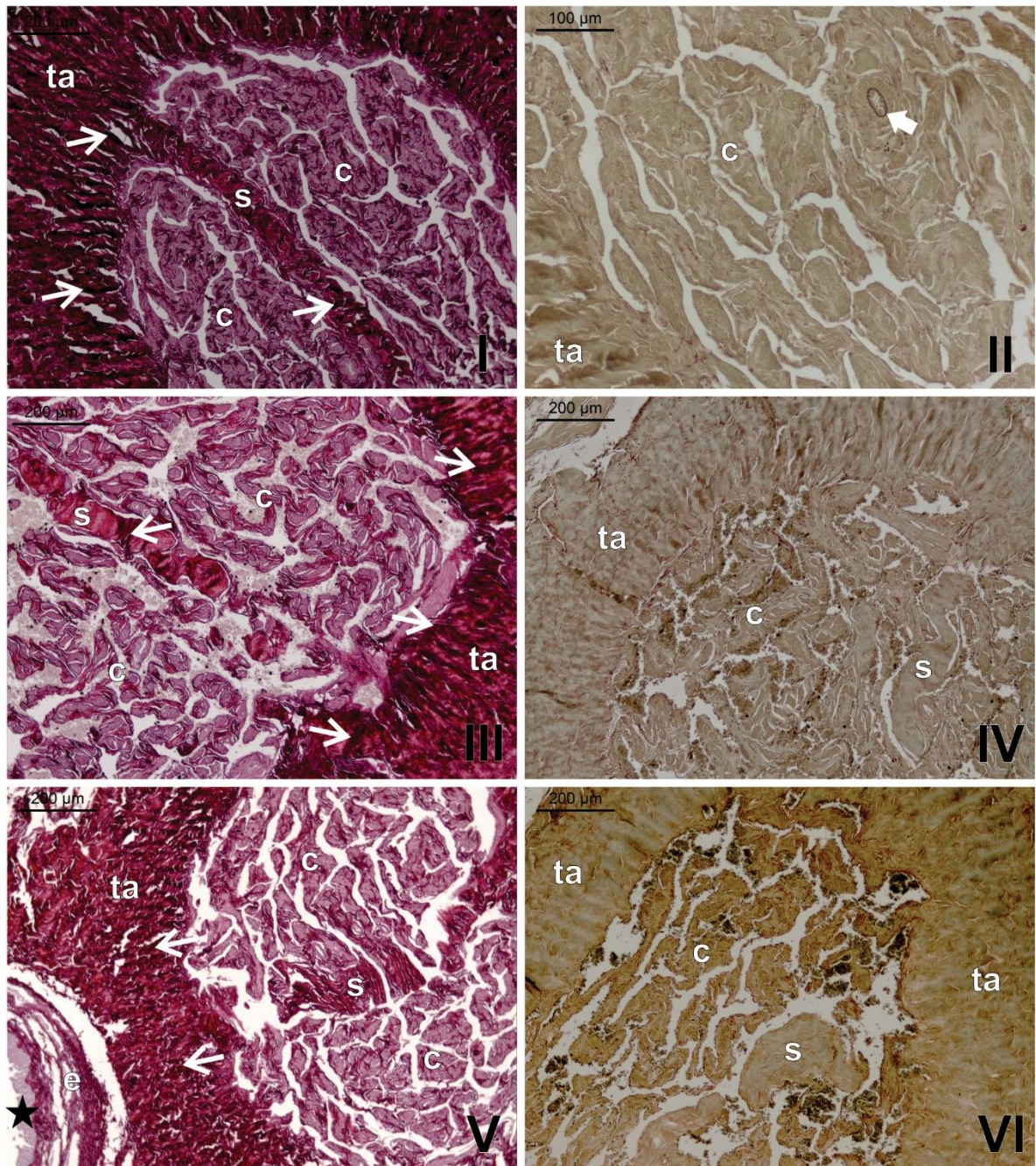


**Figura 25.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; ta: túnica albugínea; s: septo mediano; ★: uretra peniana. Em *Leontopithecus chrysopygus* (V), observa-se o tecido conjuntivo frouxo (\*), envolvendo a túnica albugínea, além da veia dorsal profunda (⇨), central às duas artérias dorsais (➡) inseridas no tecido conjuntivo. Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).



Na análise histomorfométrica, o corpo cavernoso apresentou uma área média de  $1,209 \pm 0,3312 \text{ mm}^2$  em *L. rosalia*,  $1,874 \pm 0,4395 \text{ mm}^2$  em *L. chrysomelas* e  $2,123 \pm 1,439 \text{ mm}^2$  em *L. chrysopygus*. Foi observada diferença estatística na área do corpo cavernoso entre *L. rosalia* e *L. chrysomelas* ( $p = 0,0001$ ), e entre *L. rosalia* e *L. chrysopygus* ( $p = 0,0180$ ). Quanto ao corpo esponjoso, a área média foi de  $0,3308 \pm 0,1262 \text{ mm}^2$  em *L. rosalia*,  $0,5956 \pm 0,1230 \text{ mm}^2$  em *L. chrysomelas* e  $0,4772 \pm 0,2544 \text{ mm}^2$  em *L. chrysopygus*. Observou-se diferença estatística significativa entre as três espécies de *Leontopithecus* analisadas. Em relação ao seio venoso, a área média foi de  $0,3742 \pm 0,3159 \text{ mm}^2$  em *L. rosalia*,  $0,3698 \pm 0,2148 \text{ mm}^2$  em *L. chrysomelas* e  $0,7185 \pm 0,6559 \text{ mm}^2$  em *L. chrysopygus*. Não foi observada diferença estatística na área do seio venoso entre as três espécies de *Leontopithecus*.

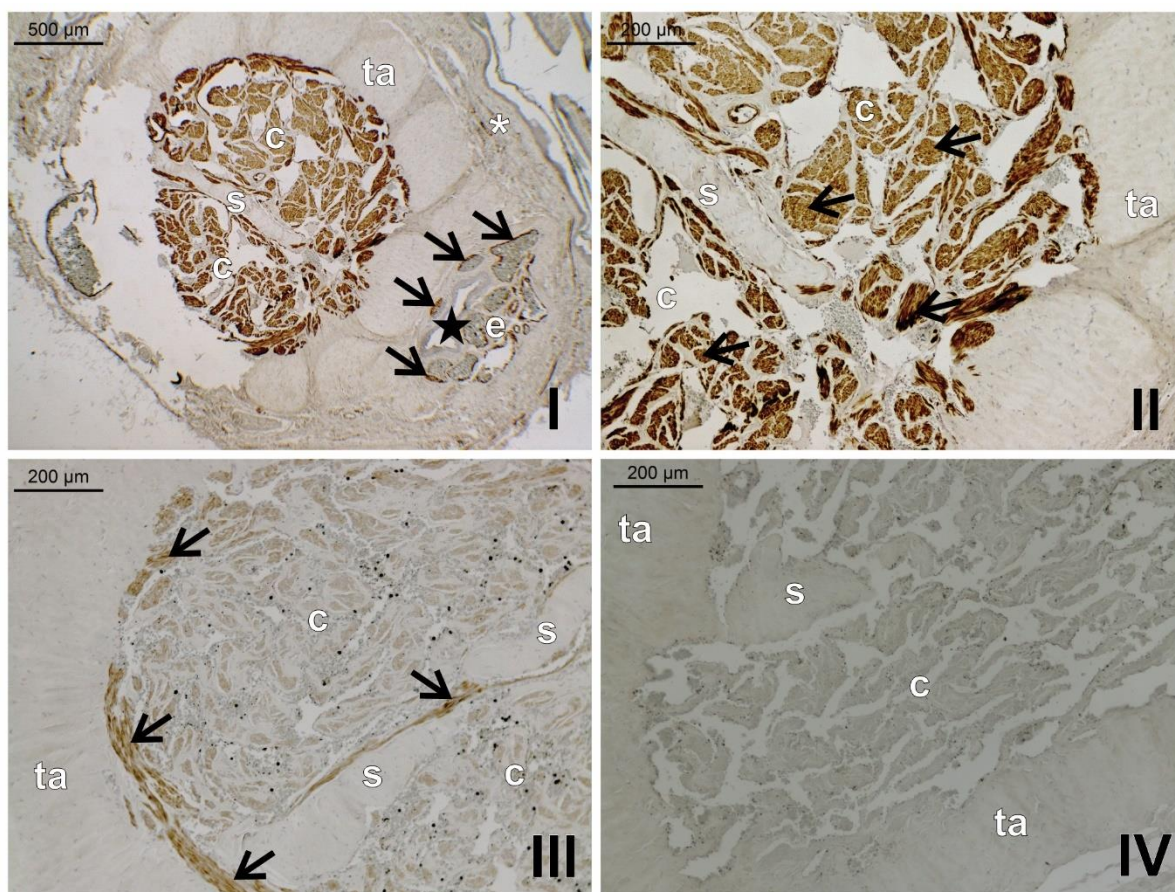
Nas espécies de *Leontopithecus* estudadas, foram observadas duas camadas dispostas em arranjos diferentes. A camada interna, a mais espessa, teve seus feixes dispostos circularmente em relação ao eixo longitudinal do pênis, enquanto a camada externa, mais fina, apresentava disposição longitudinal das fibras. Os corpos cavernosos exibiram maior concentração de fibras elásticas longitudinais em *L. chrysopygus*. Por outro lado, o corpo esponjoso apresentou maior concentração de fibras elásticas longitudinais em *L. chrysomelas* e *L. rosalia* (Figura 26).



**Figura 26.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). c: corpo cavernoso, e: corpo esponjoso, ta: túnica albugínea, s: septo mediano, ★: uretra peniana. Nas imagens (I, III e V), feixes espessos de fibras colagenosas (→) na túnica albugínea são evidenciados em vermelho intenso. Em *L. rosalia* (VI), observam-se as fibras elásticas (⇒) na artéria profunda do pênis. Coloração: Picrossírius red (I, III e V) e Orceína (II, IV e VI).



Os espaços vasculares do corpo cavernoso no pênis apresentaram quantidades variáveis de fibras musculares lisas nas espécies estudadas. Em *L. rosalia*, observou-se uma grande quantidade de fibras musculares lisas nos dois corpos cavernosos e no corpo esponjoso, com as fibras orientadas longitudinalmente ao longo do eixo do pênis. Em *L. chrysomelas*, as fibras musculares lisas foram observadas na periferia dos corpos cavernosos e em torno do septo mediano. Em *L. chrysopygus*, não foram observadas fibras musculares lisas nos espaços vasculares dos corpos cavernosos e esponjoso (Figura 27).

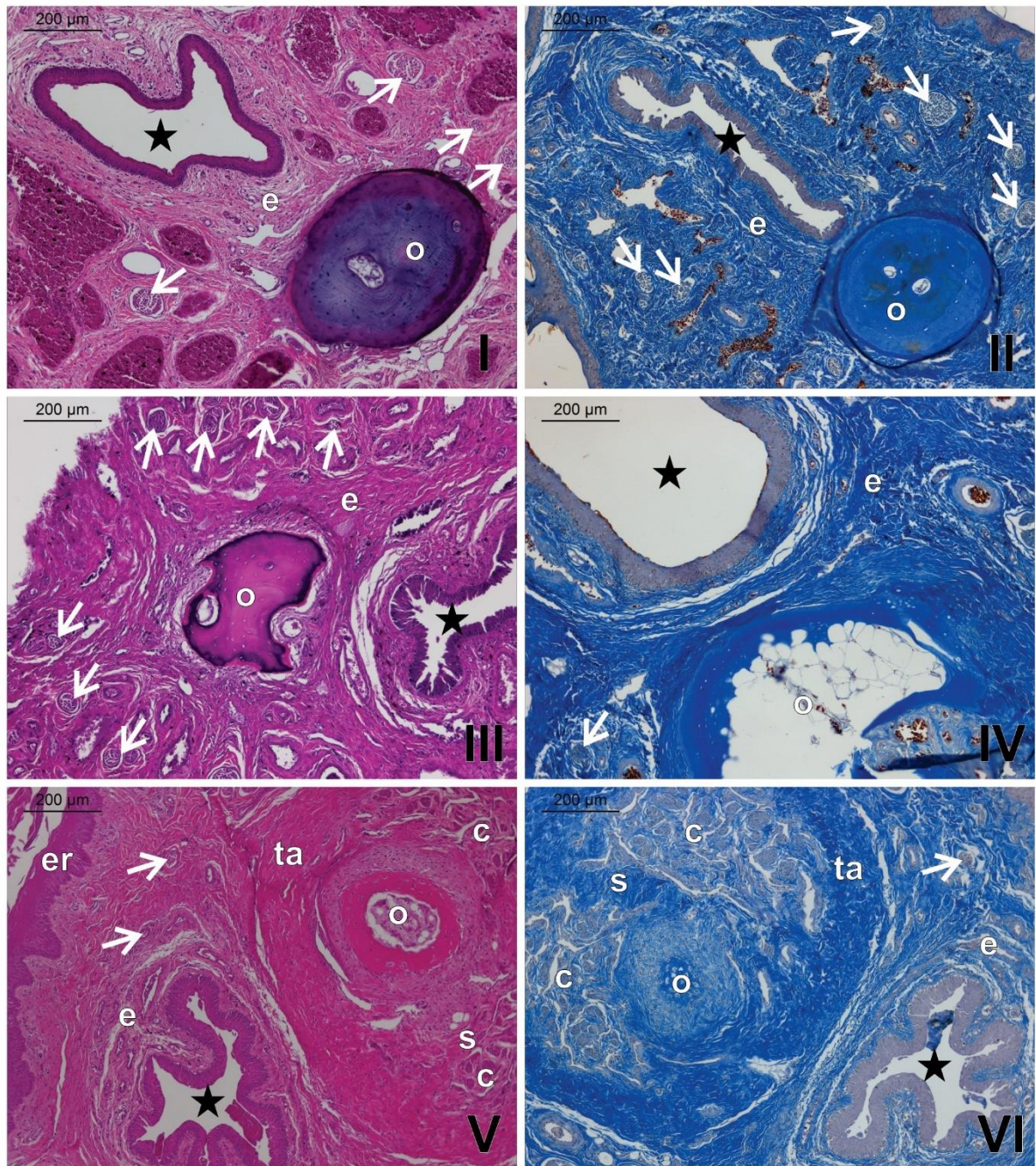


**Figura 27.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais do corpo do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III) e *L. chrysopygus* (IV). c: corpo cavernoso; e: corpo esponjoso; s: septo mediano; ta: túnica albugínea; ★: uretra peniana; →: fibras musculares lisas. Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.

### 5.2.3 Glande do pênis

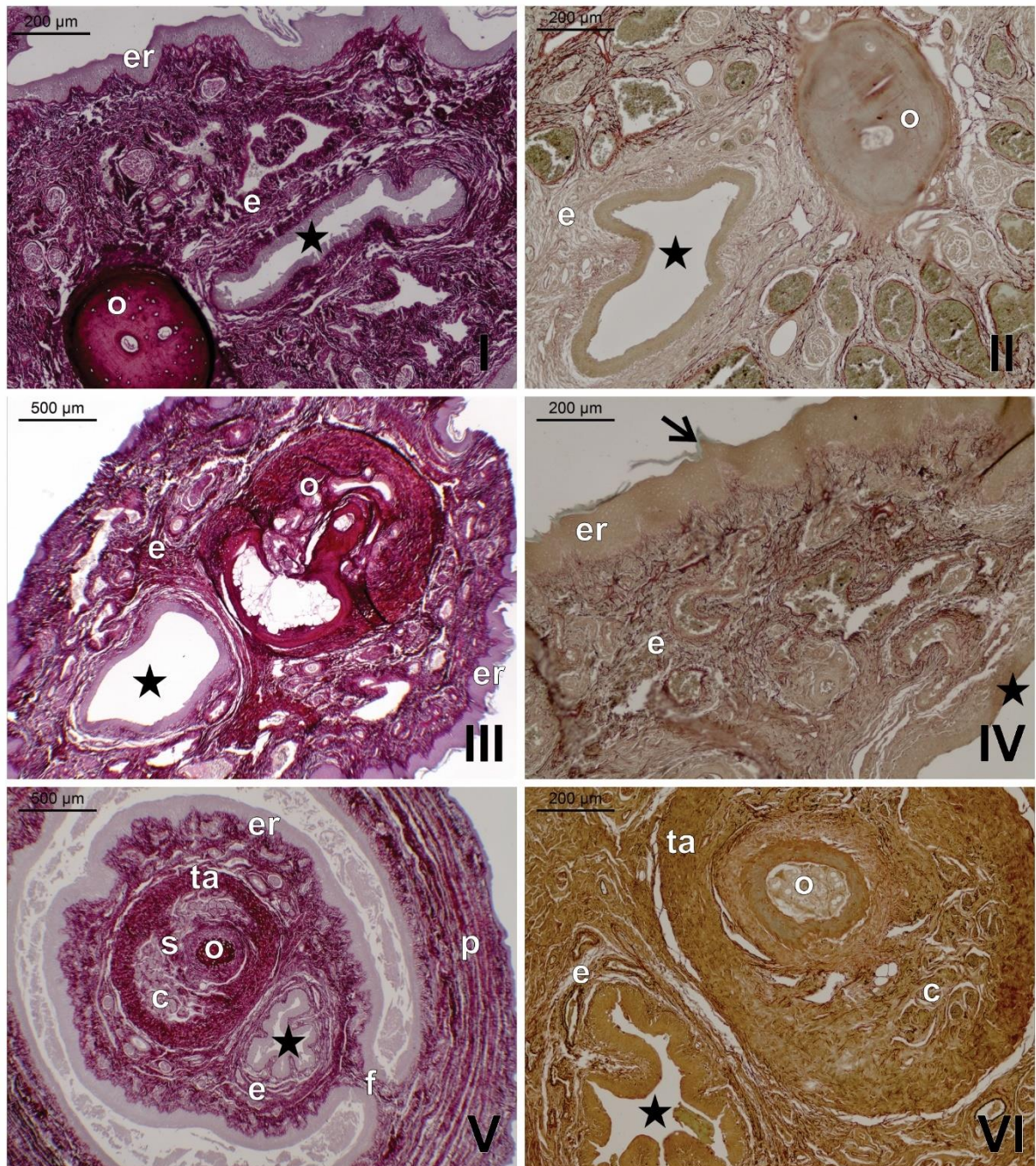
Em *L. rosalia* e *L. chrysomelas*, o corpo esponjoso predominou na glande. Em *L. chrysopygus*, a glande do pênis apresentou dois corpos cavernosos dorsais, separados pelo septo mediano originado da túnica albugínea que os circunda, com a uretra localizada ventralmente, envolta pelo corpo esponjoso. Nas três espécies estudadas, a glande foi revestida por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado (Figura 28). A região dorsal da glande do pênis apresentou um osso peniano em todas as três espécies de *Leontopithecus*, sendo centralizado em *L. rosalia* e *L. chrysomelas*, e localizado no corpo cavernoso à direita do septo mediano em *L. chrysopygus* (Figura 28). Sugere-se que não há resquício de ossificação intramembranosa e que a formação óssea observada é do tipo endoconjuntiva.. Foi observada uma grande concentração de fibras colagenosas e elásticas na glande do pênis dos micos-leões, com destaque para as fibras elásticas longitudinais em *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus* (Figura 29).





**Figura 28.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; c: corpo cavernoso; o: osso peniano; ta: túnica albugínea; er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); ★: uretra peniana. Corpo esponjoso da glândula do pênis apresentando nervos (→). Coloração: HE (I, III e V) e Tricrômico de Mallory (II, IV e VI).

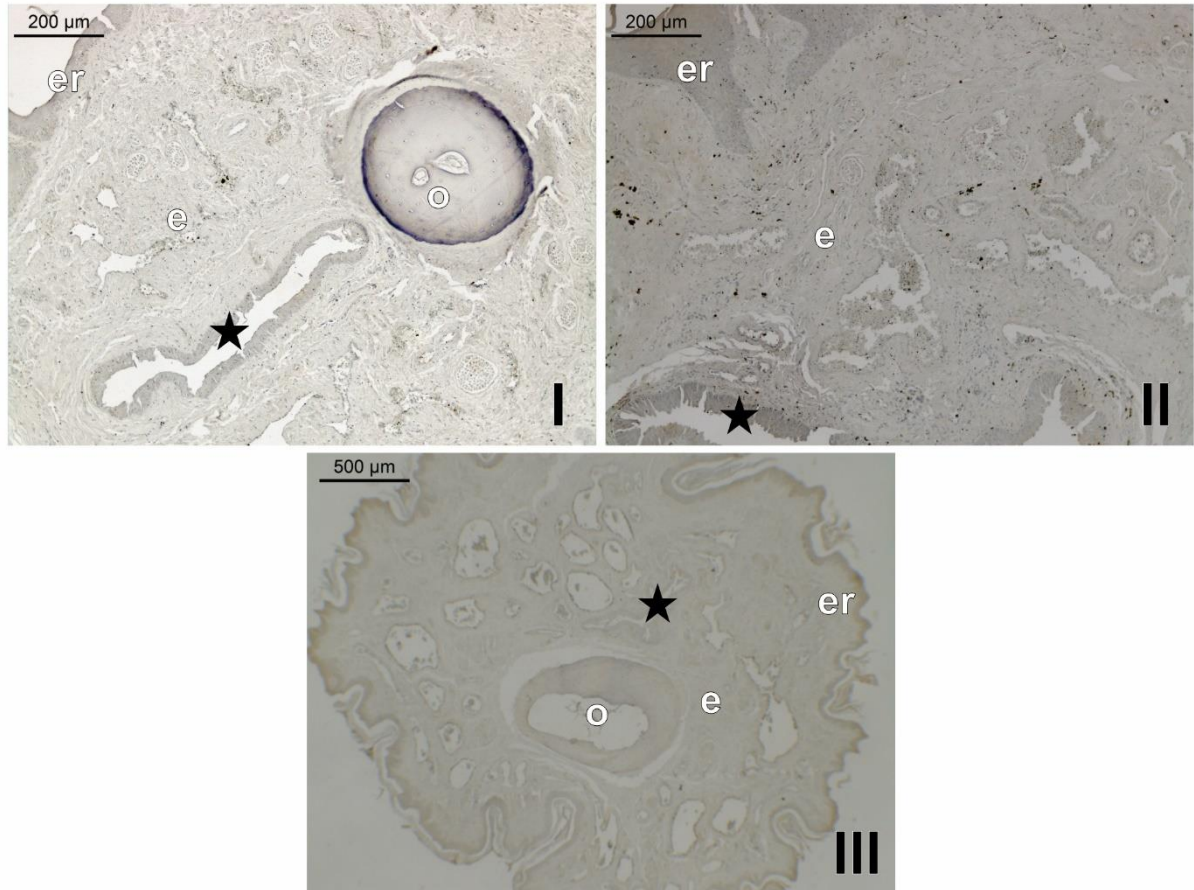




**Figura 29.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glânde do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; c: corpo cavernoso; o: osso peniano; ta: túnica albugínea; er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); ★: uretra peniana. Em *L. chrysomelas* (IV), observa-se a presença de uma espícula queratinizada (→) no epitélio de revestimento da glânde do pênis. Coloração: Picrossírius red (I, III e V) e Orceína (II, IV e VI).

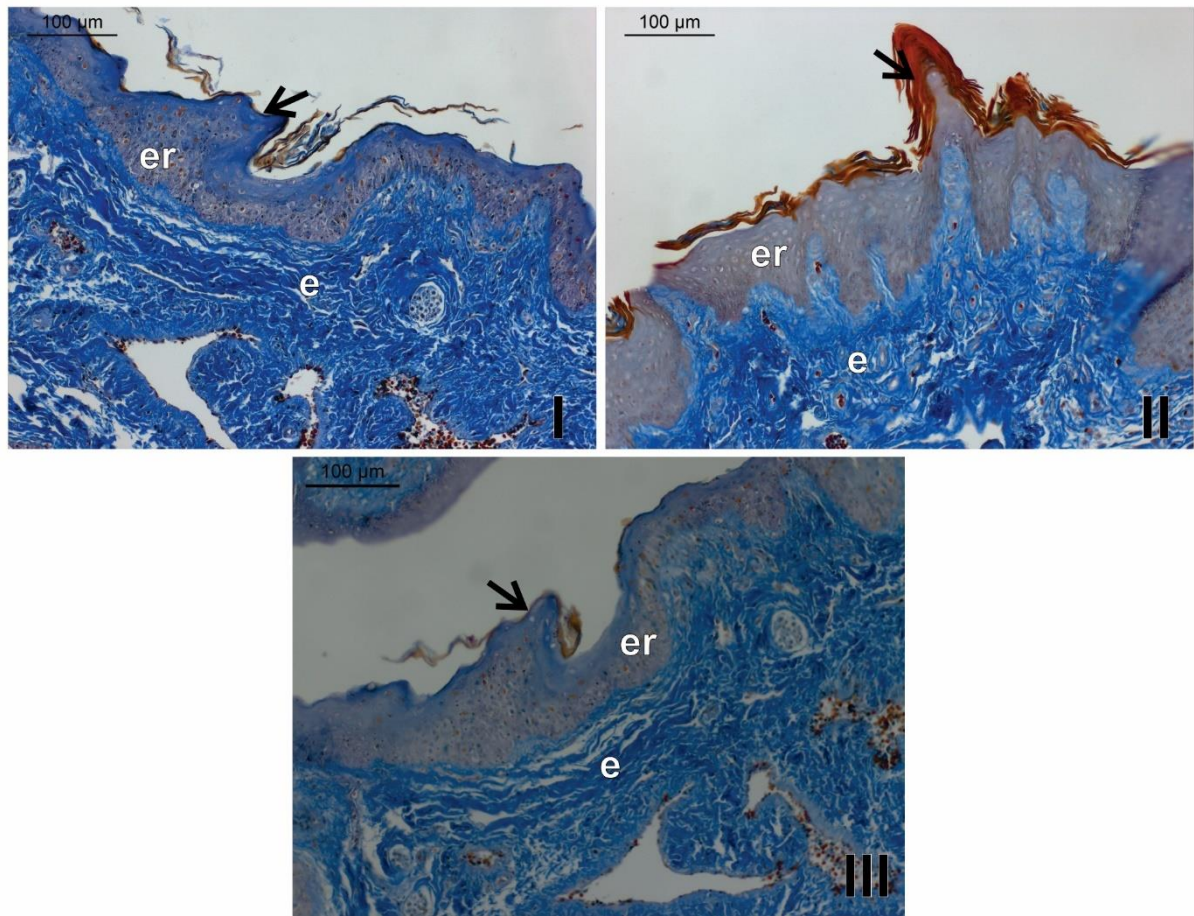


Na glânde do pênis das três espécies de *Leontopithecus* estudadas, não foram observadas fibras musculares lisas (Figura 30).



**Figura 30.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glânde do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). e: corpo esponjoso; o: osso peniano; er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); ★: uretra peniana. Reação imuno-histoquímica com anticorpo anti- $\alpha$ -actina de músculo liso.

O epitélio de revestimento da glânde do pênis das três espécies de micoss-leões originou projeções espinhosas queratinizadas, mais largas na base e estreitas no ápice, as espículas. Papilas dérmicas proeminentes foram observadas no epitélio de *L. chrysomelas* (Figura 31).

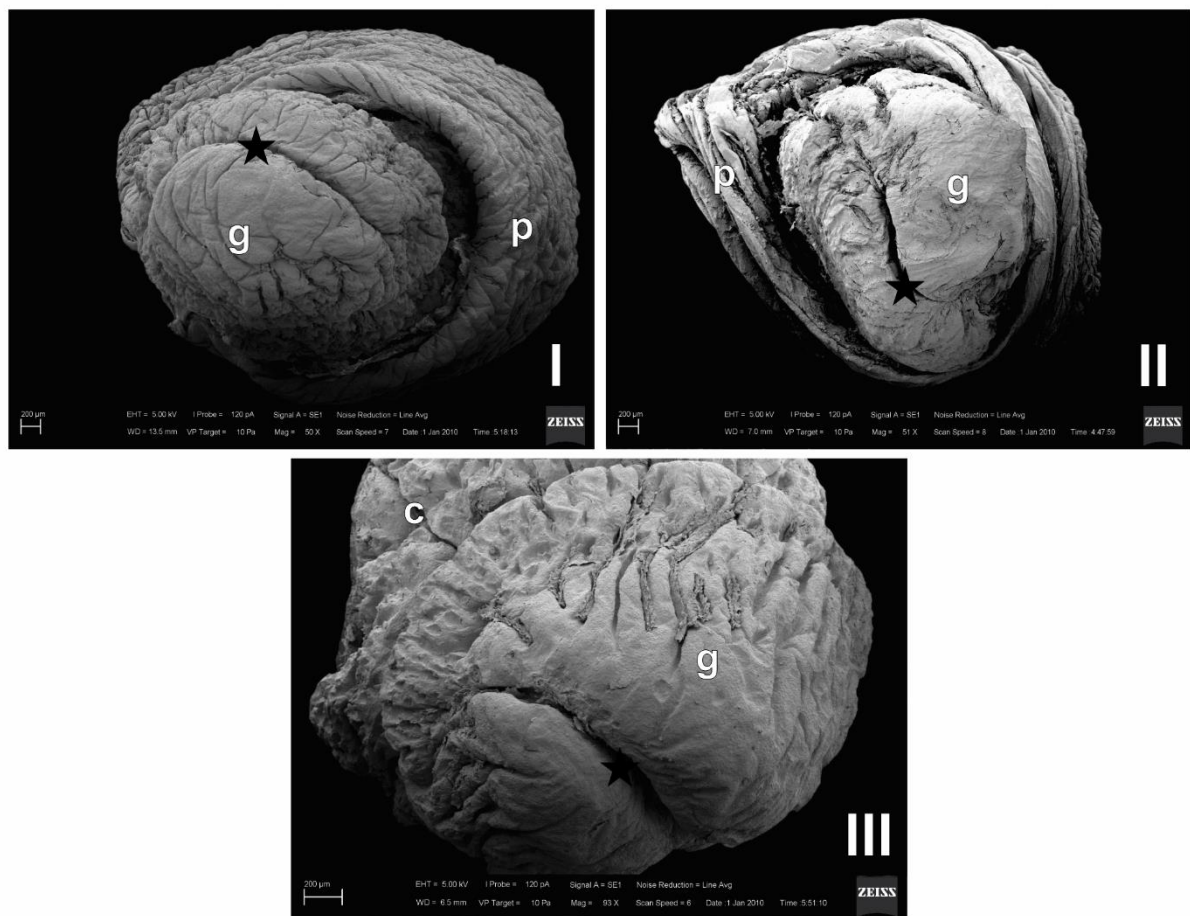


**Figura 31.** Fotomicrografias digitais de cortes transversais da glândula do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). Notar as espículas da glândula revestidas por queratina (→). er: epitélio de revestimento (epitélio estratificado pavimentoso queratinizado); e: corpo esponjoso. Coloração: Tricrômico de Mallory.

### 5.3 Análise da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

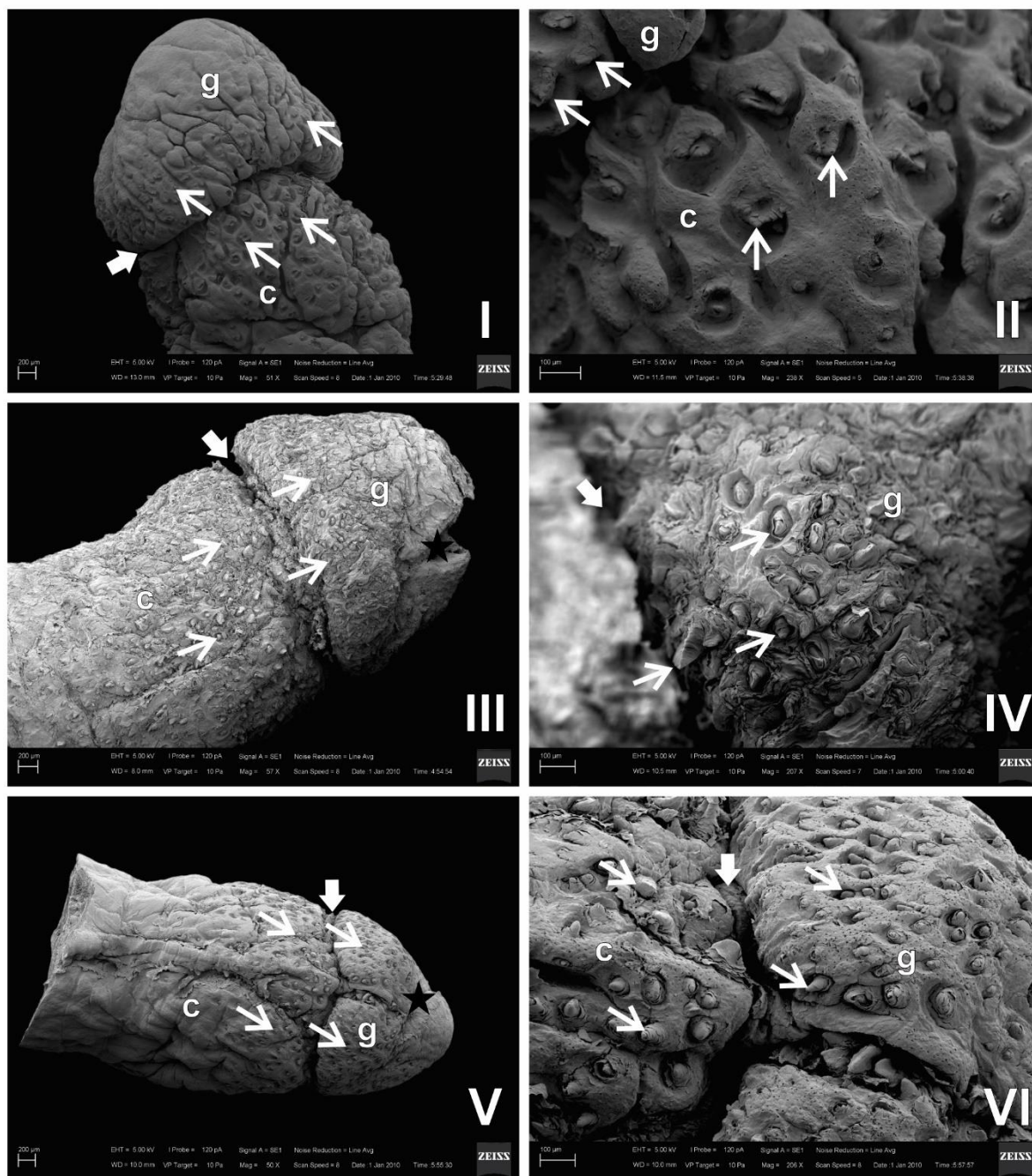
As análises de microestrutura da superfície da glândula do pênis, por meio da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), revelaram diferenças interespecíficas. As espículas apresentaram variações quanto à forma e ao tamanho nas três espécies analisadas. Todos os pênis apresentaram espículas voltadas para a região proximal, com a base mais larga que a ponta. Na extremidade distal da glândula das três espécies de *Leontopithecus* estudadas, o óstio uretral externo apresentou-se como uma fenda longitudinal assimétrica (Figura 32).





**Figura 32.** Eletromicrografia da superfície distal da glânde do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I), *L. chrysomelas* (II) e *L. chrysopygus* (III). g: glânde do pênis; p: prepúcio; c: corpo do pênis; ★: óstio uretral externo.

Nas três espécies de micos-leões, a glânde e a parte distal do corpo do pênis são cobertas por espículas, exceto na extremidade distal da glânde. As espículas eram curtas, possuem forma cônica, com uma única ponta e comprimento moderado (Figura 33). A glânde e a parte distal do corpo do pênis de *L. rosalia* apresentaram espinhos muito curtos em relação às outras duas espécies de micos-leões. As espículas possuíam formato de flecha no sentido horizontal, e a epiderme da glânde e do corpo do pênis apresentou uma depressão abaixo de cada espinho (Figura 33 V e VI). Em *L. chrysomelas*, as espículas apresentaram formato de meia-lua, e algumas estavam posicionadas a 90° em relação à epiderme (Figura 33 IV). As espículas eram compostas por várias camadas de material queratinizado, e a descamação das camadas mais externas foi evidente em alguns casos.



**Figura 33.** Eletromicrografia da superfície da glânde do pênis de *Leontopithecus rosalia* (I e II), *L. chrysomelas* (III e IV) e *L. chrysopygus* (V e VI). g: glânde do pênis; c: corpo do pênis; ★: óstio uretral externo. As setas abertas (→) indicam as espículas penianas. As setas cheias (⇒) indicam o colo da glânde do pênis.

## 6 DISCUSSÃO

O pênis em repouso das três espécies de *Leontopithecus* estudadas apresentou um corpo alongado, cilíndrico e pendular. A posição do pênis quiescente assemelhou-se à do homem (Netter, 2019; Tortora & Nielsen, 2019; Paulsen & Waschke, 2023; Dalley & Agur, 2024) e à de outros primatas não humanos, como *Macaca mulatta* Zimmermann, 1780 (Wislocki, 1933), *Chlorocebus aethiops* Linnaeus, 1758 (Lebelo, 2007), *Sapajus apella* Linnaeus, 1758 (Teixeira *et al.*, 2015), *Mico marcai* Alperin, 1993 (Siqueira *et al.*, 2018) e *Callibella humilis* Van Roosmalen, Mittermeier & Fonseca, 1998 (Vieira *et al.*, 2023).

O prepúcio cobriu grande parte do corpo do pênis das três espécies de micos-leões estudadas, expondo apenas uma pequena porção distal do corpo e a glândula no pênis não erétil, de forma semelhante ao que foi observado em *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015). Em *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023), o prepúcio recobriu parcialmente a glândula do pênis. Nos híbridos de *Brachyteles* sp. Spix, 1823 (Dixon *et al.*, 2004), o prepúcio cobriu completamente a glândula do pênis.

Na inserção dos pênis de *Leontopithecus*, foram observados dois músculos isquiocavernosos que encobriram os corpos cavernosos e um músculo bulboesponjoso mediano que sobrepôs o corpo esponjoso. Esse arranjo foi semelhante ao descrito em outras espécies de primatas não humanos (Wislocki, 1933; Dixon *et al.*, 2004; Dixon, 2012; Teixeira *et al.*, 2015; Siqueira *et al.*, 2018; Vieira *et al.*, 2023) e no homem (Netter, 2019; Tortora & Nielsen, 2019; Paulsen & Waschke, 2023; Dalley & Agur, 2024). No entanto, no gênero *Cercopithecus* Linnaeus, 1758 (Dixon, 2012), os músculos isquiocavernosos formaram uma massa mais compacta, circundando o períneo e a face lateral da base peniana. Em *Callithrix jacchus* Linnaeus, 1758 e *Pongo pygmaeus* Linnaeus, 1760 (Dixon, 2012), o músculo bulboesponjoso situou-se mais proximalmente, circundando o bulbo peniano.

Os movimentos dos músculos isquiocavernosos são importantes para causar movimentos reflexivos do tipo *flip*, que auxiliam no enrijecimento do órgão, possibilitando a intromissão na fêmea (Martini *et al.*, 2009; Dixon, 2012). Já o músculo bulboesponjoso, que se sobrepôs ao corpo esponjoso na base do pênis, ao contrair-se, propela o sêmen na direção do óstio uretral externo e provoca uma resposta de alargamento na glândula do pênis. Isso ocorre porque, no homem, em

muitos primatas não humanos e no rato, o corpo esponjoso fornece o componente erétil da glândula (Martini *et al.*, 2009; Dixon, 2012). Essa resposta reflexiva ocorre durante a intromissão e possui duas funções: em primeiro lugar, durante as intromissões não ejaculatórias, a glândula do pênis ajuda a desalojar os plugues de acasalamentos anteriores; e, em segundo lugar, durante a imissão final e ejaculatória, a glândula funciona para compactar e selar o tampão copulador do próprio macho contra o colo do útero da fêmea (Dixon, 2012). Em *Mandrillus sphinx* Linnaeus, 1758, e *Miopithecus talapoin* Schreber, 1774 (Dixon, 2012), a glândula pulsou rapidamente durante a ejaculação como resultado das contrações do músculo bulboesponjoso.

Wislocki (1933) relatou que, no *M. mulata*, existia um músculo levantador do pênis que se originava do ísquio, medial aos músculos isquiocavernosos, com a função de elevar e retornar à posição quiescente a extremidade pendular do pênis. Este músculo não foi observado nas espécies de *Leontopithecus* estudadas.

O comprimento total médio do pênis em *L. rosalia* foi de  $3,27 \pm 0,43$  cm, em *L. chrysomelas* foi de  $3,37 \pm 0,50$  cm e em *L. chrysopygus* foi de  $3,12 \pm 0,53$  cm. Dados morfométricos também foram obtidos de *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018), com comprimento total médio do pênis de 2,472 cm, e de *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023), com 1,616 cm. O comprimento total médio do pênis de *L. rosalia* representou 14,48% do comprimento corporal, de *L. chrysomelas* 14,12% e de *L. chrysopygus* 12,88%. Esse valor esteve em concordância com o observado por Pissinatti *et al.* (2008), que relataram que a vagina era longa em *Leontopithecus*, assim como em outros calitríquidos, devido ao fato de o útero estar posicionado na cavidade abdominal.

Das três espécies de *Leontopithecus* estudadas, observou-se alometria entre o comprimento total do pênis e o tamanho corporal em *L. chrysopygus*. Em homens, também foi observada uma correlação positiva e fraca entre o comprimento do pênis flácido e o tamanho corporal (Soylemez *et al.*, 2012). Essas observações corroboram as conclusões de Dixon (2012), de que o pênis relativamente mais longo de *Callimico* Miranda Ribeiro, 1912, e *Leontopithecus* pode ter sido influenciado pela propensão das fêmeas a acasalar com mais de um parceiro (poliandria), apesar de os machos da família Callitrichidae geralmente apresentarem um pênis pequeno e relativamente pouco especializado, devido à monogamia. Em *Pan troglodytes* Blumenbach, 1775

(Dixson & Mundy, 1994), não foi observada correlação entre o comprimento do pênis e o sucesso reprodutivo em machos adultos.

A evolução de pênis longos e morfologias penianas distais complexas em membros de alguns sistemas de acasalamento de primatas não gregários ou multimacho-multifêmea pode ser atribuída a duas causas principais, segundo Dixson (2012). Em primeiro lugar, os machos tentam deslocar o esperma dos concorrentes. Em segundo lugar, os machos podem tentar 'encorajar' a fêmea a utilizar seus espermatozoides, estimulando a captação e o transporte dos espermatozoides dentro do trato feminino. Neste último caso, o pênis funciona como um 'dispositivo interno de cortejo' (Emberhard, 1985 *apud* Dixson, 2012).

Quanto às mensurações das porções do pênis, foram observadas variações entre as espécies de micos-leões. Na raiz do pênis, *L. rosalia* apresentou comprimento médio de  $0,78 \pm 0,17$  cm e diâmetro de  $0,64 \pm 0,29$  cm; *L. chrysomelas*,  $0,90 \pm 0,16$  cm de comprimento médio e  $0,63 \pm 0,24$  cm de diâmetro; e *L. chrysopygus* com  $0,72 \pm 0,18$  cm de comprimento médio e  $0,45 \pm 0,10$  cm de diâmetro. No corpo do pênis, *L. rosalia* apresentou  $2,01 \pm 0,41$  cm de comprimento médio e  $0,30 \pm 0,05$  cm de diâmetro; *L. chrysomelas* com  $2,20 \pm 0,42$  cm de comprimento médio e  $0,33 \pm 0,10$  cm de diâmetro; e *L. chrysopygus* com  $2,44 \pm 0,41$  cm de comprimento médio e  $0,24 \pm 0,06$  cm de diâmetro. Já a glândula do pênis apresentou  $0,23 \pm 0,02$  cm de comprimento médio e  $0,23 \pm 0,03$  cm de diâmetro em *L. rosalia*,  $0,27 \pm 0,05$  cm de comprimento médio e  $0,31 \pm 0,06$  cm de diâmetro em *L. chrysomelas*; e  $0,27 \pm 0,04$  cm de comprimento médio e  $0,28 \pm 0,04$  cm de diâmetro em *L. chrysopygus*. Essas mensurações das porções penianas também foram descritas para outros calitriquídeos. Em *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018), a raiz apresentou comprimento médio de  $0,807 \pm 0,1331$  cm e diâmetro de  $0,5376 \pm 0,0773$  cm, o corpo teve comprimento médio de  $0,923 \pm 0,0907$  cm e diâmetro de  $0,3497 \pm 0,0433$  cm, e a glândula apresentou comprimento médio de  $0,7420 \pm 0,0867$  cm e diâmetro de  $0,3161 \pm 0,0381$  cm. Em *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023), a raiz apresentou comprimento médio de  $0,4390 \pm 0,0914$  cm; o corpo teve comprimento de  $0,7990 \pm 0,1528$  cm e diâmetro de  $0,2517 \pm 0,0552$  cm; e a glândula teve comprimento de  $0,3787 \pm 0,0582$  cm e diâmetro de  $0,2327 \pm 0,0619$  cm.

Na raiz e no corpo do pênis das três espécies de *Leontopithecus* estudadas, foram observados os dois corpos cavernosos dorsais, envoltos por uma túnica albugínea espessa e separados por um septo mediano. O septo mediano foi espesso e completo na raiz, mas delgado e incompleto no corpo do pênis de *Leontopithecus*. Os pares de corpos cavernosos na raiz e no corpo do pênis também foram observados separados pelo septo mediano no homem (Tortora & Nielsen, 2019; Dalley & Agur, 2024), em híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixon *et al.*, 2004) e em *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023). Em *M. mulata* (Wislocki, 1933), *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015) e *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018), os corpos cavernosos da raiz do pênis foram separados pelo septo mediano, mas ao longo do corpo, esse septo foi perdido e um único corpo cavernoso foi visualizado. Já no gênero *Pan* Oken, 1816 (Cold & McGrath, 1999) e em *M. mulata* (Abidu-Figueiredo *et al.*, 2025), observou-se apenas um único corpo cavernoso dorsal.

A túnica albugínea que circundava os corpos cavernosos nas espécies de *Leontopithecus* estudadas era espessa, formada por tecido conjuntivo denso não modelado, com numerosas fibras de colágeno tipo I e uma menor quantidade de fibras elásticas, e originava o septo mediano, composto pelo mesmo tipo de tecido. O mesmo arranjo foi observado nos pênis de fetos humanos (Bastos *et al.*, 1999), *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015), *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023). Em *M. mulata* (Abidu-Figueiredo *et al.*, 2025) o único corpo cavernoso também se apresentou envolto por uma túnica albugínea composta principalmente por colágeno tipo I, sendo mais espessa na região dorsal.

Nas espécies de *Leontopithecus* estudadas, foram observadas na túnica albugínea duas camadas de fibras de colágeno tipo I dispostas em arranjos diferentes. A camada interna foi a mais espessa, com seus feixes organizados circularmente em relação ao longo eixo do pênis, enquanto a camada externa, mais fina, estava disposta longitudinalmente. Esse mesmo arranjo em duas camadas e a disposição das fibras foram observados no pênis do homem (Raviv *et al.*, 1997a), em fetos humanos (Bastos *et al.*, 1999) e em *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018).

As fibras de colágeno tipo I possuem alta resistência à tração, e as diferentes quantidades dos vários tipos, combinadas com quantidades variáveis de outros componentes da matriz extracelular, conferem propriedades mecânicas

características aos tecidos (Raviv et al., 1997b). A abundância de fibras de colágeno tipo I na túnica albugínea e, em menor concentração, nos corpos cavernosos, atuam como um 'esqueleto' de sustentação durante a ereção do pênis, quando ocorre o relaxamento do músculo liso vascular, o aumento do fluxo sanguíneo nos seios vasculares e a consequente elevação da pressão corporal, mantendo a integridade do órgão (Raviv et al., 1997a, b; Bastos et al., 1999).

Fibras elásticas longitudinais foram observadas juntamente com as fibras de colágeno tipo I nos corpos cavernosos e no corpo esponjoso da raiz e do corpo do pênis em todas as três espécies de *Leontopithecus*. Em *L. rosalia* e *L. chrysomelas*, a maior concentração de fibras elásticas foi no corpo esponjoso, enquanto em *L. chrysopygus*, foi observada uma maior concentração de fibras elásticas nos corpos cavernosos. As fibras elásticas estão presentes em grande quantidade nos tecidos sujeitos à resistência e tração. A elastina é caracterizada por seu alto grau de elasticidade, incluindo a capacidade de se deformar em grandes extensões com pequenas forças (Kreis & Vale, 1999). Essas fibras se misturam e estão ligadas às fibras do feixe de colágeno, sendo que os dois elementos (colágeno e elastina) se combinam para formar estruturas-chave nos tecidos complacentes. As fibras elásticas desempenham a função de alongar os feixes de colágeno durante a ereção, além de auxiliarem no retorno do colágeno à sua posição original após a tumescência (Sattar et al., 1994).

No corpo cavernoso, foram observadas fibras musculares lisas dispersas na raiz do pênis de *L. rosalia* e *L. chrysomelas*. O corpo do pênis de *L. rosalia* apresentou uma quantidade abundante de fibras, enquanto em *L. chrysomelas*, as fibras estavam dispostas na periferia dos corpos cavernosos. Em *L. chrysopygus*, não foram observadas fibras musculares lisas na raiz e no corpo do pênis. A ausência de fibras musculares lisas em *L. chrysopygus* e a variação na disposição das fibras em *L. rosalia* e *L. chrysomelas* podem ter sido influenciadas pelo intervalo entre o óbito e a fixação dos espécimes, que foi variável, além do longo tempo de fixação ao qual os animais foram expostos previamente. Em *M. mulata* (Abidu-Figueiredo et al., 2025), o corpo cavernoso mostrou predominância de fibras musculares lisas (49%) sobre fibras colágenas (38%) e fibras do sistema elástico (13%).



As fibras musculares lisas nos corpos cavernosos representam a principal base estrutural para o relaxamento e ereção peniana, sendo a ereção dependente da complacência dos espaços sinusoides, que resulta do relaxamento dessas fibras (Wespes *et al.*, 1991; Sampaio *et al.*, 1998). Assim, quanto menor a porcentagem de músculo liso cavernoso, maior a taxa de fluxo sanguíneo para manter a ereção (Wespes *et al.*, 1997).

Com base nas características do corpo cavernoso, os pênis dos animais domésticos são anatomicamente classificados em dois tipos distintos: fibroelástico e musculocavernoso. O pênis do tipo fibroelástico apresenta pequenos espaços sanguíneos, separados por quantidades substanciais de tecido fibroelástico resistente, sendo envolvido por uma única túnica albugínea espessa, que recobre tanto os corpos cavernosos quanto o corpo esponjoso. Por outro lado, no tipo musculocavernoso, os espaços sanguíneos são mais amplos, e tanto a túnica quanto os septos interpostos são mais delicados, sendo compostos predominantemente por tecido muscular (König & Liebich, 2016; Dyce *et al.*, 2019).

Histologicamente, de acordo com Wrobel & Bergmann (2012) e Plaul *et al.* (2022), os pênis de animais domésticos podem ser classificados em três tipos: fibroelástico, vascular e intermediário. O tipo fibroelástico apresenta maior proporção de tecido conjuntivo em relação ao tecido erétil, o que impede a distensão do órgão. O tipo vascular, por sua vez, caracteriza-se por possuir grandes espaços cavernosos, delimitados por trabéculas nas quais predominam fibras musculares lisas. Durante a ereção, esses espaços se enchem de sangue, provocando um aumento considerável no tamanho do pênis; após o relaxamento, o órgão torna-se flácido. Já o tipo intermediário apresenta corpos cavernosos e tecido conjuntivo altamente desenvolvidos, com rigidez que aumenta durante a cópula.

Portanto, embora as classificações descritas sejam aplicáveis aos animais domésticos, elas não se mostram adequadas para espécies silvestres, como os *Leontopithecus*. As análises histológicas dessas espécies revelaram características morfofuncionais distintas, como a presença de uma túnica albugínea extremamente espessa, uma reduzida área de seio venoso — especialmente em *L. chrysomelas* —, a ocorrência de osso peniano e a dificuldade de identificação de fibras musculares em *L. chrysomelas* e *L. chrysopygus*. Esses achados reforçam a necessidade de



abordagens específicas para a caracterização anatômica do pênis em primatas neotropicais, evidenciando que extrapolações baseadas em modelos domésticos podem não refletir adequadamente a diversidade morfológica dessas espécies silvestres.

O corpo esponjoso foi observado ventral aos dois corpos cavernosos, envolvendo a uretra e circundado pela túnica albugínea, tanto na raiz quanto no corpo do pênis de *Leontopithecus*. Esse arranjo foi semelhante ao observado no homem (Netter, 2019; Tortora & Nielsen, 2019; Paulsen & Waschke, 2023; Dalley & Agur, 2024) e em outros primatas não-humanos, como em híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixon *et al.*, 2004), *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023).

A glândula do pênis apresentou diferenças quanto à forma nas três espécies estudadas. Em *L. rosalia* e *L. chrysopygus*, a glândula apresentou formato triangular, enquanto em *L. chrysomelas*, o formato foi semelhante ao de um cogumelo. Hershkovitz (1977) descreveu a glândula do gênero *Leontopithecus* como bem diferenciada, com formato arredondado, semelhante ao observado em *L. chrysomelas*. Em *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015), a glândula apresentou o formato de 'cabeça de prego', com a face do ápice achatada. Em *Macaca fuscata* Blyth, 1875 (Fooden, 1971), a glândula teve forma de capacete, com a parte dorsal se estendendo para trás sobre o corpo do pênis, cerca de duas vezes mais distante do que a parte ventral. Em *Pan paniscus* Schwarz, 1929 (Izor *et al.*, 1981), observou-se quatro lóbulos subsimetricamente situados ao redor do óstio uretral externo, circundando-o completamente, sem qualquer indicação de transição do corpo do pênis para a glândula. Nos híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixon *et al.*, 2004), a glândula tinha forma de funil, com o polo distal largo e achatado, e a pele profundamente fissurada, apresentando várias dobras. No *C. aethiops* (Lebelo, 2007), a glândula apresentou forma de capacete. No gênero *Pan* (Cold & McGrath, 1999), e nas espécies *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023), não foram observadas uma glândula distinta ou verdadeira.

Foi observado um colo da glândula nas três espécies de *Leontopithecus* estudadas, de forma semelhante ao descrito no homem (Tortora & Nielsen, 2019; Dalley & Agur, 2024) e em *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015). Em *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023), observou-se a ausência do colo da glândula.

Nas espécies de *Leontopithecus* estudadas, a glândula do pênis de *L. rosalia* e *L. chrysopygus* era composta pela uretra envolta pelo corpo esponjoso, sem túnica albugínea sobrepondo o corpo esponjoso. O mesmo foi observado no homem (Halata & Munger, 1986; Dalley & Agur, 2024) e nos híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixon *et al.*, 2004). Em *L. chrysomelas*, foram observados dois corpos cavernosos dorsais, envoltos pela túnica albugínea e separados pelo septo mediano, e ventralmente, a uretra envolta pelo corpo esponjoso. Em *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015), *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023), a glândula apresentou um único corpo cavernoso dorsal à uretra, que era envolta pelo corpo esponjoso.

Neste estudo, foi observado um osso peniano localizado na glândula do pênis, dorsal à uretra e inserido no corpo cavernoso em *L. chrysomelas*, enquanto em *L. rosalia* e *L. chrysopygus*, encontrava-se dorsal à uretra e inserido no corpo esponjoso. Essa estrutura óssea também foi relatada na glândula do pênis de *M. mulatta* (Wislocki, 1933), *M. fuscata* (Fooden, 1971), *Pan paniscus* (Izor *et al.*, 1981), híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixon *et al.*, 2004), *C. aethiops* (Lebelo, 2007), *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015), *M. marcai* (Siqueira *et al.*, 2018) e *C. humilis* (Vieira *et al.*, 2023).

No que se refere à morfologia do osso peniano, as três espécies de *Leontopithecus* apresentaram formas diferentes. Em *M. fuscata* (Fooden, 1971), o osso peniano apresentou-se como uma haste curva sigmoide delgada ou convexa ventralmente, com 1,27 a 1,88 cm de comprimento. Apesar de o formato do osso peniano não ter influenciado de forma direta na morfologia da glândula dos *Leontopithecus*, em outras espécies de primatas, como no gênero *Galago*, o osso peniano alongado se projeta na ponta da glândula em graus variados, com a abertura uretral em sua superfície perineal (Dixon, 1989).

Quanto ao comprimento médio do osso peniano, *L. rosalia* apresentou  $0,900 \pm 0,1546$  cm, *L. chrysomelas*  $1,287 \pm 0,0180$  cm e *L. chrysopygus*  $0,6687 \pm 0,0535$  cm. O comprimento médio do osso peniano também foi obtido de outras espécies de calitriquídeos, como *Cebuella pygmaea* Spix, 1823, que apresentou um comprimento de 0,17 cm, e *Oedipomidas oedipus* Linnaeus, 1758, com 0,19 cm (Dixon, 1987b). Nos Strepsirrhini, o osso peniano apresentou os seguintes comprimentos: *Otolemur garnettii* Ogilby, 1838 com 2,6 cm, *O. crassicaudatus* Saint-Hilaire, 1812 com 2,57 cm, *Galago senegalensis* Saint-Hilaire, 1796 com 1,67 cm, *Galagoides demidoff* Fischer,

1806 com 1,31 cm, *Euoticus elegantulus* LeConte, 1857 com 1,69 cm, *Perodicticus potto* Müller, 1766 com 2,10 cm, *Loris tardigradus* Linnaeus, 1758 com 1,42 cm e *Nycticebus coucang* Boddaert, 1785 com 1,38 cm (Dixson, 1989). Já os híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixson *et al.*, 2004) apresentaram o osso peniano com 1,8 cm de comprimento, uma base expandida, haste curta e ápice arredondado. Dixson (1987b) afirmou que, de modo geral, o osso peniano é maior em primatas do Velho Mundo.

O osso peniano é uma estrutura mamífera sem homólogo conhecido em outros vertebrados e é um traço primitivo (plesiomórfico) da ordem Primates (Dixson, 2018), sendo ausente na família Tarsiidae, nos atelídeos *Lagothrix*, *Brachyteles* e *Ateles*, e em humanos (Hershkovitz, 1977; Cold & McGrath, 1999; Ankel-Simons, 2007). Ele se forma pela ossificação da região distal dos corpos cavernosos e se estende para a frente, alcançando a glândula do pênis (König & Liebich, 2016; Dixson, 2018; Dyce *et al.*, 2019). O crescimento do pênis durante a puberdade é acompanhado pelo aumento do osso peniano, estimulado pela testosterona (Dixson, 2018). O osso peniano atua como suporte, fortalecendo o pênis e protegendo a uretra, evitando que a ponta do pênis se contraia e feche a uretra durante a intromissão prolongada, além de auxiliar na transferência do sêmen para o colo do útero da fêmea (Izor *et al.*, 1981; Dixson, 2012, 2018). Além disso, ele ajuda a aumentar a rigidez dos corpos cavernosos ao ser pressionado em suas extremidades distais, aumentando a pressão hidrostática dentro dos corpos cavernosos durante a cópula. Essa rigidez adicional é útil para espécies nas quais a monta ocorre antes da ereção, como nos canídeos, ou em espécies com forte dimorfismo sexual (Long & Frank, 1968; Kelly, 2000). Também pode servir para expandir o colo do útero, otimizando a deposição de espermatozoides (Long & Frank, 1968). O tamanho do osso peniano é maior em espécies que prolongam a intromissão no período pós-ejaculatório (Dixson, 1987) e em espécies que possuem uma única intromissão prolongada, em vez de várias curtas (Dixson, 1995). Dixson (2018) afirmou que é improvável que o osso peniano desempenhe qualquer papel na indução da ovulação em primatas, pois todas as espécies de primatas estudadas até aquele momento possuem ovulação espontânea. Além disso, o osso peniano é significativamente mais longo em primatas que realizam intromissão prolongada, que possuem sistema de acasalamento polígamo e nos que se reproduzem sazonalmente (Brindle & Opie, 2016; Carosi & Scalici, 2017), características essas que corroboram com os achados neste estudo.

O epitélio de revestimento da glânde do pênis das três espécies de *Leontopithecus* foi do tipo estratificado pavimentoso queratinizado, originando projeções espinhosas queratinizadas, que eram mais largas na base e estreitas no ápice, formando as espículas penianas. As mesmas estruturas foram observadas na glânde do pênis de *S. apella* (Teixeira et al., 2015) e *C. humilis* (Vieira et al., 2023).

A glânde e o terço distal do corpo do pênis das espécies de *Leontopithecus* estudadas apresentaram espículas queratinizadas, com uma única ponta, de comprimento moderado e direcionadas proximalmente. Essas espículas são compatíveis com as descritas como tipo I por Dixon (2012). A presença dessas espículas corrobora com observações em outros primatas, como *M. fuscata* (Fooden, 1971), *C. jacchus* (Dixon, 1991), *S. apella* (Teixeira et al., 2015), *M. marcai* (Siqueira et al., 2018), *C. humilis* (Vieira et al., 2023) e *P. paniscus* (Izor et al., 1981). Dixon (2012) relatou variações na morfologia das espículas, descrevendo-as como espinhos pontiagudos em *Galagoides demidoff* Fischer, 1806, uni ou bidentados em *Otolemur crassicaudatus* Saint-Hilaire, 1812, e frequentemente tridentados em *O. garnettii* Ogilby, 1838. Nos híbridos de *Brachyteles* sp. (Dixon et al., 2004), não foram observadas espículas penianas proeminentes, embora pequenos processos epidérmicos rombos tenham sido visíveis em nível microscópico. No gênero *Saguinus* Hoffmannsegg, 1807 (Herskovitz, 1977), no homem (Halata & Munger, 1986) e em *P. pygmaeus* (Harcourt & Gardiner, 1994), as espículas penianas não foram observadas.

As espículas, assim como outras ornamentações penianas, podem desempenhar diversas funções, como induzir a ovulação, estimular a aceitação do macho pela fêmea por meio da estimulação vaginal, ou ainda garantir um bloqueio genital, mantendo as paredes da vagina unidas durante a cópula (Altuna & Lessa, 1985). Em espécies com alta competição espermática, as espículas podem ter a função adicional de remover o sêmen depositado na vagina da fêmea por acasalamentos anteriores (Parag et al., 2006). Em um experimento com *C. jacchus*, Dixon (1991) observou que, ao remover as espículas penianas, não houve efeito sobre a ereção peniana ou sobre a capacidade dos machos de se orientarem corretamente para montar as fêmeas. No entanto, as latências de intromissão e as durações de impulso intravaginal foram prejudicadas. Estruturas encontradas no pênis de primatas, como as espículas na glânde, a curvatura peniana distinta e o frênulo

proeminente, sugerem que a evolução dessas complexas morfologias penianas foi influenciada pela escolha feminina, e que a morfologia peniana (especialmente as espículas) pode contribuir para melhorar a competição espermática (Cold & McGrath, 1999).

O óstio uretral externo apresentou-se como uma fissura vertical nas três espécies de *Leontopithecus*, de maneira semelhante ao observado em *M. fuscata* (Fooden, 1971) e *S. apella* (Teixeira *et al.*, 2015). Em *P. paniscus* (Izor *et al.*, 1981), a abertura do óstio assumiu a forma de um 'Y', devido aos quatro lóbulos situados ao seu redor. O óstio uretral externo em todos os calitriquídeos machos, na maioria dos cebídeos e na maioria dos cercopitecídeos, é desviado para a direita devido à posição dorsomediana do osso peniano, que está presente em dois lobos, sendo o lobo esquerdo, contendo o osso peniano, maior e geralmente mais projetado do que o lobo direito (Hershkovitz, 1977).

A glândula do pênis apresentou, em *L. rosalia*,  $0,23 \pm 0,02$  cm de comprimento médio e  $0,23 \pm 0,03$  cm de diâmetro médio; em *L. chrysomelas*,  $0,27 \pm 0,05$  cm de comprimento médio e  $0,31 \pm 0,06$  cm de diâmetro médio; e em *L. chrysopygus*,  $0,27 \pm 0,04$  cm de comprimento médio e  $0,28 \pm 0,04$  cm de diâmetro médio. Observou-se uma correlação entre o comprimento da glândula do pênis e o comprimento corporal em *L. chrysopygus*. Essa alometria também foi registrada por Anderson (2000) no estudo com primatas dos gêneros *Otolemur* Coquerel, 1859, *Euoticus* Gray, 1863, *Galago* e *Galagoides* Smith, 1833.

Em espécies de primatas nas quais as fêmeas acasalam com múltiplos machos (sistemas de acasalamento não gregários e multimachos), a morfologia peniana e os padrões copulatórios masculinos são frequentemente mais especializados do que em espécies monogâmicas ou poligínicas (Dixson, 1987a, b). Essas especializações da morfologia peniana e do comportamento copulatório fazem parte de um padrão mais amplo, sendo consistentes com os efeitos da seleção sexual por meio da 'escolha feminina' na evolução da genitália masculina, conforme relatado por Eberhard (1985 *apud* Dixson, 2012).

## 7 CONCLUSÃO

Esta pesquisa investigou a morfologia e a estrutura do pênis em três espécies de *Leontopithecus*, fornecendo uma visão detalhada das características anatômicas, histológicas e morfométricas. Os resultados confirmaram a presença de estruturas penianas típicas de primatas, como os corpos cavernosos e esponjoso, a túnica albugínea espessa, o osso peniano e as espículas queratinizadas.

Nas análises, observou-se em *L. chrysopygus* uma correlação entre o comprimento corporal e o comprimento total do pênis, assim como com a raiz, o corpo e a glândula. O diâmetro do corpo do pênis foi observado como maior em *L. chrysomelas*. O comprimento e o diâmetro da glândula do pênis variaram entre as três espécies estudadas. Diferenças na morfologia e no comprimento do osso peniano também foram observadas entre as três espécies.

Além disso, por meio das análises histológicas e histomorfométricas, observou-se que *L. rosalia* apresentou menor área da uretra e do corpo cavernoso, menor espessura da túnica albugínea do corpo cavernoso e uma grande quantidade de fibras musculares lisas no corpo do pênis. Nas três espécies estudadas, foi observada diferença na área do corpo esponjoso. Não foi possível classificar o pênis das três espécies estudadas como proposto na literatura para os mamíferos domésticos.

Os dados obtidos contribuem para um entendimento mais profundo da evolução do pênis nos primatas e abrem novas perspectivas sobre os mecanismos subjacentes à seleção sexual e às estratégias reprodutivas. Os achados neste estudo oferecem uma base sólida para futuras investigações sobre a relação entre a morfologia peniana e os sistemas de acasalamento, como também explorar a dinâmica da seleção sexual e da escolha feminina.

O estudo também aponta a necessidade de pesquisas mais aprofundadas sobre a relação entre a morfologia peniana e os padrões de competição espermática, buscando compreender melhor como essas estruturas influenciam o sucesso reprodutivo em diferentes contextos ecológicos e comportamentais.

Este trabalho não só amplia o conhecimento sobre as espécies de *Leontopithecus*, mas também oferece uma perspectiva única sobre a evolução da

morfologia peniana nos primatas, ressaltando a importância das adaptações morfológicas e comportamentais para o sucesso reprodutivo e a preservação das espécies.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abidu-Figueiredo, M.; Alves, E.F.; Gallo, C.B.M.; Costa, W.S.; Favorito, L.A.; Sampaio, F.J.B. 2025. Qualitative and quantitative characterization of the Rhesus monkey (*Macaca mulatta*) pênis. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 51, n. 3, e20259906.

Altuna, C.A. & Lessa, E.P. 1985. Penial morphology in Uruguayan species of *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). **Journal of Mammalogy**, v. 66, n.3, p. 483-488.

Anderson, M.J. 2000. Penile morphology and classification of bush babies (subfamily Galagoninae). **International Journal of Primatology**, v. 21, p. 815-836.

Anderson, M.J. 1998. Comparative morphology and speciation in galagos. **Folia Primatologica**, v. 69, n. 7, p. 325–331.

Ankel-Simons, F. 2007. **Primate Anatomy: an introduction**. 3. ed. Burlington: Academic Press, 752 p.

Auricchio, P. 1995. **Primatas Do Brasil**. São Paulo: Terra Brasilis, 168 p.

Baker, A.J.; Dietz, J.M.; Kleiman, D.G. 1993. Behavioural evidence for monopolization of paternity in multi-male groups of golden lion tamarins. **Animal Behaviour**, v. 46, n. 6, p. 1091-1101.

Baker, A.J. & Dietz, J.M. 1996. Immigration in wild groups of golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **American Journal of Primatology**, v. 38, n. 1, p. 47–56.

Baker, A.J.; Bales, K.L.; Dietz, J.M. 2008. Sistema de Acasalamento e Dinâmicas em Micos-leões. *In*: Kleiman, D.G.; Raylands, A.B. (org.) **Micos-leões: biologia e conservação**. Tradução: Larissa Stones. Brasília: Smithsonian Institution, 2008. 568 p.

Bastos, A.L.; Costa, W.S.; Cardoso, L.E.M.; Sampaio, F.J.B. 1999. Collagen and elastic fibers in the penis of human fetuses at 28 weeks postconception. **European Urology**, v. 36, n. 2, p. 158-163.

Bicca-Marques, J.C. 1999. Hand specialization, sympatry, and mixed-species associations in callitrichines. **Journal of Human Evolution**, v. 36, n. 4, p. 349-378.

Bicca-Marques, J. C.; Silva, V. M.; Gomes, D. F. 2006. Ordem Primates. *In*: Reis, N.R.; Perrachi, A.L.; Pedro, W.A.; Lima, I.P. (org.) **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Nelio R. dos Reis, 2006, 437 p.

Bicca Marques, J.C. *et al.* 2017. Yellow fever threatens Atlantic Forest primates. **American Association for the Advancement of Science**, eLetters: <http://advances.sciencemag.org/content/3/1/e1600946/tab-e-letters>.

Brindle, M. & Opie, C. 2016. Postcopulatory sexual selection influences baculum evolution in primates and carnivores. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1844, 20161736.

Brito-Gitirana, L. 2022. **Coleção Conhecendo: Técnicas Histológicas**. Métodos básicos. Rio de Janeiro: Ed. da Autora, 187 p.

Carosi, M. & Scalici, M. 2017. Baculum (*Os Penis*). *In*: Bezanson, M. et al. (eds). 2017. **The International Encyclopedia of Primatology**. New Jersey: Wiley-Blackwell, 1608 p.

Carvalho, C.T. 1965. Comentários sobre os mamíferos descritos e figurados por Alexandre Rodrigues Ferreira em 1790. **Arquivos de Zoologia**, v. 12, p. 7-70.

Coimbra-Filho, A.F. & Mittermeier, R.A. 1973. Distribution and ecology of the genus *Leontopithecus* Lesson, 1840 in Brazil. **Primates**, v. 14, n. 1, p. 47-66.

Coimbra-Filho, A.F. 1976. **Os saguis do gênero *Leontopithecus* Lesson, 1840 (*Callithricidae* – *Primates*)**. 73 p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1976.

Cold, C.J. & McGrath, K.A. 1999. Anatomy and histology of the penile and clitoral prepuce in primates: An evolutionary perspective of the specialised sensory tissue of the external genitalia. *In*: Denniston, G.C.; Hodges, F.M.; Milos, M.F. (eds.). 1999.



**Male and female circumcision: medical, legal, and ethical considerations in pediatric practice.** New York: Springer Science & Business Media, 547 p.

Dalley, A.F. & Agur, A.M. 2024. **Moore: Anatomia orientada para a clínica.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1176 p.

De Vleeschouwer, K.; Heistermann, M.; Van Elsacker, L.; Verheyen, R.F. 2000. Signaling of reproductive status in captive female golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*). **International Journal of Primatology**, v. 21, n. 3, p. 445–465.

Dietz, J.M.; Baker, A.J.; Miglioretti, D. 1994. Seasonal variation in reproduction, juvenile, growth and adult body mass in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **American Journal of Primatology**, v. 34, p. 115-132.

Dietz, J.M.; Peres, C.A.; Pinder, L. 1997. Foraging ecology and use of space in wild golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). **American Journal of Primatology**, v. 41, n. 4, p. 289-305.

Dietz, J.M.; Hankerson, S.J.; Alexandre, B.R. Henry, M.D.; Martins, A.F.; Ferraz, L.P.; Ruiz-Miranda, C.R. 2019. Yellow fever in Brazil threatens successful recovery of endangered golden lion tamarins. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 12926.

Dixon, A.F. 1987a. Observations on the evolution of the genitalia and copulatory behaviour in male primates. **Journal of Zoology**, v. 213, n. 3, p. 423-443.

Dixon, A.F. 1987b. Baculum length and copulatory behavior in primates. **American Journal of Primatology**, v. 13, n. 1, p. 51–60.

Dixon, A.F. 1991. Sexual selection, natural selection and copulatory patterns in male primates. **Folia Primatologica**, v. 57, n. 2, p. 96–101.

Dixon, A.F. & Mundy, N.I. 1994. Sexual behavior, sexual swelling, and penile evolution in chimpanzees (*Pan troglodytes*). **Archives of Sexual Behavior**, v. 23, n. 3, p. 267-279.

Dixon, A.F.; Pissinatti, A.; Anderson, M.J. 2004. Observations on genital morphology and anatomy of a hybrid male muriqui (genus *Brachyteles*). **Folia Primatologica**, v. 75, n. 2, p. 61-69.

- Dixson, A.F. 2012. **Primate Sexuality: Comparative Studies of the Prosimians, Monkeys, Apes, and Humans**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 808 p.
- Dixson, A.F. 2018. Copulatory and Postcopulatory Sexual Selection in Primates. **Folia Primatologica**, v. 89, p. 258–286.
- Dyce, K.M.; Sack, W.O.; Wensing, C.J. 2019. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 872 p.
- Eberhard, W.G. 1990. Animal Genitalia and Female Choice. **American Scientist**, v. 78, n. 2, p. 134-141.
- Estrada, A. *et al.* 2017. Impending extinction crisis of the world's primates: why primates matter. **Science advances**, v.3, n.1, p. e1600946.
- Fernandes, G.J.M. 1999. **Eponímia: glossário de termos epônimos em Anatomia; Etimologia: dicionário etimológico da nomenclatura anatômica**. São Paulo: Plêiade, p. 297.
- French, J.A.; Pissinatti, A.; Coimbra-Filho, A.F. 1996. Reproduction in captive lion tamarins (*Leontopithecus*): seasonality, infant survival and sex ratios. **American Journal of Primatology**, v. 39, p. 17-33.
- French, J.A.; De Vleeschouwer, K.; Bales, K.; Heistermann, M. 2008. Biologia reprodutiva do mico-leão. *In*: Kleiman, D.G.; Raylands, A.B. (org.) **Micos-leões: biologia e conservação**. Tradução: Larissa Stones. Brasília: Smithsonian Institution, 2008. 568 p.
- Fooden, J. 1971. Male external genitalia and systematic relationships of the Japanese macaque (*Macaca fuscata* Blyth, 1875). **Primates**, v. 12, n. 3, p. 305-311.
- Garbino, G.S.T.; Rezende, G.C.; Valadares-Padua, C. 2016. Pelage variation and distribution of the black lion tamarin, *Leontopithecus chrysopygus*. **Folia Primatologica**, v. 87, n. 4, p. 244-261.
- Grabner, A.P. 2016. **Análise comparativa dos aspectos da ultraestrutura do espermatozoide de mico-leão-da-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*) e bugio (*Alouatta caraya* e *Alouatta guariba clamitans*)**. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Halata, Z. & Munger, B.L. 1986. The neuroanatomical basis for the protopathic sensibility of the human glans penis. **Brain Research**, v. 371, n. 2, p. 205-230.

Harcourt, A.H. & Gardiner, J. 1994. Sexual selection and genital anatomy of male primates. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 255, n. 1342, p. 47-53.

Hershkovitz, P. 1977. **Living New World Monkeys (Platyrrhini)**, Volume 1: With an Introduction to Primates (Platyrrhini: With an Introduction to Primates). Chicago: University of Chicago Press, 1132 p.

Holst, B.; Medici, E.P.; Marino-Filho, O.J.; Kleiman, D.; Leus, K.; Pissinatti, A.; Vivekananda, G.; Ballou, J.D.; Traylor-Holzer, K.; Raboy, B.; Passos, F.; Vleeschouwer, K.; Montenegro, M.M. (eds.) 2006. Lion Tamarin Population and Habitat Viability Assessment Workshop 2005, final report. **IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group**, Apple Valley, MN, USA.

Hosken, D.J.; Archer, C.R.; House, C.M.; Wendell, N. 2019. Penis evolution across species: divergence and diversity. **Nature Reviews Urology**, v. 16, n. 2, p. 98-106p.

International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. **Nomina Anatomica Veterinaria**. 6. ed., New York, 2017.

Izor, R.J.; Walchuk, S.L.; Wilkins, L. 1981. Anatomy and systematic significance of the penis of the pygmy chimpanzee, *Pan paniscus*. **Folia Primatologica**, v. 35, n. 2-3, p. 218-224.

Kelly, D.A. 2000. Anatomy of the baculum–corpus cavernosum interface in the Norway rat (*Rattus norvegicus*), and implications for force transfer during copulation. **Journal of Morphology**, v. 244, n.1, p. 69-77.

Kierulff, M.C.M.; Raboy, B.E.; Oliveira, P.P.; Miller, K.; Passos, F.C.; Prado, F. 2008. Ecologia comportamental dos micos-leões. In: Kleiman, D.G.; Raylands, A.B. (org.) **Micos-leões: biologia e conservação**. Tradução: Larissa Stones. Brasília: Smithsonian Institution, 2008. 568 p.

Kleiman, D.G. 1977. Monogamy in mammals. **The Quarterly Review of Biology**, v. 52, p. 39-69.

- Kleiman, D.G. & Mack, D.S. 1977. A peak in sexual activity during mid-pregnancy in the golden lion tamarin, *Leontopithecus rosalia* (Primates: Callitrichidae). **Journal of Mammalogy**, v. 58, n. 4, p. 657-660.
- Kleiman, D.G.; Hoage, R.J.; Green, K.M. 1988. The lion tamarins, genus *Leontopithecus*. In: Mittermeier, A. et al. (ed.) **Ecology and Behavior of Neotropical Primates**, vol. 2, Washington: World Wildlife Fund, 610 p.
- König, H.E. & Liebich, H.G. 2016. Órgãos Genitais Masculinos (*Organa Genitalia Masculina*). In: König, H.E. & Liebich, H.G. 2016. **Anatomia dos Animais Domésticos: texto e atlas colorido**. 6. ed., Porto Alegre: Artmed, 824 p.
- Kreis, T. & Vale, R. 1999. **Guidebook to the Extracellular Matrix and Adhesion Proteins**. ed. 2. Oxford: Oxford University Press, 592 p.
- Long, C.A. & Frank, T. 1968. Morphometric variation and function in the baculum, with comments on correlation of parts. **Journal of Mammalogy**, v. 49, n. 1, p. 32-43.
- Mares-Guia, M.A.M.D.M. *et al.* 2020. Yellow fever epizootics in non-human primates, Southeast and Northeast Brazil (2017 and 2018). **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 1-8.
- Martini, F.H.; Timmons, M.J.; Tallitsch, R.B. 2009. **Anatomia Humana: Coleção Martini**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 904 p.
- Ministério do Meio Ambiente (MMA). 2022. Portaria MMA N° 148, de 7 de junho de 2022. **Diário Oficial da União**, v. 108, p. 74.
- Moraes, I.A. 2004. **Investigações sobre a fisiopatologia da reprodução em micos-leões (*Leontopithecus* sp., LESSON, 1840) mantidos em cativeiro (Callitrichidae - Primates)**. 2004. Tese (Doutorado em Patologia Experimental) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.
- Netter, F.H. 2019. **Atlas da anatomia humana**. 7 ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 672 p.
- Oliveira, L.C.; Neves, L.G.; Kierulff, M.C.M.; Jerusalinsky, L.; Mittermeier, R.A.; Rylands, A.B. 2021. *Leontopithecus chrysomelas* (amended version of 2020 assessment). **The IUCN Red List of Threatened Species 2021**: e.T40643A192327573.

Parag, A.; Bennett, N.C.; Faulkes, C.G.; Bateman, P.W. 2006. Penile morphology of African mole rats (Bathyergidae): structural modification in relation to mode of ovulation and degree of sociality. **Journal of Zoology**, v. 270, n. 2, p. 323-329.

Paranhos, K.M. 2006. **Estimativas populacionais para espécies raras: o mico-leão-preto *Leontopithecus chrysopygus* (Mikan, 1823) como modelo**. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

Passos, F.C. 1999. Dieta de um grupo de mico-leão-preto, *Leontopithecus chrysopygus* (Mikan) (Mammalia, Callitrichidae), na Estação Ecológica dos Caetetus, São Paulo. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, supl. 1, p. 269-278.

Paulsen, F. & Waschke, J. (eds.). 2023. **Sobotta Atlas de Anatomia**, vol. 2: Órgãos internos. ed. 25. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 1608 p.

Pissinatti, L.; Tortelly, R.; Porto, M.; Burity, C.H.F.; Pissinatti, A. 2008. Morfologia macroscópica do aparelho reprodutor feminino de *Leontopithecus* cativos (Lesson, 1840) Primates-Callitrichidae. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.6, p.1472-1475.

Paul, S.E.; Laube, P.F.A.; Raffin, D. 2022. Sistema reprodutor del macho. *In*: Barbeito, C.G. & Diessler, M.E. 2022. **Introducción a la Histología Veterinaria**. Libros de Cátedra. Universidad Nacional de la Plata.

Raboy, B.E. & Dietz, J.M. 2004. Diet, foraging, and use of space in wild golden-headed lion tamarins. **American Journal of Primatology**, v. 63, n. 1, p. 1–15.

Raviv, G.; Vanegas, J.P.; Petein, M.; Schulman, C.; Danguy, A.; Kiss, R.; Wespes, E. 1997a. Biochemical alterations of the tunica albuginea in impotence. **The Journal of Urology**, v. 158, n. 5, p. 1778-1782.

Raviv, G.; Kiss, R.; Vanegas, J.P.; Petein, M.; Danguy, A.; Schulman, C.; Wespes, E. 1997b. Objective measurement of the different colage types in the corpus cavernosum of potent and impotent men: an immunohistochemical staining with computerized image analysis. **World Journal Urology**, v. 15, n. 1, p. 50–55.

Rezende, G.C. 2014. **Mico-leão-preto: a história de sucesso na conservação de uma espécie ameaçada**. São Paulo: Matrix, 176 p.

Rezende, G.; Knogge, C.; Passos, F.; Ludwig, G.; Oliveira, L.C.; Jerusalinsky, L.; Mittermeier, R.A. 2020. *Leontopithecus chrysopygus*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2020**: e.T11505A17935400.

Richardson, M. 2023. **Primate Taxonomy**. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/376239958\\_Primate\\_Taxonomy\\_for\\_Living\\_Primates\\_of\\_the\\_World](https://www.researchgate.net/publication/376239958_Primate_Taxonomy_for_Living_Primates_of_the_World). Acesso em: 28 de dezembro de 2023.

Rosemberg, A.L. & Coimbra-Filho, A.F. 1984. Morphology, taxonomic status and affinities of the lion tamarins, *Leontopithecus* (Callitrichinae, Cebidae). **Folia Primatologica**, v. 42, p. 149-179.

Ruivo, E.B. & Stevenson, M.F. (ed). 2017. **EAZA Best Practice Guidelines for Callitrichidae**. ed. 3.1. Saint-Aignan: Beauval Zoo, 269 p.

Ruiz-Miranda, C.R.; Pissinatti, A.; Kierulff, M.C.M.; Oliveira, L.C.; Mittermeier, R.A.; Valença-Montenegro, M.M.; de Oliveira, P.; Jerusalinsky, L. 2021. *Leontopithecus rosalia* (amended version of 2019 assessment). **The IUCN Red List of Threatened Species 2021**: e.T11506A192327291.

Rylands, A.B., & Neto, P.N. 1994. Conservation units and the protection of Atlantic Forest lion tamarins. **Neotropical Primates**, Supplement 2, p. 12-14.

Rylands, A.B.; Fonseca, G.A.B.; Leite, Y.L.R.; Mittermeier, R.A. 1996. Primates of the Atlantic Forest: origin, distributions, endemism and communities. *In*: Norconk, M.A.; Rosenberger, A.L.; Garber, P.A. (eds.). **Adaptive radiations of neotropical primates**. New York: Springer, 1996, 53 p.

Rylands, A.B.; Kierulff, M.C.M.; Pinto, L.P.S. 2008. Distribuição e status dos micos-leões. *In*: Kleiman, D.G.; Raylands, A.B. (org.) **Micos-leões: biologia e conservação**. Tradução: Larissa Stones. Brasília: Smithsonian Institution, 2008. 568 p.

Sampaio, F.B.; Pinto, J.F.; Silva-Costa, W.; Pereira, M.S. 1998. Quantitative analysis of smooth muscle fibers in corpus cavernosum of human fetuses. **The Journal of urology**, v. 159, n.6, p. 2226-2228.

Sattar, A.A.; Wespes, E.; Schulman, C.C. 1994. Computerized measurement of penile elastic fibres in potent and impotent men. **European urology**, v. 25, n. 2, p. 142-144.

- Siqueira, G.H.L.; Silva, F.E.; Santana, M.I.S. 2018. Morphological description of male genital organs of Marca's marmoset (*Mico marcai*). **Anatomia, histologia, embryologia**, v. 47, n. 4, p. 372-384.
- Smith, R.J. & Jungers, W.L. 1997. Body mass in comparative primatology. **Journal of Human evolution**, v. 32, n.6, p. 523-559.
- Soylemez, H.; Atar, M.; Sancaktutar, A.A.; Penbegul, N.; Bozkurt, Y.; Onem, K. 2012. Relationship between penile size and somatometric parameters in 2276 healthy young men. **International Journal of Impotence Research**, n. 24, p. 126-129.
- Sussman, R.W. & Garber, P.A. 1987. A new interpretation of the social organization and mating system of the Callitrichidae. **International Journal of Primatology**, v. 8, p. 73– 92.
- Teixeira, D.G.; Hamlett, W.C.; Guimarães, M.A.B.V.; Morini, A.C.; Araújo, K.P.C.; Cury, F.S.; Souza, A.F.; Vidane, A.S.; Ambrósio, C.E.; Miglino, M.A. 2015. Morphological tools for describing the male external genitalia of *Sapajus apella*. **Zoological Science**, v. 32, p. 97-104.
- Tortora, G.L. & Nielsen, M.T. 2019. **Princípios de anatomia humana**. 14 ed. Rio de Janeiro: Grupo Gen-Guanabara Koogan, 1040 p.
- Valladares-Padua, C.B. 1993. **The ecology, behavior and conservation of the black lion tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*, Mikan, 1823)**. 181 p. Thesis (Doctor of Philosophy) - University of Florida, Gainesville, 1993.
- Vieira, K.R.A.; Weber, H.A.; Sant'Ana, F.J.F.; Blume, G.R.; Silva, F.E.; Santana, M.I. 2023. Male genital organs of the black-crowned dwarf marmoset (*Callibella humilis*). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 52, p. 163-171.
- Watanabe, I.M. 2015. **Gameta masculino de mico-leão-de-cara-dourada (*Leontopithecus chrysomelas*): parâmetros reprodutivos seminais e epigenéticos**. 84 p. Dissertação (Mestre Profissional em Conservação da Fauna) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo. 2015.

Wespes, E.; Goes, P.M.; Schiffmann, S.; Depierreux, M.; Vanderhaeghen, J.J.; Schulman, C.C. 1991. Computerized analysis of smooth muscle fibers in potent and impotent patients. **The Journal of Urology**, v. 146, p. 1015-117.

Wespes, E.; Sattar, A.A.; Golzarian, J.; Wery, D.; Daoud, N.; Schulman, C.C. 1997. Corporeal veno-occlusive dysfunction: predominantly intracavernous muscular pathology. **The Journal of Urology**, v. 157, n.5, p. 1678-1680.

Wislocki, G.B. 1933. The reproductive systems. *In*: Hartman, C.G. & Straus-Jr., W.L. (eds.) **The Anatomy of the Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*)**. Baltimore: Williams & Wilkins, 382 p.

Wrobel, K.H. & Bergmann, M. 2012. Sistema Reprodutivo do Macho. *In*: Eurell, J.A. & Frappier, B.L. 2012. **Histologia Veterinária de Dellmann**. Tradução: Fernando Gomes do Nascimento. 12. ed., São Paulo: Editora Manole Saúde, 412 p.



## ANEXO I



Governo do Estado do Rio de Janeiro

Instituto Estadual do Ambiente

Diretoria de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas

### AUTORIZAÇÃO PARA PESQUISA CIENTÍFICA NO CENTRO DE PRIMATOLOGIA DO RIO DE JANEIRO - INEA Nº001/2022

O Diretor de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas do Instituto Estadual do Ambiente – Inea, no uso de suas atribuições legais, considerando a Portaria IEF/RJ/PR nº 227 de 18/12/2007 e considerando, ainda, o que consta no processo SEI-070002/007181/2022, **AUTORIZA** a pesquisadora **Thais Mattos Estruc**, vinculada à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, e seu orientador de pesquisa, Marcelo Abidu Figueiredo, a obter dados no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - CPRJ, com vistas à execução do projeto de pesquisa **“Caracterização Morfológica do Pênis de Três Espécies de *Leontopithecus* (Lesson, 1840).”**, devendo ser observadas as condições discriminadas neste documento e ainda aquelas previstas na Portaria supracitada.

A presente autorização tem validade de **02 (dois) anos** a partir da data de sua assinatura.

#### Condicionantes desta autorização:

1. Esta Autorização não isenta a pesquisadora da necessidade de solicitar outras anuências, no que couber, para a realização das atividades em tela.
2. A pesquisadora deverá entrar em contato com a administração do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - CPRJ para agendar as atividades previstas e conhecer as normas de uso da mesma, pelos contatos: [silviabm.inea@gmail.com](mailto:silviabm.inea@gmail.com) / [pissinatticprj@globo.com](mailto:pissinatticprj@globo.com) ou (21) 3633-2205 / (21) 3633-2190.
3. A pesquisadora deverá apresentar ao Inea uma cópia impressa e outra digital de cada relatório semestral da atividade de pesquisa, bem como do relatório final, das publicações e de qualquer outro material produzido relativo ao trabalho de pesquisa na referida unidade do Inea, conforme disposto na Portaria nº IEF/RJ/PR 227/2007.
4. Os relatórios de atividades deverão ser entregues no formato estabelecido pelo Inea, a ser encaminhado por *e-mail*.
5. A pesquisadora deverá citar o nome do Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - CPRJ e do Instituto Estadual do Ambiente – Inea nos produtos decorrentes deste trabalho.
6. A pesquisadora deverá dar entrada no pedido de renovação da Autorização de Pesquisa 07 (sete) dias antes de seu término, caso necessite dar continuidade à pesquisa.
7. Fica a pesquisadora comprometida a apresentar a Autorização de Pesquisa, acompanhada do documento de identificação oficial com foto dos membros da equipe presentes, quando estiver em trabalho no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - CPRJ e for solicitada por servidor(a) do Inea.
8. Fica a pesquisadora comprometida a executar exclusivamente o que foi previsto no projeto de pesquisa aprovado pelo Inea, e a comunicar qualquer alteração do projeto antes de sua execução, devidamente justificada, para prévia aprovação.

9. Esta autorização não exime a pesquisadora de cumprir o disposto sobre o acesso ao patrimônio genético.

10. A inobservância das determinações relacionadas, bem como qualquer intervenção não autorizada no Centro de Primatologia do Rio de Janeiro - CPRJ, implicará na suspensão total ou parcial da referida Autorização, e na aplicação de sanções administrativas previstas na Lei Estadual nº 3.467/2000 e na Lei 9.605/1998.

**Leandro Luiz Gomes**

Diretor

Diretoria de Biodiversidade, Áreas Protegidas e Ecossistemas - DIRBAPE

ID. 5115434-0



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Luiz de Jesus Gomes, Diretor**, em 27/06/2022, às 00:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento nos art. 21º e 22º do [Decreto nº 46.730, de 9 de agosto de 2019](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.fazenda.rj.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=6](http://sei.fazenda.rj.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=6), informando o código verificador **34916899** e o código CRC **5BAC7204**.

**Referência:** Caso responda este Ofício, indicar expressamente o Processo nº SEI-070002/007181/2022

SEI nº 34916899

Avenida Venezuela, 110 - Bairro Saúde, Rio de Janeiro/RJ, CEP 20081-312

Telefone:

## ANEXO II

### *Leontopithecus rosalia*

Registro	Nascimento	Óbito	Comprimento Corporal (cm)
MP711	22/09/1986	25/10/1989	22,5
MP750	02/03/1987	27/02/1990	24,0
MP860	21/09/1989	18/07/1991	22,3
MP883	21/09/1989	16/10/1991	23,1
MP1392	-	15/05/1999	20,2
MP2359	11/09/2016	15/09/2018	22,9
MP1580	-	20/05/2004	21,7
MP1550	-	-	23,2
MP1361	-	-	21,8
MP2277	-	-	24,1

### *Leontopithecus chrysomelas*

Registro	Nascimento	Óbito	Comprimento Corporal (cm)
MP1913	02/11/1994	18/11/2012	26,8
MP1942	19/10/1996	30/11/2013	22,9
MP1929	-	26/07/2013	24,2
MP2003	20/12/2004	08/09/2014	25,2
MP2413	20/10/2005	14/09/2019	23,7
MP1915	-	20/12/2012	20,4
MP2375	06/09/2011	30/07/2017	23,7
MP2030	15/02/2013	03/10/2014	24,8
MP1945	29/09/2013	20/12/2013	17,0
MP2406	-	-	23,1

### *Leontopithecus chrysopygus*

Registro	Nascimento	Óbito	Comprimento Corporal (cm)
MP909	14/10/1982	15/01/1992	25,5
MP1477	18/11/1990	13/12/2001	26,0
MP1348	25/11/1990	20/09/1998	23,2
MP1107	19/10/1994	14/07/1995	21,4
MP1338	14/07/1996	13/09/1998	24,9
MP1349	16/09/1996	21/09/1998	23,8
MP1339	10/09/1997	14/09/1998	19,3
MP2354	11/10/1997	26/03/2018	25,7
MP2089	21/10/2001	09/04/2015	25,0
MP1397	-	13/07/1999	26,0