



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Zoologia

UnB

Variação morfológica das genitálias femininas de lagartos da família Tropiduridae: forma, evolução e deslocamento de caracter

Sara Evelin Cesar de Oliveira
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Julia Klaczko

Brasília-DF
2021



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Zoologia

UnB

SARA EVELIN CESAR DE OLIVEIRA

Varição morfológica das genitálias femininas de lagartos da família
Tropiduridae: forma, evolução e deslocamento de carácter

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia da Universidade de Brasília como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestra em Zoologia.

Orientadora: Dr.^a.Julia Klaczko

Brasília
2021

Ao amor da minha vida, Sirlei, minha mãe

“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é a hora de entender mais, temer menos.”

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Nesse período de trabalho e aprendizagem pude contar com muitas pessoas, as quais gostaria de agradecer.

Primeiramente agradeço à minha orientadora professora Dr.^a Julia Klaczko, pelo tempo que se dedicou a me orientar durante esses anos, pelos conselhos, por ótimos momentos de troca de conhecimentos, e além disso, por sempre estar ali disponível para uma conversa sempre que precisei.

Ao professor Dr. André Carvalho, por todo apoio, conselhos e incentivo.

Aos meus queridos colegas Welington Coelho e Larissa Assis pelo auxílio na ida à campo para coleta dos espécimes e Anderson De-Lima pelas dicas estatísticas. Um agradecimento especial ao Welington que sempre atendia aos meus pedidos de socorro para fazer as fotos deste trabalho e à Larissa por dividir comigo os medos, a insegurança e os momentos de alegria desde o início dessa jornada.

Às professoras Dr.^a Angele Martins e Dr.^a Veronica Slobodian, por todo ensinamento e que também foram à campo comigo, foram dias incríveis de muito aprendizado.

À minha família por sempre me apoiar, em especial à minha mãe (Sirlei) e minha avó (Alzira) por todo amor e estímulo.

Ao meu companheiro de vida Érico, pela compreensão, paciência, amor e companheirismo nessa jornada.

Aos colegas do 'Anato Team' (LACV), uma família que vou levar sempre comigo. Em especial à Luísa Machado, pelas conversas e pela amizade. A agitação da reta final só nos uniu ainda mais, onde pude contar muito com seu apoio.

Agradeço ainda, à CAPES, pela bolsa de mestrado concedida, ao Decanato de Pós-Graduação da Universidade de Brasília e ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia (UnB), pelos apoios financeiros que possibilitaram o desenvolvimento dessa pesquisa.

RESUMO

A genitália masculina vem sendo amplamente estudada, uma vez que mostra considerável variação morfológica entre os animais com fertilização interna. Por outro lado, pouco se sabe sobre a morfologia da genitália feminina. A genitália feminina tem sido negligenciada em diversos estudos seja por ser uma estrutura interna, de difícil acesso, ou pela percepção recorrente de ser uma estrutura de pouca ou nenhuma variação morfológica. Estudos recentes com genitália feminina apontam para uma variação maior que a esperada inicialmente, e uma clara coevolução entre estruturas masculinas e femininas, devido à interação direta na reprodução, podendo a evolução da genitália feminina ser motivada inclusive por conflitos sexuais. Técnicas que descrevam quantitativamente a variação morfológica observada, como a morfometria geométrica e estudos de padrões alométricos, são ferramentas poderosas para descrever e comparar estruturas morfológicas e vem demonstrando o quão a genitália feminina varia. Nessa dissertação, estudamos a morfologia genital feminina de espécies do gênero *Tropidurus*. *Tropidurus* é um gênero amplamente estudado, formado por grupos monofiléticos de espécies, com ampla distribuição e recente diversificação. Espécies do gênero podem ser encontradas em simpatria e sintopia em algumas regiões do Brasil, o que torna o grupo um excelente modelo para estudos de anatomia comparativa e deslocamento de caracteres genitais. Nesse estudo descrevemos qualitativamente e quantitativamente a variação da genitália feminina em diferentes níveis taxonômicos: entre grupos de espécies monofiléticos, entre espécies, dentro de uma espécie na variação ontogenética, e entre espécies próximas em um gradiente geográfico. Nosso estudo fornece uma discussão sobre a evolução da genitália feminina de lagartos, mostrando que a forma da genitália feminina varia, mesmo em espécies proximamente relacionadas e sugerindo que a ontogenia desempenha um papel importante na variação da forma genital feminina em lagartos tropidurídeos. Nosso trabalho sugere, ainda, que a competição interespecífica influencia o deslocamento de caráter na genitália feminina do grupo.

ABSTRACT

The male genitalia has been broadly studied, as it shows considerable morphological variation between animals with internal fertilization. On the other hand, little is known about the morphology of female genitalia. The female genitalia has been neglected in several studies, either because it is an internal structure, difficult to access, or because of the recurrent perception that it is a structure with little or no morphological variation. Recent studies with female genitalia point to a greater variation than initially expected, and a clear co-evolution between male and female structures, due to direct interaction in reproduction, and the evolution of female genitalia may even be motivated by sexual conflicts. Techniques that quantitatively describe observed morphological variation, such as geometric morphometry and studies of allometric patterns, are powerful tools for describing and comparing morphological structures and have demonstrated how much female genitalia vary. In this dissertation, we study the morphology of female genitalia of species belonging to the genus *Tropidurus*. *Tropidurus* is a broadly studied genus, formed by monophyletic groups of species, with wide distribution and recent diversification. Species of the genus can be found in sympatry and sympatry in some regions of Brazil, which makes the group an excellent model for studies of comparative anatomy and displacement of genital characters. In this study we describe qualitatively and quantitatively the variation of female genitalia at different taxonomic levels: between groups of monophyletic species, between species, within a species in ontogenetic variation, and between closely related species in a geographic gradient. Our study provides a discussion of the evolution of female genitalia in lizards, showing that female genitalia shape varies even in closely related species and suggesting that ontogeny performs an important role in female genital shape variation in tropidurid lizards. Our work also suggests that interspecific competition influences the character displacement in the female genitalia of the group.

TABELAS, FIGURAS E APÊNDICE

TABELAS

Capítulo I - Variação da genitália feminina em Tropidurus (Wied, 1825) (Squamata: Tropiduridae)

Tabela 1 – Lista da amostragem das espécies de *Tropidurus* utilizadas e grupos a que pertencem.....29

Tabela 2 – Lista dos dados coletados na literatura relacionados à maturidade sexual das espécies de *Tropidurus* utilizadas, indicando o CRC, por espécie, da menor fêmea sexualmente madura.....30

Tabela 3 – Resumo das medidas dos traços vaginais: comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....35

Tabela 4 – Contribuição das variáveis lineares para cada eixo da PCA. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....40

Tabela 5 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. aff. torquatus*, *T. sp. nov.*, *T. hispidus* e *T. oreadicus*. b = coeficiente alométrico; r^2 = coeficiente de determinação e P = significância de inclinação diferente de 1.....42

Tabela 6 – Descrição dos resultados da ANCOVA para os traços. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....45

Tabela 7 – Comparações dos traços entre as espécies, valores de p . Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....45

Tabela 8 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. oreadicus*. b = coeficiente alométrico; r^2 = coeficiente de determinação e P = significância de inclinação diferente de 1.....51

Tabela 9 – Descrição dos resultados da ANCOVA para os traços, referentes à ontogenia. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....51

Capítulo II – Variação interespecífica da genitália feminina em espécies simpátricas de Tropidurus (Wied, 1825) (Squamata: Tropiduridae)

Tabela 1 – Lista da amostragem das espécies utilizadas.....67

Tabela 2 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. aff. torquatus* e *T. hispidus* em estado de sintopia. *b* = coeficiente alométrico; *r*² = coeficiente de determinação e *P* = significância de inclinação diferente de 1.....75

Tabela 3 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. aff. torquatus* e *T. hispidus* de todas as localidades. *b* = coeficiente alométrico; *r*² = coeficiente de determinação e *P* = significância de inclinação diferente de 1.....75

Tabela 4 – Descrição dos resultados da ANCOVA para os traços de *T. aff. torquatus* e *T. hispidus*. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....76

FIGURAS

Capítulo I - Variação da genitália feminina em Tropidurus (Wied, 1825) (Squamata: Tropiduridae)

Figura 1 – Espécies de interesse. A- *Tropidurus hispidus* (foto: Carvalho et al., 2013); B- *T. itambere* (foto: Wellington Coelho); C- *T. montanus* (Foto: Laurie Vitt, The Reptile Database); D- *T. oreadicus* (foto: Wellington Coelho); E- *T. torquatus* (foto: Wellington Coelho); F- *T. sp. nov.* (foto: Wellington Coelho) e G- *T. xanthochilus* (foto: Wellington Coelho).....28

Figura 2 – Relações filogenéticas de *Tropidurus* (Carvalho et al., 2013), com destaque para os espécimes utilizados nesse trabalho. Com triângulo espécie representante do grupo *spinulosus* e em círculo grupo *torquatus*.....28

Figura 3 – A- Fêmea após retirada da vagina, mostrando corte superficial em Y invertido. B- Pele rebatida, evidenciando a retirada da genitália.....30

Figura 4 – Marcos anatômicos e medições da face dorsal da genitália feminina. A- Marcos anatômicos (1-6) e semi-marcos (7-16). B- Medidas lineares. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR). Indivíduo: *T. aff. torquatus* (MTR29784). Escala: 1mm.....33

Figura 5 – Aspecto da forma geral da vagina (face dorsal). A- *T. hispidus* (MTR29835); B- *T. itambere* (LACV3849); C- *T. montanus* (MTR30457); D- *T. oreadicus* (LACV3858); E- *T. aff. Torquatus* (MTR29784); F- *T. sp. nov.* (LACV3842); G- *T. xanthochilus* (LACV3852). Escala 1mm.....36

Figura 6 - Variação morfoespacial da vagina em *Tropidurus*.....37

Figura 7 – Análise de Componentes Principais das médias por espécie. Forma em preto representa a média das formas e em azul as variações de cada extremo.....38

Figura 8 – Gráfico de regressão PC1 pelo Log do tamanho do centroide. As elipses representam intervalo de confiança de 0.7.....	39
Figura 9 – Distribuição das espécies em relação ao tamanho dos traços e contribuição das variáveis lineares para cada eixo da PCA. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....	39
Figura 10 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....	41
Figura 11 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais da alometria evolutiva. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....	44
Figura 12 – Variação dos traços entre espécies. A- do comprimento dos cornos urodeais (FUC); B- comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR) e C- comprimento total da genitália feminina (FIGL).....	46
Figura 13 – Aspecto da forma geral da vagina de <i>Tropidurus oreadicus</i> . A- juvenil; B- adulto. Escala 1mm.....	47
Figura 14 – Variação morfoespacial da vagina de juvenis e adultas de <i>T. oreadicus</i> . Dados separados por categoria de tamanho, em vermelho as fêmeas adultas e em azul as juvenis.....	48
Figura 15 – Gráfico de regressão PC1 pelo Log do tamanho do centroide. As elipses representam intervalo de confiança de 0.7.....	49
Figura 16 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais de <i>Tropidurus oreadicus</i> . Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).....	50
Figura 17 – Variação dos traços entre o nível de maturidade. A- comprimento dos cornos urodeais (FUC), B- comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR) e C- comprimento total da genitália feminina (FIGL) na ontogenia.....	52

Capítulo II – Variação interespecífica da genitália feminina em espécies simpátricas de Tropidurus (Wied, 1825) (Squamata: Tropiduridae)

Figura 1 – Mapa da distribuição dos espécimes analisados.....	67
Figura 2 – Aspecto da forma geral da vagina de <i>T. aff. torquatus</i> e <i>T. hispidus</i> . A- <i>T. aff. torquatus</i> (MTR30463) de Curvelo (sintopia); B- <i>T. hispidus</i> (MTR29805) de Curvelo (sintopia); C- <i>T. aff. torquatus</i> (MTR29784) grupo externo e D- <i>T. hispidus</i> (MTR29835) grupo externo. Escala 1mm.....	70
Figura 3 – Variação morfoespacial da vagina de <i>T. aff. Torquatus</i> e <i>T. hispidus</i> . A - Dados referentes aos espécimes simpátricos em Curvelo. B - Dados dos indivíduos em simpatria e demais localidades.....	72

Figura 4 – Gráfico de regressão PC1 pelo Log do tamanho do centroide. A- Indivíduos em sintopia e B- Indivíduos em sintopia e grupo externo. As elipses representam intervalo de confiança de 0.7.....	73
Figura 5 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais de <i>Tropidurus aff. torquatus</i> e <i>T. hispidus</i>	74
Figura 6 – Variação do traço comprimento dos cornos urodeais (FUC) entre as espécies. A- Comparação entre indivíduos de Curvelo B- Comparação entre indivíduos de todas as localidades.....	76
Figura 7 –Variação do traço comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR) entre as espécies. A- Comparação entre indivíduos de Curvelo B- Comparação entre indivíduos de todas as localidades.....	77
Figura 8 – Variação do traço comprimento total da genitália feminina (FIGL) entre as espécies. A- Comparação entre indivíduos de Curvelo B- Comparação entre indivíduos de todas as localidades.....	77

APÊNDICE

Apêndice I. Coleções consultadas e espécimes analisados.....	86
--	----

SUMÁRIO

1. Agradecimentos.....	V
2. Resumo.....	VI
3. Abstract.....	VII
4. Tabelas, figuras e apêndice.....	VIII
5. Introdução Geral.....	13
6. Objetivos.....	18
7. Literatura Citada.....	19
8. Capítulo I – Variação da genitália feminina em <i>Tropidurus</i> (Wied, 1825) (Squamata: Tropiduridae).....	24
9. Introdução.....	25
10. Materiais e métodos.....	29
11. Resultados.....	34
12. Discussão e Conclusão.....	53
13. Literatura Citada.....	57
14. Capítulo II – Variação interespecífica da genitália feminina em espécies simpátricas de <i>Tropidurus</i> (Wied, 1825) (Squamata: Tropiduridae).....	62
15. Introdução.....	63
16. Materiais e Métodos.....	67
17. Resultados.....	70
18. Discussão e Conclusão.....	78
19. Literatura Citada.....	80

INTRODUÇÃO GERAL

A função da genitália de animais com fecundação interna, a princípio, é a transferência de espermatozoides até o local de fecundação dos óvulos (Torres-Dowdall et al., 2020). Ainda assim é comum encontrar uma grande quantidade de variação morfológica na genitália masculina, mesmo entre espécies intimamente relacionadas, o que extrapola o papel básico de fecundar (Torres-Dowdall et al., 2020). Como resultado, a morfologia da genitália masculina em animais de fecundação interna é amplamente estudada e utilizada como caráter taxonômico em diferentes grupos de animais (Flowers & Eberhard, 2006). Compreender as causas dessa variação tem sido um dos principais objetivos no estudo da biologia, e várias hipóteses evolutivas foram propostas para explicar seu grau de elaboração, como as hipóteses de chave e fechadura, pleiotropia e seleção sexual (Eberhard, 1985; Arnqvist, 1997; Arnqvist & Danielsson, 1999; Hosken & Stockley, 2004; Eberhard, 2010; Gasparini et al., 2011).

A genitália feminina é pouco estudada quando comparada com a genitália masculina e estudos sobre essa estrutura são geralmente voltados à coevolução das genitálias (Eberhard, 1985; Arnqvist & Rowe, 2005; Simmons, 2014; Brennan & Prum, 2015; Brennan, 2016). Além de ser uma estrutura interna, de difícil acesso, a vagina é uma estrutura de tecido mole, muitas vezes considerada uma estrutura de pouca ou nenhuma variação morfológica (Eberhard, 1985). Atualmente, diversos estudos vêm trazendo a genitália feminina como protagonista, mostrando que esse órgão não é tão invariável como o imaginado e deve ter um papel fundamental na evolução e coevolução da forma e tamanho das genitálias (Brennan et al., 2007; Evans et al., 2011; Simmons & Garcia-Gonzalez, 2011; Yassin & Orgogozo, 2013; Showalter et al., 2014; De-Lima et al., 2019).

Uma vez que para haver sucesso reprodutivo é necessário a compatibilidade entre as genitálias masculina e feminina no momento da cópula, hipóteses de evolução das genitálias sugerem um processo coevolutivo, que pode resultar da seleção intersexual (Böhme & Ziegler, 2009), conflito sexual (King et al., 2009), ou mecanismos de chave-fechadura (Pope, 1941).

A ideia de que a seleção sexual influencia a evolução genital foi extensivamente desenvolvida por Eberhard (1985, 1997, 1998, 2001) no contexto da seleção sexual pós-cópula. Esta hipótese sugere que a forma e o tamanho genital estão sob seleção

através do sucesso da fertilização. Três mecanismos de seleção sexual são evocados com mais frequência: escolha críptica da fêmea (Eberhard, 1985); conflito sexual (Lloyd, 1979) e competição espermática (Waage, 1979).

Conflitos sexuais ocorrerão sempre que não houver monogamia genética estrita e a reprodução custar caro (Rice & Holland, 1997; Parker, 1979; Lessells, 1999). Dada a grande ocorrência de ambas as condições, o conflito sexual é abundante e pode favorecer características que aumentam a aptidão de um sexo, mesmo quando custoso para o outro. Portanto, genitais masculinos elaborados podem ser o resultado de uma corrida armamentista evolutiva entre machos e fêmeas na luta pelo controle sobre a reprodução (Rice & Holland, 1997), embora evidências recentes sugiram que a divergência genital generalizada não seja o resultado de conflito por acasalamento em si (Eberhard, 2004).

Em aves aquáticas, a morfologia vaginal elaborada (que pode envolver dobras complexas e vários sacos cegos) coevoluiu com o comprimento do falo masculino, que coevoluiu com a frequência de cópulas forçadas. Assim, essas adaptações vaginais podem ter evoluído como um mecanismo anatômico de escolha críptica da fêmea em espécies nas quais são comuns as tentativas de cópula forçada para fornecer um mecanismo anatômico para bloquear ou limitar a penetração do órgão intromitente (Brennan, et al. 2007).

Visto isso, a rápida evolução da genitália feminina pode ser motivada também por conflitos sexuais, como resposta, por exemplo aos machucados de fêmeas durante a cópula (Ah-King et al., 2014). A análise comparativa do subgrupo de espécies de *Drosophila melanogaster* revelou a rápida evolução de estruturas parecidas com bolsas no trato genital feminino, que evoluíram para acomodar os espinhos igualmente em rápida evolução na genitália masculina e evitar ferimentos da fêmea durante a cópula (Kamimura, 2007). Algo parecido também acontece nos besouros de semente, os machos com espinhos maiores no pênis causam mais danos às fêmeas durante o acasalamento. A análise filogenética do grupo, realizada com sete espécies (*Callosobruchus maculatus*, *C. subinnotatus*, *C. analis*, *C. rhodesianus*, *C. chinensis*, *C. phaseoli* e *Zabrotes subfasciatus*), mostra que as fêmeas desenvolveram uma contra-adaptação aos espinhos, aumentando a quantidade de tecido conjuntivo estrutural em seu trato genital, reduzindo assim a extensão das feridas pelos machos (Ronn et al., 2007). Então, é necessário explorar o impacto desses ornamentos masculinos na genitália feminina e suas contra-adaptações

evolutivas, para assim, conseguir melhor entender as funções dessas ornamentações (Ah-King et al., 2014).

A anatomia macroscópica do trato reprodutivo de fêmeas em Squamata (serpentes e lagartos) foi primeiramente descrita em trabalhos que datam de meados do século XIX (Giacomini, 1893; Fox, 1977). Desde então, poucos estudos descrevem a anatomia topográfica e histológica (a saber, Blackburn, 1998). Sánchez-Martínez e seus colaboradores (2007) foram os primeiros pesquisadores a fazerem um trabalho comparativo histológico da genitália feminina em Squamata. Showalter et al. (2014) descreveram a variação morfológica da genitália feminina em duas espécies de cobra d'água intimamente relacionadas. Seus resultados mostraram variação interespecífica e intraespecífica, ressaltando que a genitália feminina varia mais do que inicialmente reconhecido.

Recentemente De-Lima et al. (2019) descreveram e compararam as genitálias masculinas e femininas de *Tropidurus torquatus*. Os resultados demonstraram possível efeito de seleção sexual na forma da genitália, sendo a variação dos traços hemipenianos possivelmente relacionada pela ação da escolha críptica da fêmea e coevolução das genitálias.

Muitas metodologias são utilizadas para descrever e comparar a forma e a morfometria geométrica é uma delas. Esta metodologia tem como objetivo descrever e representar a forma das estruturas estudadas, identificando as regiões onde ocorrem mudanças e, representando graficamente tais mudanças da forma (Fornel, 2005). Essas descrições baseiam-se em pontos de referência, denominados marcos anatômicos, que se caracterizam como pontos de correspondência presentes em cada objeto, que coincidem entre e dentro das populações estudadas (Dryden & Mardia, 1998). As coordenadas desses pontos de referência em estruturas homólogas, sejam de duas ou três dimensões, são as variáveis que capturam as informações sobre a geometria das estruturas estudadas.

No espaço de forma, a menor distância entre a referência e a configuração do alvo, chamada de distância de Procrustes, é a medida crucial em todas as análises morfométricas geométricas (Mutanen & Pretorius, 2007). O método usa conjuntos de coordenadas bidimensionais ou tridimensionais de marcos anatômicos, que são sobrepostos eliminando efeitos de posição, escala e orientação. Para eliminar os efeitos de tamanho da forma, os chamados tamanhos de centroide (raiz quadrada das somas das distâncias quadradas de um conjunto de marcos anatômicos a partir de

seu centroide) são calculados para configurações dos marcos e descreve o tamanho geral de um objeto de forma confiável (Zelditch et al., 2004; Mutanen & Pretorius, 2007; Silveira, 2011).

Uma outra maneira de comparar traços morfológicos, não utilizando apenas o tamanho do traço, mas sua proporção em relação ao tamanho do corpo, é a alometria. Alometria refere-se às taxas de crescimento diferenciadas das partes do corpo de um dado organismo em relação ao tamanho total do indivíduo (Gayon 2000; Shingleton et al., 2008). Há uma premissa de que o tamanho de diferentes traços morfológicos esteja fortemente correlacionado com o tamanho do corpo, com relações de escala que frequentemente seguem uma lei de potência ($Y = \alpha X^b$), se a equação alométrica for linearizada obtém-se uma transformação logarítmica: $\log Y = \alpha + b \log X$. Os parâmetros α e b são intercepto e o coeficiente alométrico, respectivamente. O α indica como o tamanho de uma característica varia com o tamanho total do organismo ou com o tamanho de outra estrutura, e b indica diferença na proporção de tamanho da estrutura avaliada (Silva, 2015).

O atributo analisado pode exibir isometria, alometria positiva ou negativa, dependendo de sua taxa de crescimento. Isometria é quando o traço cresce proporcionalmente ao tamanho total do corpo, e o coeficiente alométrico é igual a 1. Alometria positiva ocorre quando a estrutura exibe uma taxa de crescimento maior do que o esperado pelo tamanho do corpo, e dessa forma, apresenta o coeficiente alométrico maior que 1. Finalmente, alometria negativa ocorre quando indivíduos maiores da população apresentam o traço estudado comparativamente menor do que o esperado pelo tamanho do corpo, e apresentam o coeficiente alométrico menor que 1.

A seleção sexual é usualmente considerada um fator que favoreça a evolução dos traços alométricos positivos, visto que o tamanho maior da característica confere diretamente um benefício durante a competição sexual e a escolha dos machos pelas fêmeas, o que resulta em maior seleção direcional no tamanho do traço do que no tamanho corporal, um exemplo clássico é a galhada de cervos (Bonduriansky & Day, 2003; Bonduriansky, 2007; Eberhard et al., 2009). Estudos do padrão alométrico da genitália masculina de insetos e aracnídeos mostraram que recorrentemente essas estruturas apresentam alometria negativa. Este evento foi discutido por Eberhard (1985) que sugeriu a hipótese de seleção sexual “*one-size-fit-all*”, onde o tamanho da

genitália masculina se mantém populacionalmente constante para se adaptar ao tamanho médio da genitália feminina.

A análise dos padrões alométricos em caracteres hemipenianos em lagartos de duas linhagens irmãs de *Anolis* mostraram que cada linhagem apresentou um padrão alométrico: uma das subespécies com alometria negativa para os traços analisados, enquanto a outra apresentou isometria (Klaczko & Stuart 2015). De forma semelhante, *Tropidurus torquatus* apresentou alometria negativa para vários traços hemipenianos analisados, e a genitália feminina todos os traços vaginais apresentam alometria negativa (De-Lima et al. 2019). Ambos trabalhos levantam uma discussão do papel da escolha críptica feminina na seleção sexual dos traços hemipenianos, corroborando ainda mais sobre a importância de se conhecer a anatomia da genitália feminina

O gênero sul americano *Tropidurus* (Wied-Neuwied, 1825) apresenta 30 espécies (Carvalho et al., 2018), que ocorrem predominantemente em áreas abertas, (Rodrigues, 1987; Vitt, 1993; Carvalho, 2013). O gênero é extensamente estudado, tendo a sua ecologia, fisiologia e reprodução já descritos na literatura para a maioria das espécies. Além disso, em algumas regiões do Brasil, espécies diferentes do gênero ocorrem em simpatria, tornando-se um modelo interessante para estudos de anatomia comparativa e deslocamento de caráter (“*character displacement*”).

Considerando que *Tropidurus* é um grupo diverso, com especiação recente, nós hipotetizamos que existe variação na forma e tamanho da genitália feminina, para tanto dividimos esta dissertação em dois capítulos. O primeiro capítulo teve como objetivo de descrever e quantificar a variação morfológica inter e intraespecífica da genitália feminina de espécies do gênero *Tropidurus*. No segundo capítulo nosso objetivo foi testar se a sintopia secundária (i.e., contato secundário) entre as espécies *Tropidurus aff. torquatus* e *T. hispidus* levou a um deslocamento da morfologia da genitália feminina, potencialmente reforçando as barreiras reprodutivas. Para testar essas predições nós utilizamos os métodos de morfometria geométrica e alometria.

OBJETIVOS

Os objetivos gerais deste trabalho são:

Avaliar e descrever a presença de variação morfológica nas genitálias femininas das espécies de *Tropidurus* em diferentes níveis: intra, interespecífico e entre grupos monofiléticos do gênero.

Assim os objetivos específicos são:

- Capítulo 1

1. Avaliar e descrever a forma da genitália feminina entre espécies de *Tropidurus* usando morfometria geométrica;

2. Verificar a presença de variação de tamanho na genitália feminina entre espécies utilizando alometria;

3. Avaliar a presença de variação ontogenética da forma da genitália feminina de *Tropidurus oreadicus* usando morfometria geométrica;

4. Verificar a presença de variação ontogenética de tamanho utilizando alometria em *Tropidurus oreadicus*.

- Capítulo 2

1. Descrever a variação da forma interespecífica em duas espécies sintópicas de *Tropidurus*;

2. Verificar a presença de variação de tamanho da genitália entre espécies sintópicas de *Tropidurus*.

LITERATURA CITADA

Ah-King M, Barron AB & Herberstein ME. 2014. Genital evolution: why are females still understudied? *PLoS Biology* **12**:e1001851.

Arnqvist G. 1997. The evolution of animal genitalia: distinguishing between hypotheses by single species studies. *Biological Journal of the Linnean Society* **60(3)**: 365-379.

Arnqvist G & Danielsson I. 1999. Copulatory behavior, genital morphology, and male fertilization success in water striders. *Evolution* **53(1)**: 147-156.

Arnqvist G & Rowe L. 2005. Sexual conflict. Princeton, NJ: *Princeton University Press*.

Blackburn DG. 1998. Structure, function, and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. *The Journal of Experimental Zoology* **282**: 560–617.

Bonduriansky R & Day T. 2003. The evolution of static allometry in sexually selected traits. *Evolution* **57**: 2450-2458.

Bonduriansky R. 2007. Sexual selection and allometry: a critical reappraisal of the evidence and ideas. *Evolution* **61**: 838-849.

Böhme W & Ziegler T. 2009. A review of Iguanian and Anguimorph lizard genitalia (Squamata: Chamaeleonidae; Varanoidea, Shinisauridae, Xenosauridae, Anguidae) and their phylogenetic significance: comparisons with molecular data sets. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **47**: 189–202.

Brennan PL. 2016. Studying genital coevolution to understand intromittent organ morphology. *Integrative and comparative biology* **56(4)**: 669-681.

Brennan PLR & Prum RO. 2015. Mechanisms and evidence of genital coevolution: the roles of natural selection, mate choice and sexual conflict. In: Rice W and Gavrilets, S, editors. Sexual Conflict. Cold Spring Harbor, NY: *Cold Spring Harbor Laboratory Press*.

Brennan PLR, Prum RO, McCracken KG, Sorenson MD, Wilson RE & Birkhead TR. 2007. Coevolution of male and female genital morphology in waterfowl. *PLoS ONE* **2**: e418.

Carvalho ALG. 2013. On the distribution and conservation of the South American lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae). *Zootaxa* **3640(1)**: 42-56.

Carvalho ALG, Rivas LR, Céspedes R & Rodrigues MT. 2018. A New Collared Lizard (Tropidurus: Tropiduridae) Endemic to the Western Bolivian Andes and Its Implications for Seasonally Dry Tropical Forests. *American Museum Novitates* **3896(3896)**: 1–56. doi:10.1206/3896.1

De-Lima AKS, Paschoaletto IP, Pinho L de O Benmamman P & Klaczko J. 2019. Are hemipenial traits under sexual selection in Tropidurus lizards? Hemipenial development, male and female genital morphology, allometry and coevolution in Tropidurus torquatus (Squamata: Tropiduridae). *PLOS ONE* **14(7)**: e0219053. doi:10.1371/journal.pone.0219053

Dryden IL & Mardia KV. 1998. Statistical shape analysis. *John Wiley & Sons*, New York. 347 p.

Eberhard WG. 1985. Sexual selection and animal genitalia. Harvard University Press.

Eberhard WG. 1997. Sexual selection by cryptic female choice in insects and arachnids. In *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids* (Choe, J.C. and Crespi, B.J., eds), pp. 32–57, *Cambridge University Press*.

Eberhard WG, Uber BA, Odriguez RL, Riceno RD, Alas I & Odriguez V. 1998. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. *Evolution* **52**: 415–431.

Eberhard WG. 2001. Species-specific genitalic copulatory courtship in sepsid flies (Diptera: Sepsidae, Microsepsis) and theories of genitalic evolution. *Evolution* **55**: 93–102.

Eberhard WG. 2004. Male–female conflict and genitalia: failure to confirm predictions in insects and spiders. *Biological Reviews* **79(1)**: 121-186.

Eberhard WG. 2010. Evolution of genitalia: theories, evidence, and new directions. *Genetica* **138**:5–18.

Eberhard W, Rodriguez RL & Polihronakis M. 2009. Pitfalls in understanding the functional significance of genital allometry. *Journal Evolution Biology* **22**: 435–445.

Evans JP, Gasparini C, Holwell GI, Ramnarine IW, Pitcher TE & Pilastro, A. 2011. Intraspecific evidence from guppies for correlated patterns of male and female genital trait diversification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **278(1718)**: 2611-2620.

Flowers RW & Eberhard WG. 2006. Fitting together: copulatory linking in some Neotropical Chrysomeloidea. *Revista de biología tropical* **54(3)**: 829-842.

Fornel R. 2005. Estudo da variação morfológica craniana entre quatro blocos populacionais de Ctenomys lami (Rodentia, Ctenomyidae) através de morfometria

geométrica. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 78 p.

Fox H. 1977. The urogenital system of reptiles. *Biology of the Reptilia*. C. Gans, ed. Academic Press, New York **6**: 1–157. lizards (Iguania: Tropicuridae). *American Museum novitates* **3033**: 68.

Gasparini C, Pilastro A & Evans JP. 2011. Male genital morphology and its influence on female mating preferences and paternity success in guppies. *PLoS One* **6(7)**: e22329.

Gayon J. 2000. History of the concept of allometry. *American Zoology* **40**: 748-758.

Giacomini E. 1893. Sull' ovidutto del Sauropsidi. *Monitore Zoologico Italiano* **4**: 202–265.

Hosken DJ & Stockley P. 2004. Sexual selection and genital evolution. *Trends in Ecology & Evolution* **19(2)**:87-93.

Kamimura Y. 2007. Twin intromittent organs of *Drosophila* for traumatic insemination. *Biology Letters* **3**: 401–404.

King RB, Jadin RC, Grue M & Walley HD. 2009. Behavioral correlates with hemipenis morphology in New World natricine snakes. *Biological Journal of the Linnaean Society* **98**: 110–120.

Klaczko J & Stuart Y. 2015. Hemipenial Allometry in *Anolis grahami*. *Journal of Herpetology* **49(3)**: 462–467. doi:10.1670/13-152

Lessells CM. 1999. Sexual conflict in animals. In *Levels of Selection in Evolution* (Keller, L., ed.), pp. 75–99, *Princeton University Press*.

Lloyd JE. 1979. Mating behavior and natural selection. *Florida Entomologist* **62**: 17–34.

Mutanen M & Pretorius E. 2007. Subjective visual evaluation vs. traditional and geometric morphometrics in species delimitation: a comparison of moth genitalia. *Systematic Entomology*, **32(2)**:371–386. doi:10.1111/j.1365-3113.2006.00372.x

Parker GA. 1979. Sexual selection and sexual conflict. In: Blum MS, Blum NA, editors. *Sexual selection and reproductive competition in insects*. Academic Press. pp. 123–166.

Pope CH. 1941. Copulatory adjustment in snakes. *Field Museum of Natural History, Zoology Series* **24**: 249–252.

- Rice WR & Holland B. 1997.** The enemies within: intergenomic conflict, interlocus contest evolution (ICE), and the intraspecific Red Queen. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **41**:1–10.
- Rodrigues MT. 1987.** Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia* 105–230.
- Rodrigues, MT. 2005.** Herpetofauna da Caatinga. Ecologia e Conservação da Caatinga (Leal, IR; Tabarelli, M; Silva, JMPC, Eds). PP. 181-236.
- Ronn J, Katvala M & Arnqvist G. 2007.** Coevolution between harmful male genitalia and female resistance in seed beetles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**: 10921–10925.
- Sánchez-Martínez PM, Ramírez-Pinilla MP & Miranda-Esquivel DR. 2007.** Comparative histology of the vaginal–cloacal region in Squamata and its phylogenetic implications. *Acta Zoologica* **88(4)**: 289-307.
- Shingleton AW, Mirth CK & Bates PW. 2008.** Developmental model of static allometry in holometabolous insects. *The Royal Society* **275**: 1875–1885.
- Showalter I, Todd BD & Brennan PL. 2014.** Intraspecific and interspecific variation of female genitalia in two species of watersnake. *Biological Journal of the Linnean Society* **111(1)**: 183-191.
- Silva DS. 2015.** Descrição, função e evolução dos tarsos protorácicos em heliconíneos (Lepidoptera, Nymphalidae). Unpublished Ph.D. Dissertation. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 88p.
- Silveira BD. 2011.** Morfometria geométrica comparativa de asas de Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense: uma ferramenta eficaz para a identificação? Tesis de maestria, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 76 p. Unpublished.
- Simmons LW. 2014.** Sexual selection and genital evolution. *Austral Entomology* **53(1)**: 1-17.
- Simmons LW & Garcia-Gonzalez F. 2011.** Experimental coevolution of male and female genital morphology. *Nature communications* **2(1)**: 1-6.
- Torres-Dowdall J, Rometsch SJ, Kautt AF, Aguilera G & Meyer A. 2020.** The direction of genital asymmetry is expressed stochastically in internally fertilizing anablepid fishes. *Proceedings of the Royal Society B* **287(1930)**: 20200969.
- Vitt LJ. 1993.** Ecology of isolated open-formation *Tropidurus* (Reptilia:Tropiduridae) in Amazonian lowland rain forest. *Canadian Journal of Zoology* **71**:2370–2390.

Waage JK. 1979. Dual function of the damselfly penis: sperm removal and transfer. *Science* 916–918.

Yassin A & Orgogozo V. 2013. Coevolution between male and female genitalia in the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *PloS one* **8(2)**.

Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD & Fink WL. 2004. Geometric morphometrics for biologists: a primer. New York & London: *Elsevier Academic Press*.

CAPÍTULO I

**Varição da genitália feminina em *Tropidurus* (Wied-Neuwied, 1825)
(Squamata: Tropiduridae)**

INTRODUÇÃO

A grande diversidade da genitália masculina, e em menor escala a genitália feminina, vem sendo extensivamente estudada e muitas hipóteses foram postuladas com o intuito de descrever a origem e manutenção dessa diversidade morfológica, como as hipóteses de chave e fechadura Dufour (1844), pleiotropia (Mayr, 1963) e seleção sexual (Eberhard, 1985; 1997; 1998; 2001).

A hipótese de chave e fechadura foi proposta por Dufour (1844) e propõe que a divergência da genitália entre espécies diferentes ocorra para evitar a hibridização. Neste caso as genitálias incompatíveis não teriam sucesso na reprodução e isso resultaria em uma rápida evolução das genitálias complementares em machos (chave) e fêmeas (fechadura) dentro das espécies (Dufour 1844; Shapiro & Porter 1989). Impulsionando, assim, a coevolução dessas genitálias o que reduzia a probabilidade de acasalamento interespecífico.

Apesar dessa hipótese ter sido amplamente apoiada pelos taxonomistas durante um longo período de tempo, não é consistente com evidências baseadas na morfologia do trato reprodutivo feminino, encaixe das genitálias durante a cópula, variação intraespecífica na morfologia da genitália ou variação geográfica na genitália de uma mesma espécie (Hosken & Stockley, 2004).

Já a hipótese de pleiotropia (Mayr, 1963), também conhecida como evolução neutra, sugere que os órgãos genitais evoluem indiretamente através da seleção de outras características que são geneticamente correlacionadas. Essa ideia é apoiada pela evidência de que os efeitos dos genes pleiotrópicos podem influenciar a genitália (Arnqvist & Thornhill, 1998).

A pleiotropia na perspectiva da genitália feminina, sugere que a genitália pode se diversificar devido a bases genéticas de desenvolvimento compartilhadas com a genitália masculina, que evoluem rapidamente por razões diferentes. Essa visão está em contraste com a hipótese da pleiotropia para a evolução da genitália masculina, que tem como base correlações genéticas com outros traços não genitais, essa hipótese visa estreitamente as correlações genéticas entre os genitais masculinos e femininos (Langerhans et al., 2016).

A ideia de que a seleção sexual influencia a evolução genital foi extensivamente desenvolvida por Eberhard (1985, 1997, 1998, 2001) no contexto da seleção sexual

pós-cópula. Esta hipótese sugere que a forma e o tamanho genital estão sob seleção através do sucesso da fertilização. Três mecanismos de seleção sexual são evocados com mais frequência: 1) escolha críptica da fêmea (Eberhard, 1985), qualquer processo ou estrutura pós-cópula controlado por fêmeas, que influencia a paternidade em relação aos machos que têm um certo fenótipo quando as fêmeas acasalam com mais de um macho (Hosken & Stockley, 2004); 2) conflito sexual (Lloyd, 1979), onde a morfologia genital resulta de um conflito sobre o controle da fertilização entre machos e fêmeas; e 3) competição espermática, onde a variação na genitália masculina influencia o sucesso da fertilização através da colocação ou deslocamento de espermatozoides (Waage, 1979).

A anatomia macroscópica do trato reprodutivo de fêmeas em Squamata (serpentes e lagartos) foi primeiramente descrita em trabalhos que datam de meados dos séculos XIX e XX (Giacomini, 1893; Fox, 1977). Desde então, poucos estudos descrevem a anatomia topográfica e histológica (a saber, Blackburn, 1998). Entre eles, está o de Sánchez-Martínez e seus colaboradores (2007), que investigaram a genitália feminina em Squamata e identificaram as regiões do complexo vagino-cloacal para o grupo, que inclui a região da transição útero-vagina, vagina, cavidade cloacal, bexiga urinária, ureteres e a região final do trato digestivo. A cavidade cloacal é constituída de três regiões delimitadas segundo suas características histológicas: urodeum (cavidade cloacal anterior que une os esfíncteres vaginais por meio de tubérculos genitais em diferentes níveis da cavidade urodeal), coprodeum (ou região anal é um esfíncter que liga a porção distal do trato intestinal à região ventral da cloaca) e proctodeum (porção mais distal da cloaca que se comunica com o exterior e pode apresentar glândulas secretoras). O urodeum pode variar, apresentando uma forma simples ou bífida, de acordo com a extensão dos dois prolongamentos (cornos urodeais).

Siegel et al. (2012) analisaram genitálias femininas de 26 famílias de serpentes. Neste trabalho identificaram três características da “bolsa” com variação morfológica (bifurcada, separada ou simples). Ainda nesse trabalho eles fazem considerações acerca da evolução da estrutura dentro do grupo.

Mais recentemente, Showalter et al. (2014) examinaram a genitália feminina de duas espécies de cobra d'água (*Nerodia fasciata* e *N. sipedon*) e observaram que a variação morfológica na vagina feminina está fortemente correlacionada com a

ontogenia e a maturação sexual, e que a vagina é diferente nessas duas espécies intimamente relacionadas.

Apesar desses trabalhos supracitados, estudos comparativos da genitália feminina ainda são negligenciados e escassos, entre os motivos está a dificuldade de acesso e preparação dessas estruturas, e a ideia de que, por ser uma estrutura interna, de tecido mole, não apresentasse variação como a genitália masculina. Dessa forma, existe um desbalanço entre o conhecimento geral sobre evolução das genitálias e uma lacuna sobre os processos que geram e mantem a diversidade morfológica destas estruturas (Hosken & Stockley 2004; Showalter et al., 2014).

A família Tropiduridae está distribuída na América do Sul, Caribe e Galápagos (Silva & Araujo, 2008). Entre os gêneros da família Tropiduridae, *Tropidurus* (Wied-Neuwied, 1825) apresenta cerca de 30 espécies (Carvalho et al., 2018), que ocorrem predominantemente em áreas abertas, restritas a América do Sul (Rodrigues, 1987; Vitt, 1993; Carvalho, 2013). As espécies são descritas como onívoras, com estratégias alimentares do tipo senta-e-espera (Araujo, 1987; Van Sluys, 1993, 1995). Possuem na maioria dos casos, um ciclo reprodutivo sazonal, com reprodução na estação chuvosa e desova na seca (Van Sluys, 1993; Wiederhecker et al., 2002).

O gênero foi dividido em quatro grupos monofiléticos, baseado em uma filogenia com caracteres morfológicos e moleculares: *bogerti*, *spinulosus*, *semitaeniatus* e *torquatus* (Frost et al., 2001).

Afim de saber se existe variação da forma e tamanho das genitálias femininas entre grupos monofiléticos e entre espécies de *Tropidurus*, nós examinamos a vagina de 7 espécies de 2 grupos monofiléticos, a saber, grupo *spinulosus*: *T. xanthochilus* (Harvey & Gutberlet, 1998) e *T. sp. nov.*; grupo *torquatus*: *T. hispidus* (Spix, 1825), *T. itambere* (Rodrigues, 1987), *T. montanus* (Rodrigues, 1987), *T. oreadicus* (Rodrigues, 1987) e *T. aff. torquatus* (Wied-Neuwied, 1820) (Figura 1). A Figura 2 mostra a relação filogenética das espécies de *Tropidurus*, e em destaque as espécies utilizadas nesse estudo, com exceção de *T. sp. nov.*, que não está incluída nessa filogenia.

Para responder se existe variação ontogenética intraespecífica na genitália feminina analisamos espécimes de *Tropidurus oreadicus*, separadas em duas classes de tamanho, segundo a maturação sexual.



Figura 1 – Espécies de interesse. A- *Tropidurus hispidus* (foto: Carvalho et al., 2013); B- *T. itambere* (foto: Wellington Coelho); C- *T. montanus* (Foto: Laurie Vitt, The Reptile Database); D- *T. oreadicus* (foto: Wellington Coelho); E- *T. torquatus* (foto: Wellington Coelho); F- *T. sp. nov.* (foto: Wellington Coelho) e G- *T. xanthochilus* (foto: Wellington Coelho).

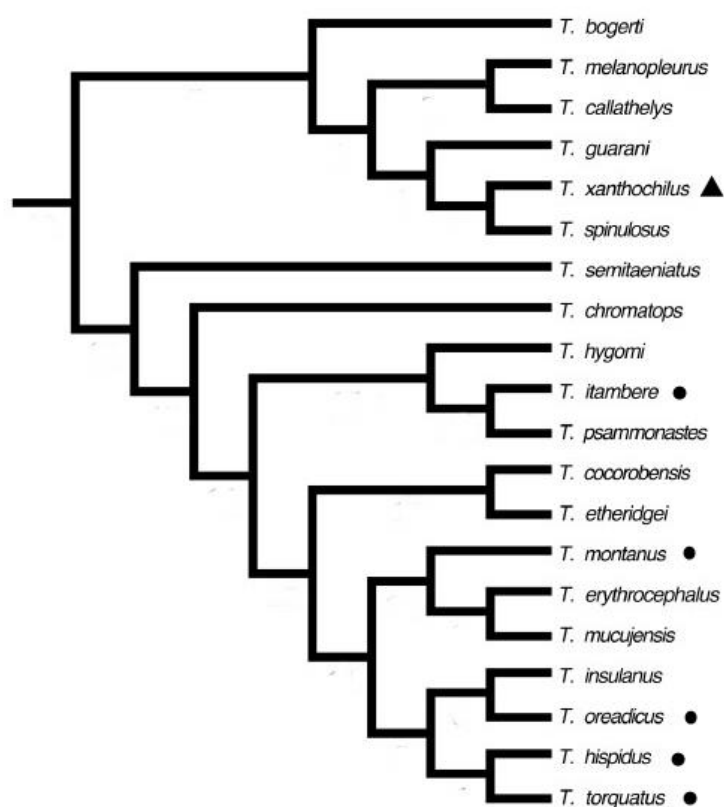


Figura 2 – Relações filogenéticas de *Tropidurus* (Carvalho et al., 2013), com destaque para os espécimes utilizados nesse trabalho. Com triângulo espécie representante do grupo *spinulosus* e em círculo grupo *torquatus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem dos táxons

-Variação interespecífica

Analisamos as genitálias femininas de sete espécies de dois grupos do gênero *Tropidurus*, provenientes das coleções do Laboratório de Anatomia Comparativa de Vertebrados (LACV) da Universidade de Brasília (UnB), do Laboratório de Herpetologia da Universidade de São Paulo (USP) e Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) (Tabela 1).

Tabela 1 – Lista da amostragem das espécies de *Tropidurus* utilizadas e grupos a que pertencem.

Grupo	Espécie	N
<i>Gr. torquatus</i>	<i>T. aff. torquatus</i>	33
	<i>T. hispidus</i>	23
	<i>T. oreadicus</i>	6
	<i>T. itambere</i>	2
	<i>T. montanus</i>	2
<i>Gr. spinulosus</i>	<i>T. sp. nov.</i>	5
	<i>T. xanthochilus</i>	1

A determinação das espécies dos indivíduos coletados foi realizada por André de Carvalho e todos os espécimes analisados foram considerados adultos, com a maturação identificada pelo tamanho (CRC) utilizando como referência os seguintes trabalhos: *Tropidurus torquatus* (Wiederhercker et al., 2002); *T. hispidus* (Vitt et al., 1996); *T. oreadicus* (Meira et al., 2007); *T. itambere* (Faria & Araujo, 2004); *T. montanus* (Van Sluys et al., 2002) (Tabela 2). Para as espécies *T. xanthochilus* e *T. sp. nov.*, utilizamos como base o menor CRC para fêmea sexualmente madura encontrado nos trabalhos supracitados.

Tabela 2 – Lista dos dados coletados na literatura relacionados à maturidade sexual das espécies de *Tropidurus* utilizadas, indicando o CRC, por espécie, da menor fêmea sexualmente madura.

Espécie	CRC	Trabalho
<i>T. aff. torquatus</i>	65 mm	Wiederhecker et al., 2002
<i>T. hispidus</i>	56 mm	Vitt et al., 1996;
<i>T. oreadicus</i>	58 mm	Meira et al., 2007
<i>T. itambere</i>	52 mm	Faria & Araujo, 2004
<i>T. montanus</i>	56.5 mm	Van Sluys et al., 2002

- Variação ontogenética

Analisamos genitálias femininas de 12 indivíduos da espécie *Tropidurus oreadicus* de fêmeas categorizadas em dois grupos de acordo com seu tamanho (6 juvenis: CRC de até 57 mm; 6 adultas: 58mm em diante) segundo Meira, et al. (2007).

Preparo das genitálias

A cloaca e o trato genital foram removidos através de uma incisão na região pélvica. Para tanto foi necessário fazer um corte superficial na pele traçando a forma de Y invertido até próximo a região da cintura pélvica e delicadamente contornando a abertura cloacal. O tegumento foi deslocado cuidadosamente para preservar sua característica. Com o auxílio de uma tesoura a pelve foi rompida para acesso à genitália. Utilizando uma pinça, segurando na base da cloaca, foi realizada a remoção da genitália, fazendo uma incisão no ponto que identificamos o final dos cornos urodeais (Figura 3).

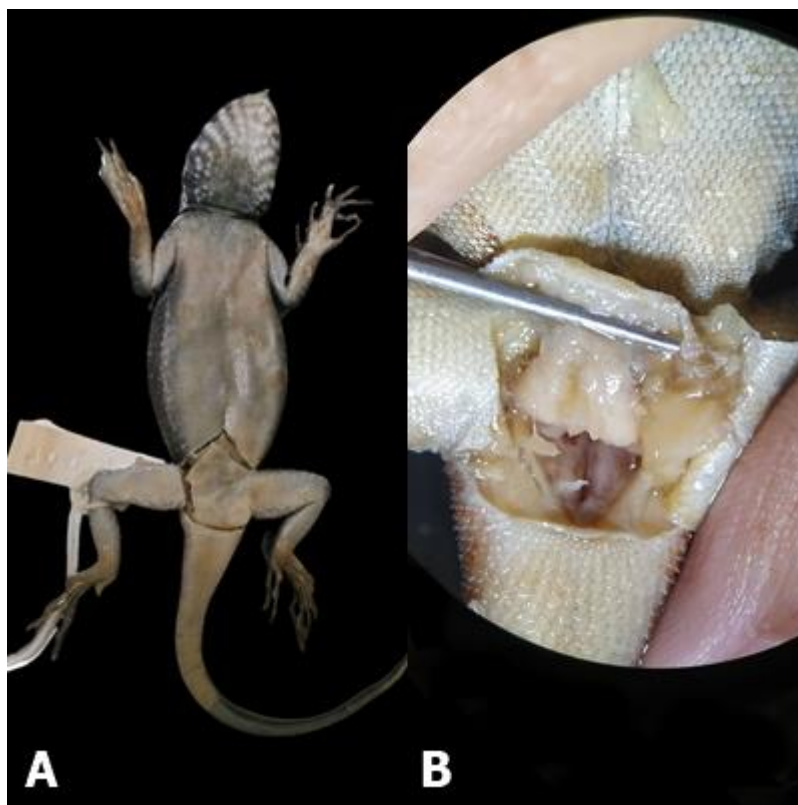


Figura 3 – A- Fêmea após retirada da vagina, mostrando corte superficial em Y invertido. B- Pele rebatida, evidenciando a retirada da genitália.

Após retiradas, as vaginas foram seccionadas longitudinalmente, lavadas e, então, limpas de tecidos conectivos, músculos e trato digestivo e mantidas em álcool 70% para análise interna. A face dorsal foi fotografada utilizando câmera (Canon 40D, objetiva EF 100mm f/2.8 macro USM, Macro Close-up Raynox Dcr-250) através do Software Helicon Remote (versão 3.9.7 W).

- Análise e descrição das genitálias

Descrição qualitativa

Foi feita descrição detalhada utilizando o artigo Sánchez-Martinez et al. (2007) para nomenclatura morfológica de vagina.

Análise de morfometria geométrica

Afim de descrever a variação na forma das genitálias digitalizamos seis marcos, seguindo os pontos definidos por Showalter et al. (2014) utilizando o tpsDig versão 2.22 (Rohlf, 2015) (figura 4A), após importar as imagens com o tpsUtil versão 1.64 (Rohlf, 2013). Os marcos incluem as bordas externas dos arcos cloacais (3 e 5), o

ponto médio entre os arcos cloacais logo abaixo da escama cloacal ventral (4), o ponto médio da conexão entre o oviduto e a vagina (1) e o ponto médio entre as duas conexões do oviduto (cornos) (2 e 6). Também usamos 10 semi-marcos (7-16) entre os marcos de referência, afim de analisar o contorno das vaginas (Figura 4A).

Usando o tpsRelw versão 1.61 (Rohlf, 2015) foram geradas grades de deformação para que a variação da forma da genitália seja melhor observada. As coordenadas alinhadas resultantes para os marcos e semi-marcos foram usadas para análises adicionais de forma em MorphoJ (Klingenberg, 2011). A sobreposição de procrustes para minimizar as diferenças entre os indivíduos com base na posição, rotação e escala (Adams et al., 2004), a visualização do morfoespaço que separa os espécimes por espécie, gerar os principais componentes (PCs), ANOVA de Procrustes e análise de regressão foram realizadas no MorphoJ.

Análise de alometria

Utilizando o Software Image J (1.53e) (Schneider et al. 2012) nas imagens digitais obtidas foram medidos os seguintes traços: comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento dos cornos urodeais (FUC) e comprimento total da cloaca feminina (FIGL) (Figura 4B). Também foram obtidos dados do comprimento rostro-cloacal (CRC) de cada espécime usando paquímetro.

No software R (R Core Team, 2019), nós geramos uma Análise de Componentes Principais (PCA) a partir das medidas lineares para inferir se os tamanhos dos traços são afetados pelas espécies.

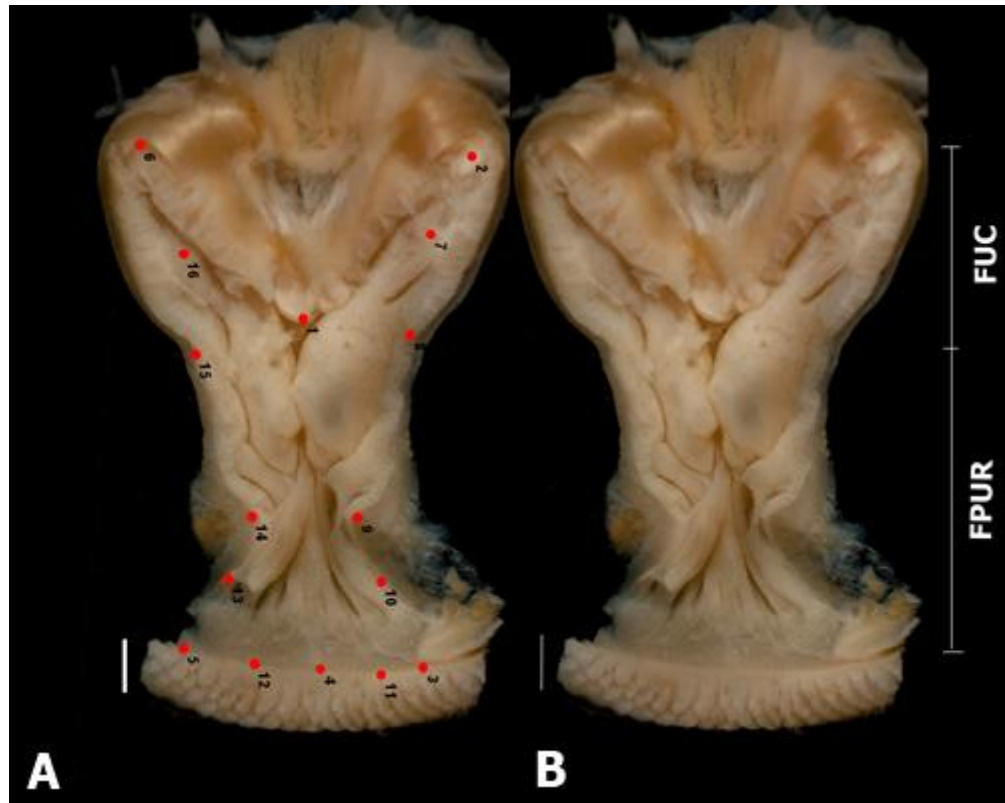


Figura 4 – Marcos anatômicos e medições da face dorsal da genitália feminina. A- Marcos anatômicos (1-6) e semi-marcos (7-16). B- Medidas lineares. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR). Indivíduo: *T. aff. torquatus* (MTR29784). Escala: 1mm.

Foi descrita a alometria ontogenética e evolutiva para as características cloacais anteriormente mencionadas. O coeficiente de alometria (b) foi estimado como a inclinação de uma regressão linear de valores de traços contra o CRC (Eberhard et al., 1998). Para cada característica, foi testado se o coeficiente de alometria é significativamente diferente da isometria ($b = 1$) usando a função de teste de inclinação no pacote *Smatr* do software R (Warton et al., 2012; R Core Team, 2019).

Foi realizada uma Análise de covariância (Ancova) para verificar se há efeito da espécie sobre os traços analisados quando controlado pelo CRC do indivíduo, também utilizando o software R (R Core Team, 2019).

RESULTADOS

- Variação em *Tropidurus*

- Descrição qualitativa

A morfologia genital feminina em *Tropidurus*, nas espécies analisadas, no geral é marcada pela sua forma em “Y”, exceto na espécie *T. xanthochilus* que apresenta uma forma em “T” (Figura 5). A seguir fazemos uma descrição detalhada por espécie analisando os indivíduos adultos:

Tropidurus hispidus apresenta vagina mais longa do que larga, cornos desenvolvidos em forma de “Y”, com certo grau de bifurcação. O lúmen cloacal mostra uma mucosa composta por aproximadamente cinco dobras, com a região proctodeal-urodeal – FPUR (caudal) medindo 4.403 ± 1.054 mm. Os cornos urodeais (FUC) apresentam um comprimento de 3.577 ± 0.772 mm, totalizando um tamanho total (FIGL) de 7.980 ± 1.574 mm (Figura 5A).

Tropidurus itambere, apresenta uma genitália bem mais curta do que as observadas para as espécies do grupo *torquatus*, exceto *T. sp. nov.* e *T. xanthochilus*, que possuem as menores genitálias analisadas. Apresenta cornos em forma de “Y”. Podemos observar cerca de 3-4 dobras na mucosa do lúmen cloacal. A região cranial, cornos urodeais (FUC) apresentam um comprimento de 2.536 ± 0.519 mm, enquanto a caudal (FPUR) mede 3.247 ± 1.408 , dando um comprimento total (FIGL) de 5.782 ± 1.926 (Figura 5B).

Já a vagina de *Tropidurus montanus* é menor do que de *T. hispidus* e *T. aff. torquatus*, porém maior que as das demais espécies. Ainda assim, ela possui bifurcação dos cornos urodeais em forma de “Y”. A mucosa do lúmen cloacal aparenta ser mais lisa, com menos dobras. Com medidas para ‘FUC’ de 3.119 ± 0.369 mm, ‘FPUR’ de 3.413 ± 0.104 mm e ‘FIGL’ 6.532 ± 0.265 mm (Figura 5C).

Tropidurus oreadicus possui um grau de bifurcação maior, quando comparado com demais espécies do grupo *torquatus*, em forma de “Y”, com cornos tendendo a ser mais separados. O lúmen cloacal também possui dobras na sua mucosa (cerca de 3), porém mais suaves. A região caudal da genitália (FPUR) mede 3.794 ± 0.885 mm, a cranial (FUC) 2.970 ± 0.662 mm e o comprimento total (FIGL) 6.765 ± 1.424 mm (Figura 5D).

Enquanto *Tropidurus aff. torquatus* possui uma vagina alongada, mas ela é mais larga em relação a genitália feminina de *T. hispidus*, e também possui bifurcação

dos cornos em “Y”. A mucosa do lúmen cloacal possui cerca de três pregas, com a região proctodeal-urodeal (FPUR) medindo 5.490 ± 1.175 mm, os cornos urodeais (FUC) com o tamanho de 3.426 ± 0.739 mm e comprimento total (FIGL) de 8.915 ± 1.699 mm (Figura 5E).

Tropidurus sp. nov. possui uma genitália comparativamente curta e possui cornos bifurcados em “Y”. O lúmen cloacal é o que mais apresentou dobras em sua mucosa (aproximadamente oito). Com medidas de ‘FUC’ de 2.453 ± 0.470 mm, ‘FPUR’ de 2.560 ± 0.488 e ‘FIGL’ de 5.013 ± 0.857 (Figura 5F).

Já *Tropidurus xanthochilus*, apresenta uma vagina muito curta, com alto grau de bifurcação, com cornos urodeais se abrindo em forma de “T”. A mucosa do lúmen cloacal possui quatro dobras e o comprimento da região caudal (FPUR) da vagina é de 1.766 mm, e o comprimento dos cornos (FUC) 0.976 mm, totalizando um tamanho total da genitália de 2.742 mm (Figura 5G).

Com isso, podemos notar na tabela 3 que a espécie *T. aff. torquatus* apresentou uma das maiores medidas para cornos urodeais – FUC (cranial) e maior região proctodeal-urodeal – FPUR (caudal) medindo 3.426 ± 0.739 e 5.490 ± 1.175 , respectivamente. Consequentemente apresentou também maior comprimento total da genitália (FIGL), medindo 8.915 ± 1.699 .

Tabela 3 – Resumo das medidas dos traços vaginais: comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Espécie	FUC	FPUR	FIGL
<i>T. hispidus</i>	3.577 ± 0.772	4.403 ± 1.054	7.980 ± 1.574
<i>T. itambere</i>	2.536 ± 0.519	3.247 ± 1.408	5.782 ± 1.926
<i>T. montanus</i>	3.119 ± 0.369	3.413 ± 0.104	6.532 ± 0.265
<i>T. oreadicus</i>	2.970 ± 0.662	3.794 ± 0.885	6.765 ± 1.424
<i>T. sp. nov.</i>	2.453 ± 0.470	2.560 ± 0.488	5.013 ± 0.857
<i>T. aff. torquatus</i>	3.426 ± 0.739	5.490 ± 1.175	8.915 ± 1.699
<i>T. xanthochilus</i>	0.976	1.766	2.742

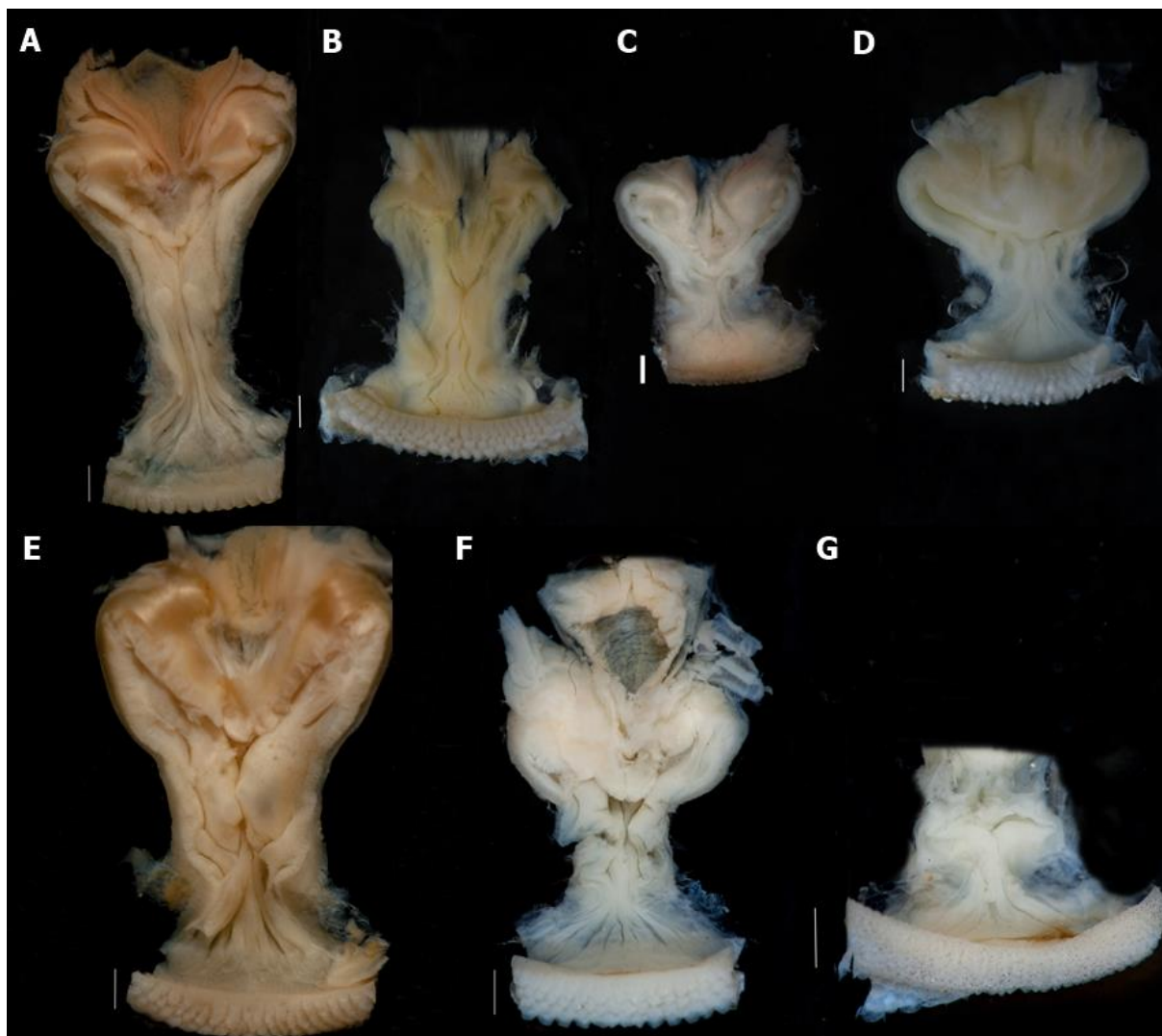


Figura 5 – Aspecto da forma geral da vagina (face dorsal). A- *T. hispidus* (MTR29835); B- *T. itambere* (LACV3849); C- *T. montanus* (MTR30457); D- *T. oreadicus* (LACV3858); E- *T. aff. Torquatus* (MTR29784); F- *T. sp. nov.* (LACV3842); G- *T. xanthochilus* (LACV3852). Escala 1mm.

- Morfometria Geométrica

Podemos observar que as espécies apresentaram diferença significativa na forma das vaginas. Os resultados das variações morfoespaciais da vagina incluindo todos os indivíduos são mostrados na Figura 6. Os três primeiros componentes da PCA explicaram 67,04 % da variação, sendo o PC1 35,25%, enquanto o PC2 19,83%. Plotamos o primeiro eixo contra o segundo, e os componentes de PC1 com valores positivos mostram vaginas mais curtas e largas, e os de valores negativos vaginas

mais alongas e estreitas. O segundo eixo descreve a variação em relação a orientação dos cornos, onde valores positivos representam vaginas com cornos urodeais em forma de “Y” e valores negativos vaginas que tendem a uma forma “T”.

As espécies analisadas, mesmo com alguma sobreposição, têm a forma da vagina diferenciada no morfoespaço. A ANOVA de Procrustes revelou que o tamanho ($P < 0.0001$) e forma ($P < 0.0001$) da genitália feminina são taxonomicamente distintas, ou seja, as espécies aqui estudadas podem ser distinguidas quando comparadas a morfologia vaginal.

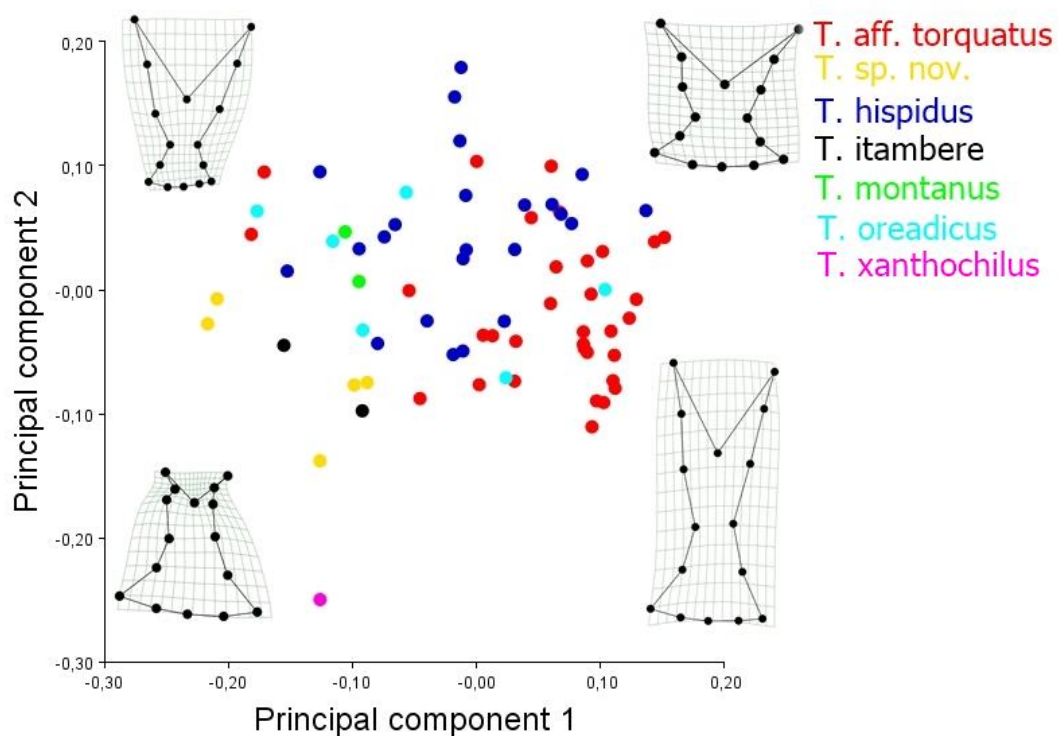


Figura 6 - Variação morfoespacial da vagina em *Tropidurus*.

Já quando fizemos a mesma análise utilizando a forma média das espécies o PC1 explicou 64,53% da variância e o PC2 20,53%. Onde podemos observar que há uma sobreposição da forma média das genitálias de *Tropidurus sp. nov.* e *T. itambere*, apresentando cornos em forma de “Y” e, em média, genitálias mais largas do que as outras espécies. *T. montanus*, *T. oreadicus* e *T. hispidus*, apresentam média das formas próximas, parecendo formar um grupo, com *T. aff. torquatus* um pouco mais afastado. *T. hispidus* e *T. aff. torquatus* apresentando em média genitália mais

alongadas e mais estreitas, com cornos urodeais bifurcados em “Y”. Enquanto *T. xanthochilus* no extremo da forma, apresenta uma vagina mais curta e alto grau de bifurcação, com cornos se abrindo em “T” (Figura 7).

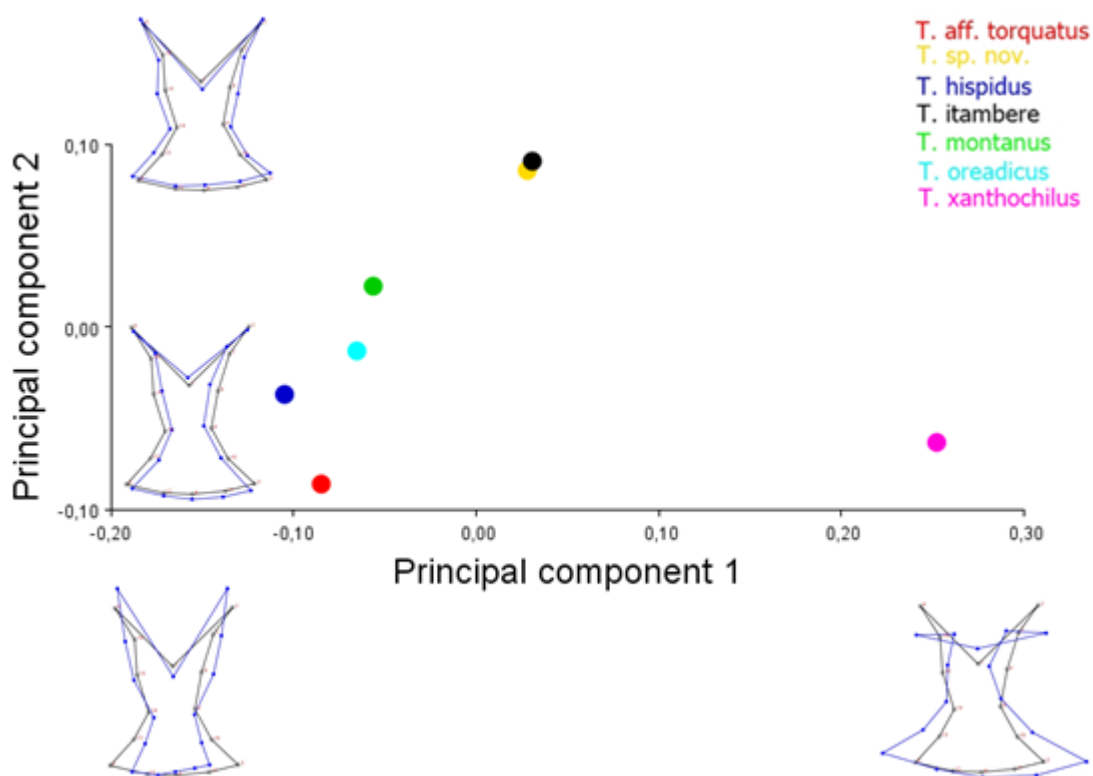


Figura 7 – Análise de Componentes Principais das médias por espécie. Forma em preto representa a média das formas e em azul as variações de cada extremo.

A análise de regressão demonstrou que 30,7% da variação da forma poderiam ser explicados pela variação no tamanho do centroide (Figura 8).

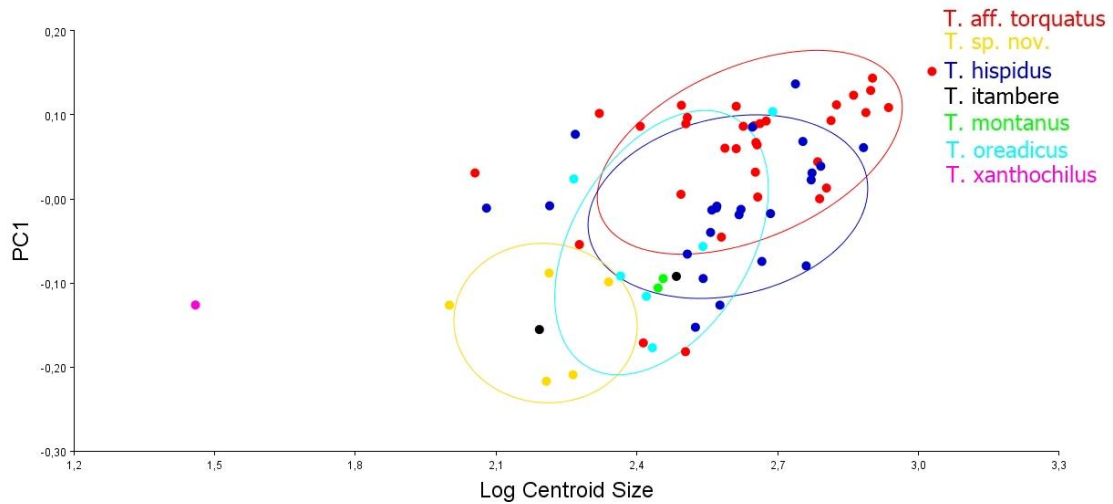


Figura 8 – Gráfico de regressão PC1 pelo Log do tamanho do centroide. As elipses representam intervalo de confiança de 0.7.

- Padrão Alométrico

Realizamos uma Análise de componentes Principais (PCA) com as medidas lineares para saber se os tamanhos dos traços separam as espécies. Onde o PC1 explicou 85.16% da variância e o PC2 explicou 14.84%. Sendo o traço FIGL com maior contribuição para o PC1 e o FUC para o PC 2 (Figura 9, Tabela 4).

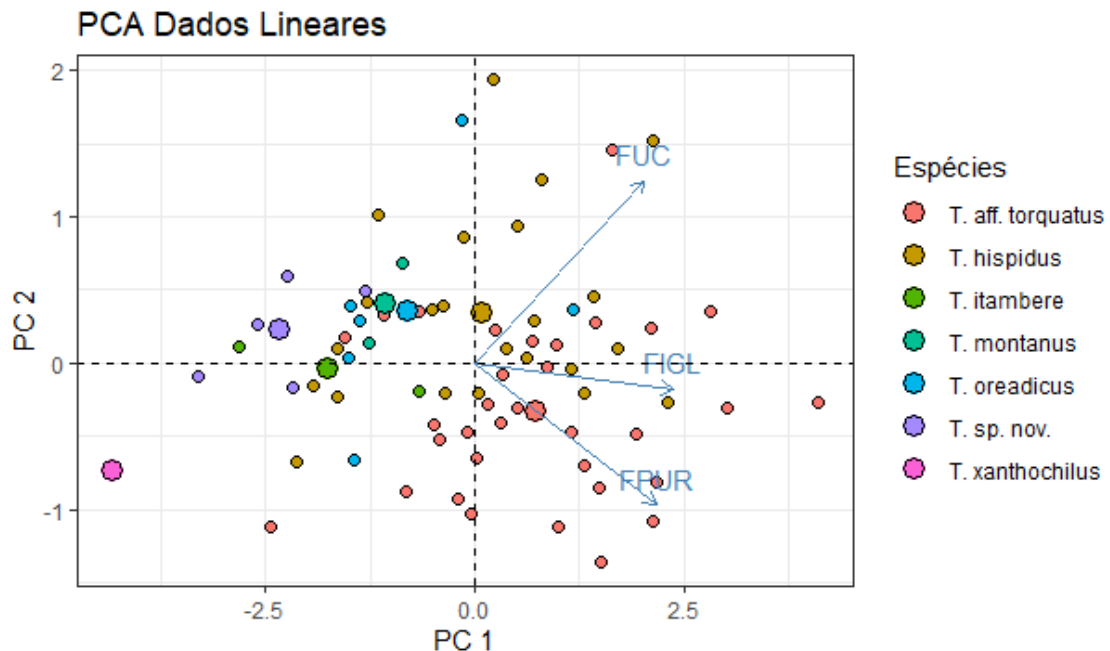


Figura 9 – Distribuição das espécies em relação ao tamanho dos traços e contribuição das variáveis lineares para cada eixo da PCA. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Tabela 4 – Contribuição das variáveis lineares para cada eixo da PCA. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL)

Traço	PC1	PC2
FUC	28.42%	61.52%
FPUR	32.65%	37.24%
FIGL	38.93%	1.24%

Para *Tropidurus aff. torquatus* e *T. hispidus* todas as características femininas analisadas apresentaram alometria positiva, com inclinações alométricas significativamente maiores de 1. Enquanto as inclinações alométricas para os traços analisados não foram significativamente diferentes de 1,0 para as espécies *T. sp. nov.* e *T. oreadicus*, indicando isometria, exceto o traço 'FUC', que apresentou alometria positiva nessa última espécie (Figura 10, Tabela 5). Para as demais espécies não foi possível estimar o coeficiente alométrico pelo baixo número de representantes.

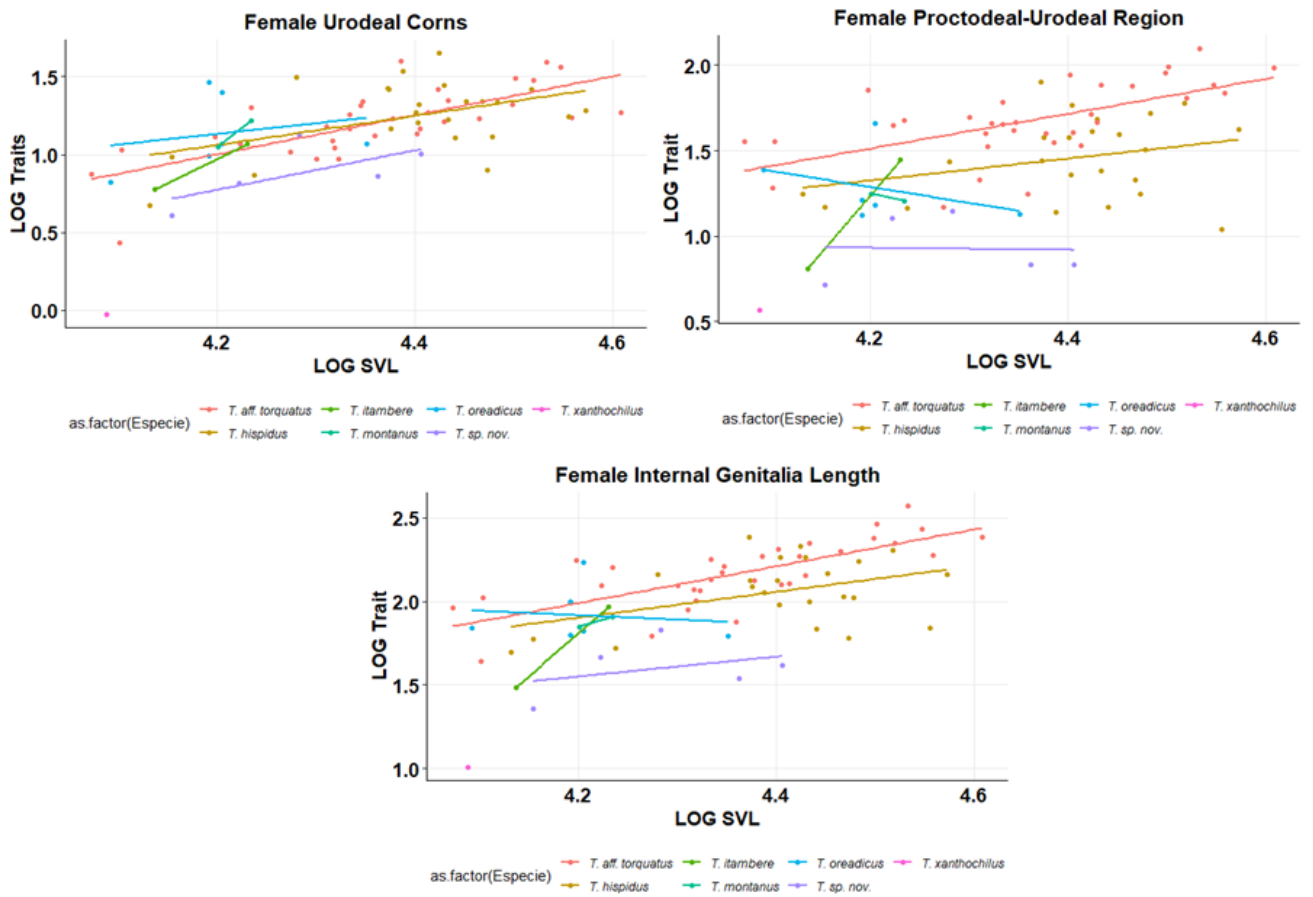


Figura 10 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Tabela 5 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. aff. torquatus*, *T. sp. nov.*, *T. hispidus* e *T. oreadicus*. *b* = coeficiente alométrico; *r*² = coeficiente de determinação e *P* = significância de inclinação diferente de 1.

Espécie	Traço	Alometria		
		<i>b</i>	<i>r</i> ²	<i>P</i>
<i>T. aff. torquatus</i>	FUC	1.738	0.519	<0.001
	FPUR	1.673	0.371	<0.001
	FIGL	1.493	0.544	0.002
<i>T. sp. nov.</i>	FUC	1.916	0.437	0.206
	FPUR	-1.847	0.001	0.340
	FIGL	1.695	0.123	0.382
<i>T. hispidus</i>	FUC	2.076	0.205	<0.001
	FPUR	2.154	0.088	<0.001
	FIGL	1.829	0.177	0.004
<i>T. oreadicus</i>	FUC	2.987	0.053	0.053
	FPUR	-2.524	0.137	0.084
	FIGL	-2.088	0.016	0.180

O gráfico da alometria evolutiva (Figura 11) mostrou que para o comprimento dos cornos urodeais (FUC) *T. aff. torquatus* demonstrou ser bem distribuído ao longo da reta da regressão, mostrando que o tamanho desse traço acompanha a variação do tamanho do corpo. *T. hispidus* também tem uma certa distribuição, mas apresenta alguns indivíduos variando o tamanho desse traço entre abaixo e a cima do esperado. *T. itambere*, mesmo com poucos indivíduos demonstra uma tendência a acompanhar a reta. Já *T. oreadicus* e *T. montanus* tendem estar acima da reta de regressão, demonstrando um crescimento maior do traço que o tamanho do corpo. Enquanto *T. sp. nov.* tem uma tendência a ficar abaixo da reta, e *T. xanthochilus* que está muito abaixo, mostrando tamanho muito menor que o esperado para esse traço vaginal em relação ao tamanho do corpo.

Para o comprimento da região proctodeal-urodeal *T. aff. torquatus* tende a ficar acima da reta de regressão, apresentando medidas de FPUR maiores do que o esperado em relação ao CRC. Enquanto *T. montanus*, *T. oreadicus*, *T. sp. nov* e *T. xanthochilus* demonstram traços menores do que o esperado em relação ao tamanho do corpo, com uma tendência a ficar abaixo da curva de regressão. *T. hispidus* também demonstrou uma tendência maior a ficar abaixo da curva, mas ainda assim, alguns indivíduos acompanharam a curva ou ficaram um pouco acima.

Da mesma maneira que 'FUC' *T. aff. torquatus* mostrou ser bem distribuído, mostrando que o comprimento total da genitália (FIGL) acompanha a variação de tamanho do corpo. *T. hispidus*, *T. sp. nov.* e *T. xanthochilus*, demonstraram tamanho menor do que esperado para esse traço em relação ao tamanho do corpo. *T. montanus* acompanhou a curva de regressão, enquanto *T. oreadicus* tende a acompanhar a curva, mas com alguns indivíduos ficando a cima. *T. itambere* tanto para 'FPUR' quanto para 'FIGL' mostra uma tendência de estar na curva ou um pouco abaixo dela.

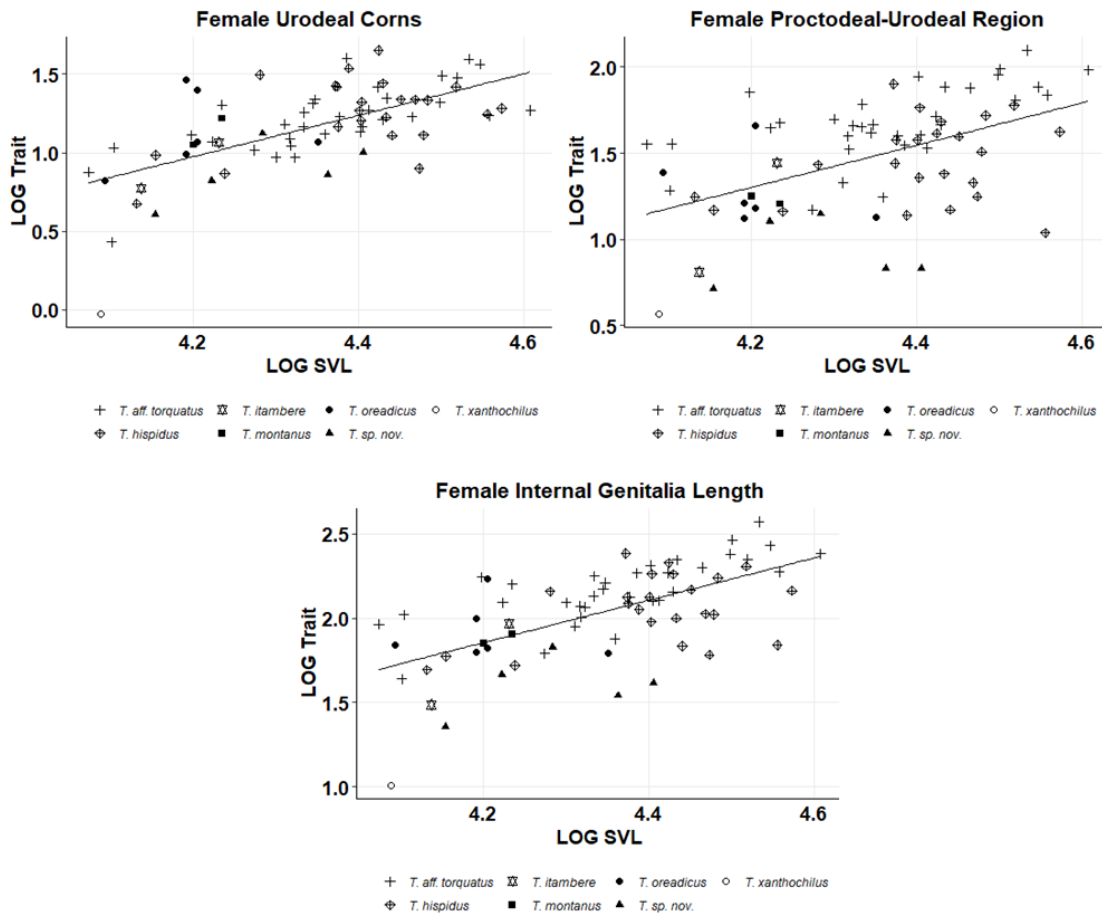


Figura 11 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais da alometria evolutiva. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

A Ancova demonstrou que há efeito da espécie sobre todos os traços quando controlado pelo CRC do indivíduo (Tabela 6). As comparações entre pares mostraram que há diferença entre os grupos, onde *T. aff. torquatus* divergiu no traço 'FUC' de *T. sp. nov.* e *T. xanthochilus* e nos traços 'FPUR' e 'FIGL' de *T. hispidus*, *T. sp. nov.* e *T. xanthochilus*. Já *T. hispidus* apresentou médias diferentes para o traço 'FUC' apenas entre *T. xanthochilus*, e além de ser diferente de *T. torquatus* nos traços 'FPUR' e 'FIGL', divergiu também de *T. sp. nov.* ('FPUR' e 'FIGL') e *T. xanthochilus* ('FPUR'). Enquanto *T. montanus* mostrou médias diferentes apenas quando comparado com *T. xanthochilus* nos traços 'FUC' e 'FIGL'. *T. oreadicus* divergiu de *T. xanthochilus* ('FUC' e 'FIGL') e *T. sp. nov.* ('FPUR' e 'FIGL'). Além das outras comparações que mostraram diferenças entre as médias *T. sp. nov.* divergiu, ainda de *T. xanthochilus* no traço 'FPUR'. Enquanto *T. itambere* apresentou média diferente apenas de *T. xanthochilus* no traço 'FUC' (Tabela 7 e Figura 12).

Tabela 6 – Descrição dos resultados da ANCOVA para os traços. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Traço	DF	DF resíduos	F	P
FUC	6	64	5.66	<0.0001
FPUR	6	64	11.40	<0.0001
FIGL	6	64	10.73	<0.0001

Tabela 7 – Comparações dos traços entre as espécies, valores de *p*. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Grupos comparados		Traço		
grupo1	grupo2	FUC	FPUR	FIGL
<i>T. aff. torquatus</i>	<i>T. hispidus</i>	1	0.0007	0.03
<i>T. aff. torquatus</i>	<i>T. itambere</i>	1	0.254	0.64
<i>T. aff. torquatus</i>	<i>T. montanus</i>	1	0.741	1
<i>T. aff. torquatus</i>	<i>T. oreadicus</i>	1	0.169	1
<i>T. aff. torquatus</i>	<i>T. sp. nov.</i>	0.23	<0.0001	<0.0001
<i>T. aff. torquatus</i>	<i>T. xanthochilus</i>	0.0003	0.003	<0.0001
<i>T. hispidus</i>	<i>T. itambere</i>	1	1	1
<i>T. hispidus</i>	<i>T. montanus</i>	1	1	1
<i>T. hispidus</i>	<i>T. oreadicus</i>	1	1	1
<i>T. hispidus</i>	<i>T. sp. nov.</i>	0.31	0.002	0.002
<i>T. hispidus</i>	<i>T. xanthochilus</i>	0.0004	0.135	0.001
<i>T. itambere</i>	<i>T. montanus</i>	1	1	1
<i>T. itambere</i>	<i>T. oreadicus</i>	1	1	1
<i>T. itambere</i>	<i>T. sp. nov.</i>	1	1	1
<i>T. itambere</i>	<i>T. xanthochilus</i>	0.01	1	0.06
<i>T. montanus</i>	<i>T. oreadicus</i>	1	1	1
<i>T. montanus</i>	<i>T. sp. nov.</i>	0.77	0.971	0.34
<i>T. montanus</i>	<i>T. xanthochilus</i>	0.0007	0.740	0.01
<i>T. oreadicus</i>	<i>T. sp. nov.</i>	0.07	0.034	0.005
<i>T. oreadicus</i>	<i>T. xanthochilus</i>	<0.0001	0.177	0.0007
<i>T. sp. nov.</i>	<i>T. xanthochilus</i>	0.03	1	0.64

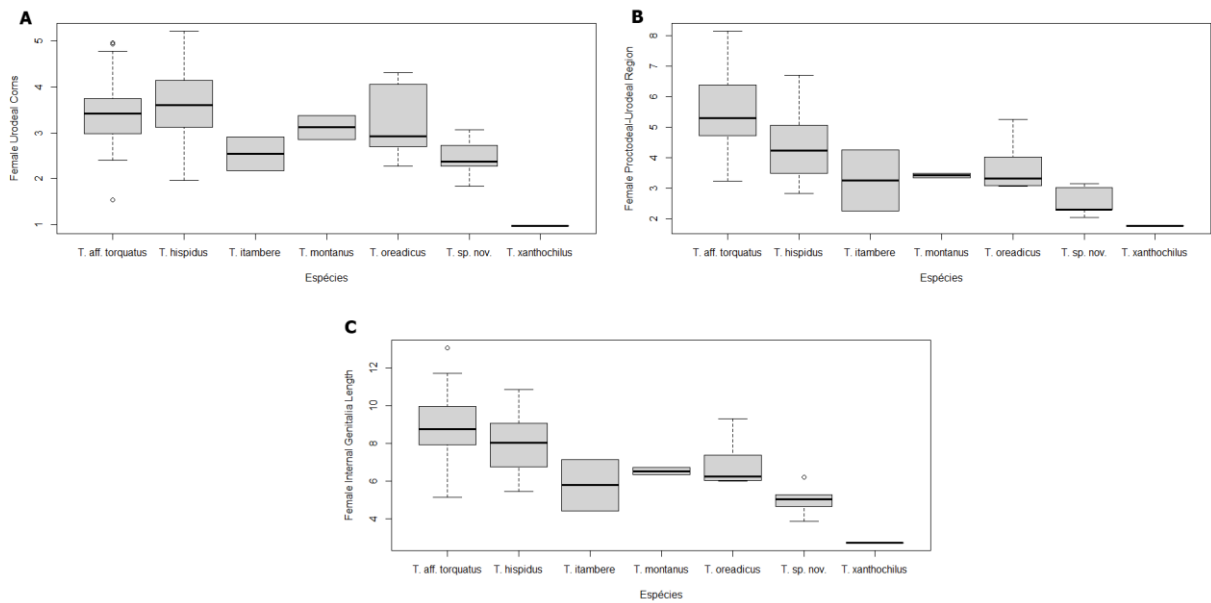


Figura 12 – Variação dos traços entre espécies. A- do comprimento dos cornos urodeais (FUC); B- comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR) e C- comprimento total da genitália feminina (FIGL).

- Ontogenia

A forma da genitália feminina de *Tropidurus oreadicus* apresenta uma grande variação durante o desenvolvimento e maturação como mostrado na Figura 13. Podemos observar que a diferença que mais chama atenção está nos cornos, onde juvenis apresentam a bifurcação menos proeminente do que as adultas. A região caudal não apresenta tanta variação e tanto juvenis quanto adultas apresentam dobras na mucosa do lúmen cloacal.

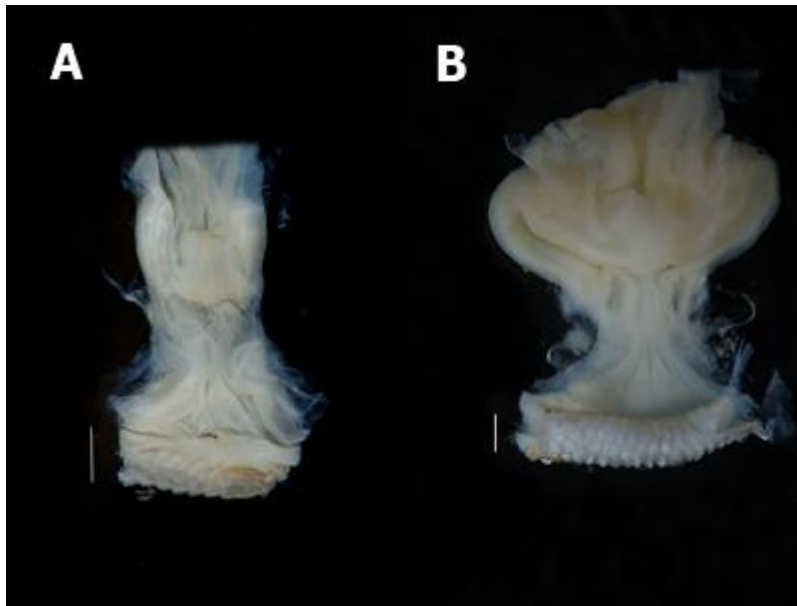


Figura 13 – Aspecto da forma geral da vagina de *Tropidurus oreadicus*. A- juvenil; B- adulto. Escala 1mm.

- *Morfometria Geométrica*

Os resultados variações morfoespaciais da vagina, separados por maturidade, são mostrados na Figura 14. Os três primeiros componentes principais descreveram 78,12% da variação total da forma das vaginas, sendo o PC1 responsável por 40,53% da variância, enquanto o PC2 28,91%. Plotamos então PC1 versus PC2, e o gráfico separou indivíduos adultos de juvenis de acordo com a forma da genitália. O primeiro eixo descreveu a variação no comprimento da vagina e grau de bifurcação dos cornos urodeais, com valores positivos demonstrando vaginas mais curtas e mais bifurcadas, e valores negativos vaginas mais longas com menor grau de bifurcação. O segundo eixo descreve a variação na largura, onde valores positivos representam vaginas mais estreitas e valores negativos vaginas mais alargadas.

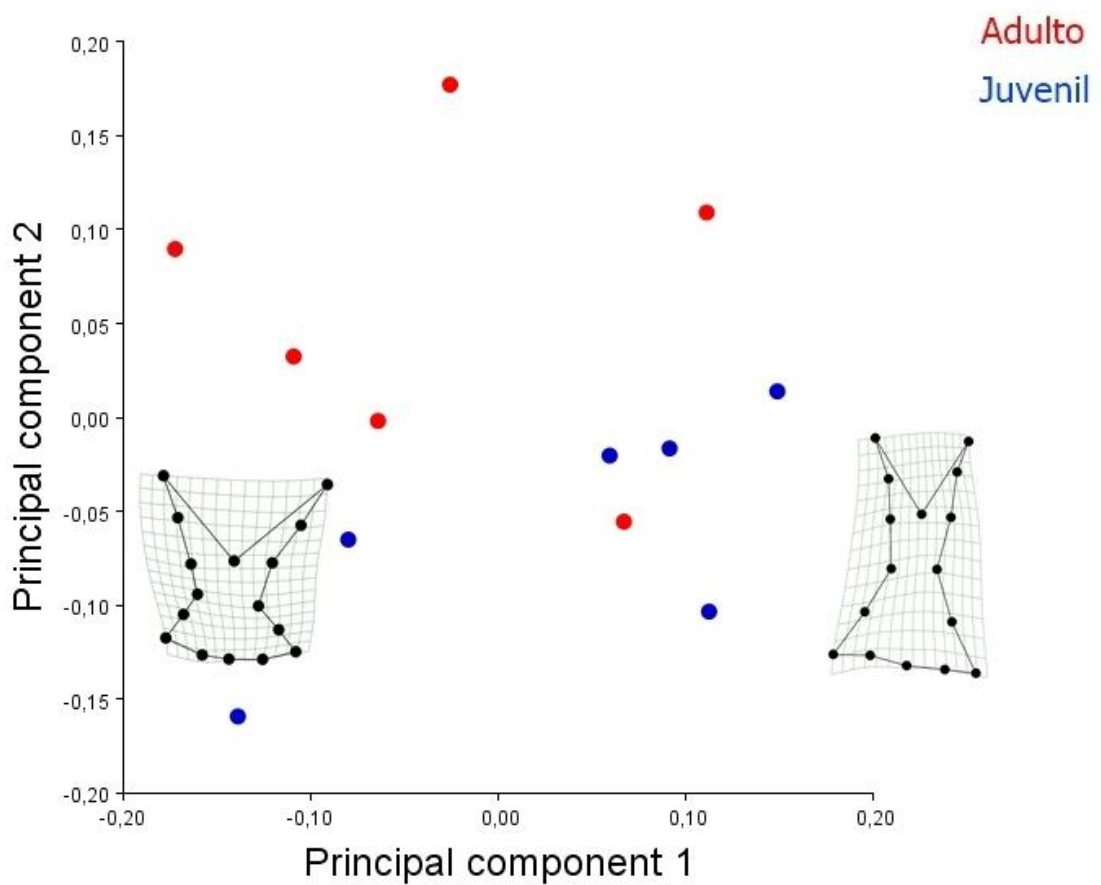


Figura 14 – Variação morfoespacial da vagina de juvenis e adultas de *T. oreadicus*. Dados separados por categoria de tamanho, em vermelho as fêmeas adultas e em azul as juvenis.

A análise de regressão demonstrou que apenas 0,7% da variação são explicados pela variação do tamanho do centroide (Figura 15).

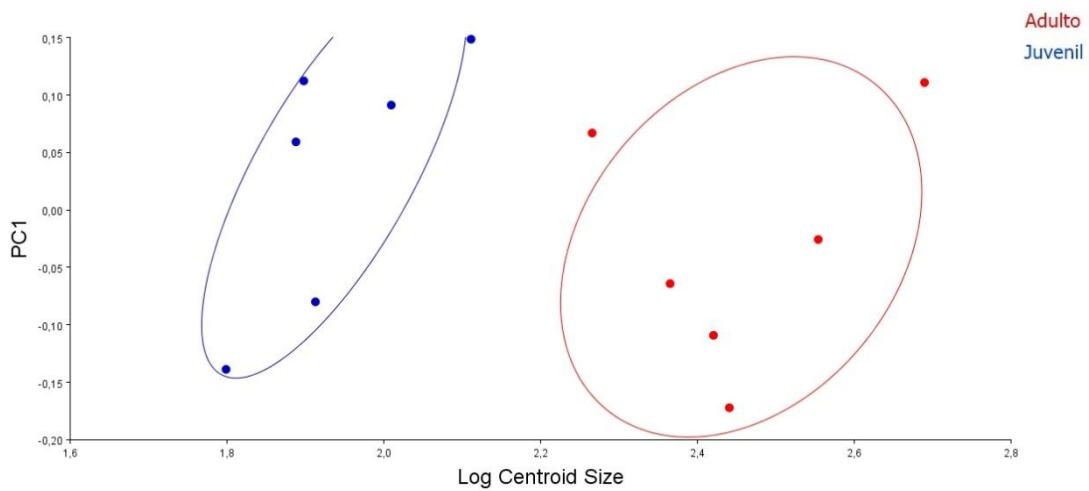


Figura 15 – Gráfico de regressão PC1 pelo Log do tamanho do centroide. As elipses representam intervalo de confiança de 0.7.

- Padrão Alométrico durante o desenvolvimento ontogenético

Para os indivíduos juvenis e adultos as inclinações das retas para a região proctodeal-urodeal e para o comprimento total da vagina não foram significativamente diferentes de 1, indicando uma isometria para esses traços, no entanto, o comprimento dos cornos urodeais foi significativamente maior que 1 sinalizando alometria positiva (Figura 16, tabela 8).

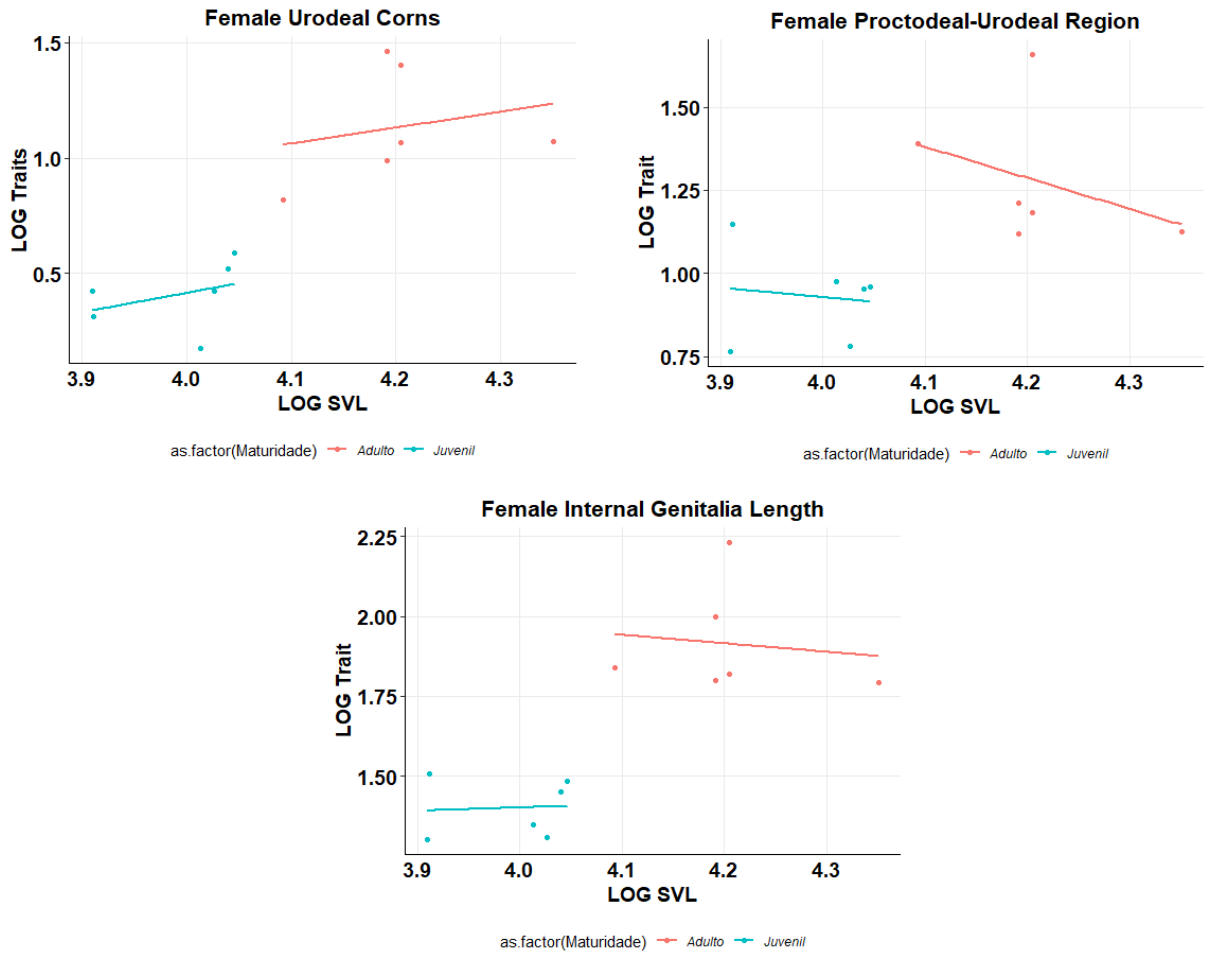


Figura 16 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais de *Tropidurus oreadicus*. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Tabela 8 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. oreadicus*. *b* = coeficiente alométrico; *r*² = coeficiente de determinação e *P* = significância de inclinação diferente de 1.

Maturidade	Traço	Alometria		
		<i>b</i>	<i>r</i> ²	<i>P</i>
Adulto	FUC	2.987	0.053	0.053
	FPUR	-2.524	0.137	0.084
	FIGL	-2.088	0.016	0.180
Juvenil	FUC	2.315	0.132	0.113
	FPUR	-2.229	0.016	0.147
	FIGL	1.439	0.005	0.497

A Ancova demonstrou que há efeito da maturidade sobre o todos os traços quando controlado pelo CRC do indivíduo (Tabela 9, Figura 17).

Tabela 9 – Descrição dos resultados da ANCOVA para os traços, referentes à ontogenia. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Traço	DF	DF resíduos	F	<i>P</i>
FUC	1	9	6.41	0.03
FPUR	1	9	6.49	0.03
FIGL	1	9	11.68	0.008

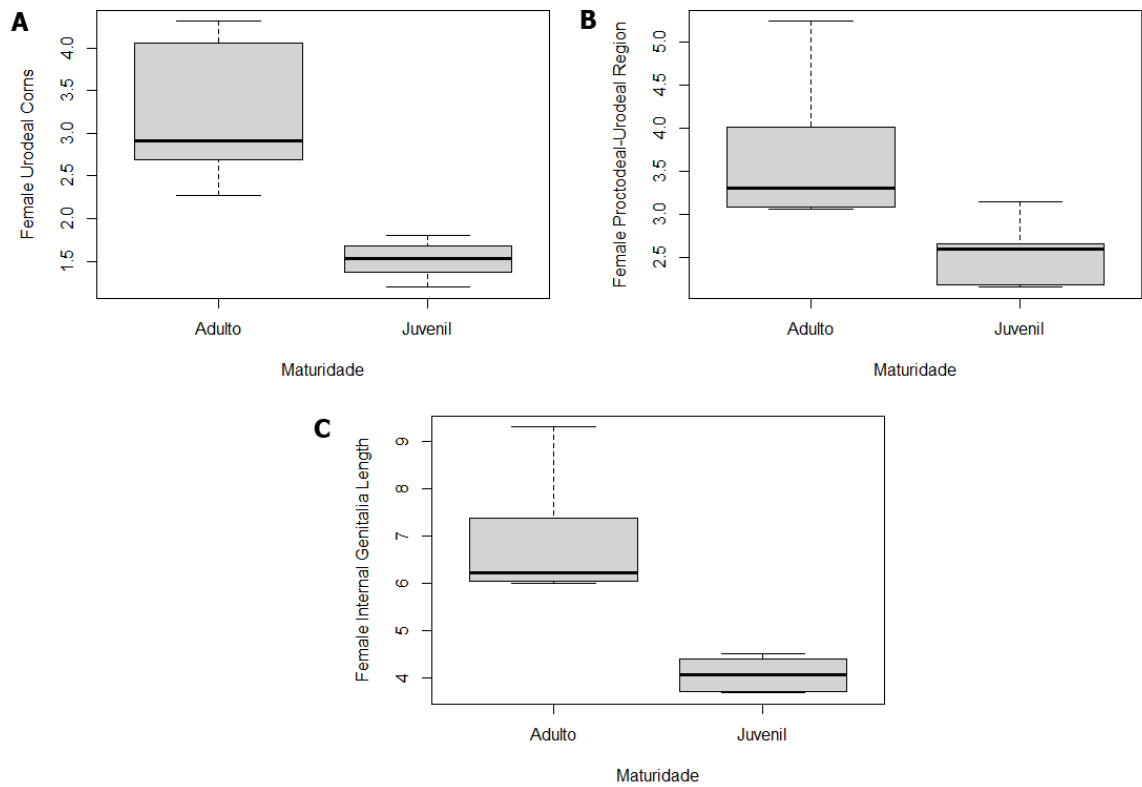


Figura 17 – Variação dos traços entre o nível de maturidade. A- comprimento dos cornos urodeais (FUC), B- comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR) e C- comprimento total da genitália feminina (FIGL) na ontogenia.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A análise qualitativa da morfologia genital feminina é de grande importância para a descrição anatômica dessa estrutura. Neste capítulo nós mostramos que a maioria das espécies de *Tropidurus* aqui analisadas apresentaram vaginas em forma de “Y”, identificando um padrão morfológico similar com o que se sabe sobre a forma da genitália masculina para esse grupo (De-Lima et al., 2019), com exceção da genitália feminina em “T” de *T. xanthochilus*, de acordo com o que há descrito para genitália masculina para algumas espécies do grupo *spinulosus* (Brenmaman, 2019). Além disso fizemos uma descrição detalhada da forma da genitália feminina de cada espécie.

Em relação à forma das vaginas, a espécie que apresentou uma diferença drástica na forma foi *T. xanthochilus*, com um alto grau de bifurcação dos cornos urodeais, as demais se diferenciaram em serem mais alongadas ou mais curtas, mais largas ou mais estreitas e no número de dobras na mucosa do lúmen cloacal.

Nenhuma interação entre machos e fêmeas é tão direta quanto a cópula (Brennan & Prum, 2015). O ajuste mecânico copulatório requer uma coevolução das genitálias masculinas e femininas para possibilitar a cópula, e, portanto, essa interação está diretamente relacionada ao sucesso reprodutivo (Brennan, 2016), principalmente quando relacionada ao papel da escolha críptica da fêmea, a partir da melhor estimulação proporcionada pela morfologia genital masculina (Eberhard & Cordero, 1995).

O número de trabalhos que tem discutido a coevolução genital sob perspectiva da escolha críptica feminina vem aumentando (Ah-King et al., 2014; Brennan & Prum, 2015; Brennan, 2016; Langerhans et al., 2016). Brennan (2016) demonstrou a interação inesperada das genitálias masculina e feminina de *Thamnophis radix* usando micro-tomografia computadorizada, para inferir o que acontece durante a cópula e ver quais características do macho interagem com as da fêmea. O hemipênis dessa espécie é profundamente bifurcado, com lobos abrindo em “T”, já as fêmeas possuem vagina em forma de “Y” profundo. No entanto, depois de inflar o hemipenis, a forma do órgão se adapta à forma da vagina, se abrindo em “Y”, correspondendo a genitália feminina. Além disso a micro-CT mostrou que os espinhos do hemipênis são incorporados em áreas vaginais com mais tecido conjuntivo frouxo, que pode ser uma resposta feminina para minimizar os danos causados pelos espinhos.

Mais recentemente, De-Lima e colaboradores (2019) demonstraram quantitativamente a correspondência das genitálias masculinas e femininas de *Tropidurus torquatus* e assim como em *Thamnophis radix* (Brennan, 2016) o grau da interação morfológica entre os sexos, levando em consideração a função estimulatória, pode impactar significativamente o sucesso da inseminação. Fazer a descrição da genitália masculina das espécies aqui analisadas que ainda não possuem descrição, testes estatísticos para as medidas dos traços hemipenianos e comparar essas medidas com as já obtidas para as fêmeas, são necessários para verificar se existem também evidências de coevolução de traços genitais nessas espécies.

Ainda assim, a quantidade de estudos quantitativos que examinem a variação genital feminina é escassa. Além disso, essa escassez e a falta de compreensão da morfologia funcional da genitália e do comportamento copulatório, impedem um maior progresso em nosso entendimento dos mecanismos responsáveis pela coevolução (Breann & Prum 2015).

A análise de morfometria geométrica revelou que existe diferenças nas formas das genitálias femininas entre as espécies analisadas, onde as vaginas variaram de curtas e largas à alongadas e estreitas, no número de dobras na região do lúmen cloacal e no grau de bifurcação dos cornos urodeais. Um estudo vaginal em duas espécies irmãs de cobras d'água (Showalter et al., 2014), que utilizou esse tipo de análise, também encontrou diferenças de formas entre as espécies na proporção da vagina entre as espécies.

Um estudo em *Drosophila* analisou a microestrutura das placas genitais femininas usando Microscopia eletrônica de varredura e morfometria geométrica, mostrando que elas são específicas da espécie e coevoluem com as estruturas masculinas que elas entram em contato durante a cópula (Yassin & Orgogozo 2013). Esses achados se opõem aos de estudos anteriores que consideraram a genitália feminina em *Drosophila* invariável entre as espécies (Eberhard & Ramirez, 2004; Jagadeeshan & Singh, 2006).

Para a maioria das espécies analisadas as características genitais femininas apresentaram uma inclinação alométrica positiva, apresentando, no geral, aumento maior do tamanho dos traços do que tamanho do corpo. Nossos resultados contrastam com o que há disponível na literatura, que mostram um padrão oposto de inclinações alométricas para genitália feminina em lagartos (De-Lima et al., 2019) e corrobora com

padrões vistos em cetáceos (Orbach et al., 2017; Orbach et al., 2018). Orbach e colaboradores (2018) consideram importantes o tamanho e a forma para a morfologia funcional da genitália, variando alometricamente com o tamanho do corpo. Tanto as formas da genitália masculina, quanto da feminina variam mais rapidamente que o tamanho dessas genitálias (Simmons et al., 2009; Macagno et al., 2011; Simmons & Firman, 2014), o que seria um facilitador do ajuste mecânico copulatório (Brennan & Prum, 2015).

Analisando a variação da forma da genitália feminina durante o desenvolvimento ontogenético de *Tropidurus oreadicus*, corroboramos os resultados prévios em vertebrados que demonstraram que a forma varia com o tamanho e a maturação sexual das fêmeas (Showalter et al. 2014; Orbach et al., 2018). As mudanças ontogenéticas da forma genital têm o potencial de revelar quais aspectos da genitália são mais importantes para desempenhar uma função copulatória ou reprodutiva. Por exemplo, cobras d'água sexualmente maduras apresentam uma bifurcação em suas vaginas que não é bem desenvolvida em fêmeas sexualmente imaturas, e os machos têm hemipênis bifurcados, sugerindo que a bifurcação das fêmeas é necessária para a função copulatória (Showalter et al. 2014). Do mesmo modo, Orbach et al. (2018), utilizando morfometria geométrica observaram uma extensão e alargamento da região cranial da vagina em fêmeas sexualmente maduras em golfinhos (*Tursiops truncatus*) e botos (*Phocoena phocoena*), que pode estar associada ao papel da ponta do pênis na deposição de espermatozoides próximo ao colo uterino, que foi diferente dos resultados obtidos usando medidas lineares para explorar mudanças ontogenéticas na genitália de *T. truncatus* (Orbach et al., 2016), esse acontecido evidencia a importância do uso de várias ferramentas e técnicas na exploração de padrões de variação morfológica. Além disso essas variações morfológicas ao longo do desenvolvimento ontogenético, das genitálias femininas aqui estudadas, podem ser explicadas por um aumento hormonal ligado a maturação sexual.

Nosso trabalho é o primeiro a fazer uma descrição qualitativa detalhada e quantitativa das genitálias femininas de espécies de *Tropidurus*. Nós ainda trazemos informações inéditas sobre a ontogenia da forma vaginal para o grupo. Para fortalecer os nossos achados, para trabalhos futuros, seria interessante realizar uma comparação entre genitálias masculinas e femininas dessas espécies para verificar uma possível ação da coevolução das genitálias na seleção sexual. E ainda, uma

descrição histológica da genitália feminina a procura de estruturas que possam elucidar o papel que a maturação sexual exerce na genitália feminina.

LITERATURA CITADA

Adams DC, Rohlf FJ & Slice DE. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* **71**: 5–16.

Ah-King M, Barron AB & Herberstein ME. 2014. Genital evolution: why are females still understudied? *PLoS Biology* **12**:e1001851.

Araujo AFB.1987. Comportamento alimentar dos lagartos: o caso do *Tropidurus* do grupo *torquatus* da Serra de Carajás, Pará (Sauria: Iguanidae). *Anais de Etologia* **5**: 189-197.

Arnqvist G & Thornhill R. 1998. Evolution of animal genitalia: patterns of phenotypic and genotypic variation and condition dependence of genital and non-genital morphology in water strider (Heteroptera: Gerridae: Insecta). *Genetics Research* **71**:193–212.

Blackburn DG. 1998. Structure, function, and evolution of the oviducts of squamate reptiles, with special reference to viviparity and placentation. *The Journal of Experimental Zoology* **282**: 560–617.

Benmaman P. 2019. Evolução da genitália masculina em lagartos do gênero *Tropidurus* grupo *spinulosus* (Squamata, Tropiduridae).

Brennan PL. 2016. Studying genital coevolution to understand intromittent organ morphology. *Integrative and comparative biology* **56(4)**: 669-681.

Brennan PL & Prum RO. 2015. Mechanisms and evidence of genital coevolution: the roles of natural selection, mate choice, and sexual conflict. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **7(7)**: a017749.

Carvalho ALG. 2013. On the distribution and conservation of the South American lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae). *Zootaxa* **3640(1)**: 42-56.

Carvalho ALG, de Britto MR & Fernandes DS. 2013. Biogeography of the Lizard Genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropiduridae): Distribution, Endemism, and Area Relationships in South America. *PLoS ONE* **8(3)**: e59736. doi:10.1371/journal.pone.0059736

Carvalho ALG, Rivas LR, Céspedes R & Rodrigues MT. 2018. A New Collared Lizard (*Tropidurus*: Tropiduridae) Endemic to the Western Bolivian Andes and Its Implications for Seasonally Dry Tropical Forests. *American Museum Novitates* **3896(3896)**: 1–56. doi:10.1206/3896.1

De-Lima AKS, Paschoaletto IP, Pinho L de O Benmamman P & Klaczko J. 2019. Are hemipenial traits under sexual selection in *Tropidurus* lizards? Hemipenial development, male and female genital morphology, allometry and coevolution in *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae). *PLOS ONE* **14(7)**: e0219053. doi:10.1371/journal.pone.0219053

Dufour L. 1844. Anatomie générale des Dipteres. *Annuaire de Science Naturelle* **1**: 244–264.

Eberhard WG. 1985. Sexual selection and animal genitalia. *Harvard University Press*.

Eberhard WG & Cordero C. 1995. Sexual selection by cryptic female choice on male seminal products—a new bridge between sexual selection and reproductive physiology. *Trends in Ecology & Evolution* **10(12)**: 493–496.

Eberhard WG. 1997. Sexual selection by cryptic female choice in insects and arachnids. In *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids* (Choe, J.C. and Crespi, B.J., eds), pp. 32–57, *Cambridge University Press*.

Eberhard WG & Ramirez N. 2004. Functional morphology of the male genitalia of four species of *Drosophila*: failure to confirm both lock and key and male-female conflict predictions. *Annals of the Entomological Society of America* **97(5)**: 1007–1017.

Eberhard WG, Uber BA, Odriguez RL, Riceno RD, Alas I & Odriguez V. 1998. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. *Evolution* **52**: 415–431.

Eberhard WG. 2001. Species-specific genitalic copulatory courtship in sepsid flies (Diptera: Sepsidae, Microsepsis) and theories of genitalic evolution. *Evolution* **55**: 93–102.

Faria RG & Araujo AFB. 2004. Sintopy of two *Tropidurus* lizard species (Squamata: Tropiduridae) in a rocky cerrado habitat in central Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **64**: 775–786.

Fox H. 1977. The urogenital system of reptiles. *Biology of the Reptilia*. C. Gans, ed. Academic Press, New York **6**: 1–157. lizards (Iguania: Tropiduridae). *American Museum Novitates* **3033**: 68.

Frost DR, Rodrigues MT, Grant T & Titus TA. 2001. Phylogenetics of the lizard genus *Tropidurus* (Squamata: Tropiduridae: Tropidurinae): Direct optimization, descriptive efficiency, and sensitivity analysis of congruence between molecular data and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **21**: 352–371.

Giacomini E. 1893. Sull' ovidutto del Sauropsidi. *Monitore Zoologico Italiano* **4**: 202–265.

Harvey MB & Gutberlet Jr RL. 1998. Lizards of the genus *Tropidurus* (Iguania: Tropiduridae) from the Serranía de Huanchaca, Bolivia: new species, natural history, and a key to the genus. *Herpetologica* **54 (4)**: 493–520.

Hosken DJ & Stockley P. 2004. Sexual selection and genital evolution. *Trends in Ecology & Evolution* **19(2)**:87-93.

Jagadeeshan S & Singh RS. 2006. A time-sequence functional analysis of mating behaviour and genital coupling in *Drosophila*: role of cryptic female choice and male sex-drive in the evolution of male genitalia. *Journal of evolutionary biology* **19(4)**: 1058-1070.

Klingenberg CP. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources* **11(2)**: 353-357.

Langerhans RB, Anderson CM & Heinen-Kay JL. 2016. Causes and consequences of genital evolution. *Integrative and comparative biology* **56(4)**: 741-751.

Lloyd JE. 1979. Mating behavior and natural selection. *Florida Entomologist* **62**: 17–34.

Macagno AL, Pizzo A, Parzer HF, Palestrini C, Rolando A & Moczek AP. 2011. Shape-but not size-codivergence between male and female copulatory structures in Onthophagus beetles. *PLoS One* **6(12)**: e28893.

Mayr E. 1963. Animal Species and Evolution. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.

Meira KTR, Faria RG, Silva MDDM, Miranda VTD & Zahn-Silva W. 2007. História natural de *Tropidurus oreadicus* em uma área de cerrado rupestre do Brasil Central. *Biota Neotropica* **7**: 155-163.

Orbach DN, Hedrick B, Würsig B, Mesnick SL & Brennan PL. 2018. The evolution of genital shape variation in female cetaceans. *Evolution* **72(2)**: 261-273.

Orbach DN, Marshall CD, Würsig B & Mesnick SL. 2016. Variation in Female Reproductive Tract Morphology of the Common Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*). *The Anatomical Record* **299(4)**: 520-537.

Orbach DN, Marshall CD, Mesnick SL & Würsig B. 2017. Patterns of cetacean vaginal folds yield insights into functionality. *PloS One* **12(3)**: e0175037.

R Development Core Team. 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Rodrigues MT. 1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do rio Amazonas (Sauria, Iguanide). *Arquivos de Zoologia* 105–230.

Rohlf FJ. (2013). Tps Utility program. Ecology and Evolution. *SUNY at Stony Brook*.

Rohlf FJ. (2015). Ecology and Evolution. *SUNY at Stony Brook*.

Sánchez-Martínez PM, Ramírez-Pinilla MP & Miranda-Esquivel DR. 2007. Comparative histology of the vaginal–cloacal region in Squamata and its phylogenetic implications. *Acta Zoologica* **88(4)**: 289-307.

Shapiro AM & Porter AH. 1989. The lock-and-key hypothesis: evolutionary and biosystematic interpretations of insect genitalia. *Annual Review of Entomology* **34**:231–245.

Schneider CA, Rasband WS & Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9(7)**: 671–675.

Showalter I, Todd BD & Brennan PLR. 2014. Intraspecific and interspecific variation of female genitalia in two species of watersnake. *Biological Journal of the Linnean Society* **111**: 183–191.

Siegel DS, Miralles A, Trauth SE & Aldridge RD. 2012. The phylogenetic distribution and morphological variation of the ‘pouch’ in female snakes. *Acta Zoologica* **93(4)**: 400-408.

Silva VN & Araújo AFB. 2008. Ecologia dos lagartos Brasileiros.1 ed. *Technical Books*. Rio de Janeiro, 256p.

Simmons LW & Firman RC. 2014. Experimental evidence for the evolution of the mammalian baculum by sexual selection. *Evolution* **68(1)**: 276-283.

Simmons LW, House CM, Hunt J & García-González F. 2009. Evolutionary response to sexual selection in male genital morphology. *Current Biology* **19(17)**: 1442-1446.

Spix JB. 1825. Animalia nova sive species nova lacertarum quas in itinere per Brasiliam annis MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspicio Maximiliani Josephi I Bavariae Regis suscepto collegit et descripsit Dr. J. B. de Spix. T.O. Weigel, Lipsiae, 26 pp.

Van Sluys M. 1993. Food habits of the lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in south eastern Brazil. *Journal of Herpetology* **27(3)**: 347-351.

Van Sluys M. 1995. Seasonal variation in prey choice by the lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in southeastern Brazil. *Ciência e Cultura* **47(1/2)**: 61-65.

Van Sluys M, Mendes HM, Assis VB & Kiefer MC. 2002. Reproduction of *Tropidurus montanus* Rodrigues, 1987 (Tropiduridae), a lizard from a seasonal habitat of south-eastern Brazil, and a comparison with other *Tropidurus* species. *Herpetological Journal* **12**: 89-97.

- Vitt LJ. 1993.** Ecology of isolated open-formation *Tropidurus* (Reptilia:Tropiduridae) in Amazonian lowland rain forest. *Canadian Journal of Zoology* **71**:2370–2390.
- Vitt LJ, Zani PA & Caldwell JP. 1996.** Behavioural ecology of *Tropidurus hispidus* on isolated rock outcrops in Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* **12(1)**: 81-101.
- Waage JK. 1979.** Dual function of the damselfly penis: sperm removal and transfer. *Science* 916–918.
- Warton DI, Duursma RA, Falster DS & Taskinen S. 2012.** smatr 3—an R package for estimation and inference about allometric lines. *Methods in Ecology and Evolution* **3(2)**: 257-259.
- Wiederhecker HC, Pinto AS & Colli GR. 2002.** Reproductive ecology of *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropidutidae) in the Highly seasonal Cerrado biome of central Brazil. *Journal of Herpetology* **36(1)**: 82-91.
- Wied-Neuwied MP zu. 1820.** Reise nach Brasilien in den jahren 1815 bis 1817. Vol. 1. H.L. Brönnner, Frankfurt, 454 pp.
- Wied-Neuwied MP zu. 1820. Reise nach Brasilien in den jahren 1815 bis 1817. Vol. 2. H.L. Brönnner, Frankfurt, 364 pp.
- Wied-Neuwied MP zu. 1825.** Beiträge zur Naturgeschichte von Brasilien, Vol.1. Gr. H.S. priv. Landes-Industrie-Comptoirs, Weimar, 646 pp.
- Yassin A & Orgogozo V. 2013.** Coevolution between male and female genitalia in the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *PloS one* **8(2)**: e57158.

Capítulo II

Varição interespecífica da genitália feminina em espécies simpátricas de *Tropidurus* (Wied-Neuwied, 1825) (Squamata: Tropiduridae)

INTRODUÇÃO

O conceito biológico de espécie foi definido por Mayr (1942) como “grupo de populações naturais reais ou potencialmente inter cruzantes, que são reprodutivamente isoladas de outros grupos semelhantes”, com base nas ideias de isolamento reprodutivo de Dobzhansky (1937). O isolamento reprodutivo além de ser uma característica definidora de uma espécie biológica, é parte integrante da criação e manutenção dos limites das espécies (Coyne & Orr, 2004). A quebra do isolamento reprodutivo pode ocasionar fluxo gênico entre espécies, tendo como resultado hibridização com esterilidade, inviabilidade da prole, assimilação genética das espécies mais raras, introdução de uma nova variação genética, reforço das barreiras entre espécies, aumento ou diminuição da aptidão dos híbridos em ambientes naturais, além de poliploidia e especiação rápida (Arnold, 1997; Arnold, 2006; Arnold & Burke, 2006).

Acasalamento e hibridização interespecíficos geralmente ocorrem em áreas de contatos secundário das espécies, verificado em estudos nos lagartos dos gêneros *Aspidoscelis* (Dessauer et al., 2000) e *Podarcis* (Pinho et al., 2009), da espécie de serpente *Vipera* (Tarroso et al., 2014), entre outros répteis (Axtell, 1972; Jenssen, 1977; Jančúchová-Lásková et al., 2015; Panov & Zykova, 2016). Portanto, a sobreposição de faixa geográfica é uma pré-condição essencial para a hibridização (Galoyan et al., 2019).

Leanché & Cole (2007) investigaram detalhadamente espécimes da zona de contato de *Sceloporus cowlesi* e *S. tristichus* no leste do Arizona. Descreveram quatro clados de mtDNA simpátricos, alguns dos quais se cruzam para formar híbridos. Concluíram que esta zona de contato secundário contém vários processos operando simultaneamente, incluindo a hibridização entre clados de mtDNA diagnosticáveis morfologicamente e cariotipicamente dentro de *S. tristichus*, e contato secundário entre duas linhagens de mtDNA distantemente relacionadas, mas morfologicamente crípticas (*S. tristichus* e *S. cowlesi*). Assim a presença de lagartos híbridos com pares heteromórficos de cromossomos e meiose aparentemente bem-sucedida em heterozigotos indica que o isolamento reprodutivo não está completo entre alguns ou todos os grupos de lagartos que interagem na zona híbrida em diferentes localidades (Leanché & Cole, 2007).

A ideia de que as espécies simpátricas que competem pelo mesmo conjunto de recursos limitados devem ser favorecidas pela seleção natural para divergir no uso de recursos e fenótipo (Brown & Wilson, 1956), é considerada um impulsionador chave da diversificação evolutiva e da radiação adaptativa (Grant, 1972). Assim, o deslocamento de caráter (Brown & Wilson, 1956; Grant, 1972) é uma divergência evolutiva em características de exploração de recursos que é causada pela competição interespecífica (Robinson & Wilson, 1994; Adams & Rohlf, 2000; Pfennig & Murphy, 2003). Tem o potencial de explicar padrões não aleatórios de co-ocorrência e diferenças morfológicas entre espécies coexistentes (Schluter et al., 1985; Grant, 1999; Losos, 2000; Schluter, 2000a).

Lack (1947) introduziu o método de comparação entre populações simpátricas e alopátricas, estudando os tentilhões de Darwin do arquipélago de Galápagos. Cunhou a ideia de que a seleção para diminuir a competição interespecífica só atuará em áreas onde as espécies realmente co-ocorrem. De modo que, se a competição promove divergência, os pares de espécies deveriam divergir mais onde ocorrem em simpatria, do que onde cada um ocorre isoladamente. Esse processo tem duas etapas, definidas por Stuart & Losos (2013): i) a competição interespecífica por recursos limitados cria a seleção natural que favorece os indivíduos mais adeptos da partição de recursos, o que (ii) leva as populações a divergirem adaptativamente, seja alterando os meios de características ou diminuindo variância do traço. A competição interespecífica é a causa imediata do deslocamento de caráter, criando o particionamento do uso dos recursos que é a causa final da divergência fenotípica.

- *Complexo torquatus*

Tropidurus torquatus (Wied-Neuwied, 1820) tem uma história taxonômica complexa resumida em Rodrigues (1987) e Frost (1992). Foi descrito no início do século XIX (1820-1825) pelo príncipe de Wied, com base em animais do leste brasileiro. Após a descrição da espécie várias formas originalmente descritas como novas foram acrescentadas ao grupo (Rodrigues, 1987).

Burt & Burt (1930, 1931) fizeram o sinônimo de *T. hispidus* (Spix, 1825) e *T. hygomi* (Reinhardt & Lütken, 1861) com *T. torquatus*. Essa taxonomia permaneceu até Vanzolini & Gomes (1979) reconhecerem *T. hygomi* como uma espécie válida, embora Etheridge (1970) também considerasse *T. hygomi* e *T. hispidus* como espécies válidas sem justificativa.

O grupo *torquatus* se difere facilmente dos demais pela presença de escamas dorsais carenadas e imbricadas e pela ausência de crista médio-dorsal diferenciada (Rodrigues, 1987) e por não serem extremamente achatados dorso-ventralmente (Frost et al., 2001).

Na década de 80 o gênero *Tropidurus* foi alvo de revisão sistemática por Rodrigues (1987), que estudou as espécies do grupo *torquatus* ao sul do Amazonas. Ele reconheceu como válidas e alocadas no grupo *torquatus* as espécies: *T. bogerti*, *T. etheridgei*, *T. hispidus*, *T. hygomi* e *T. torquatus*. Considerou *Tropidurus catalanensis* como sinônimo de *T. torquatus* e descreveu sete novas espécies para o grupo: *T. cocorobensis*, *T. erythrocephalus*, *T. insulanus*, *T. itambere*, *T. montanus*, *T. mucujensis* e *T. oreadicus*. Posteriormente, outra espécie do grupo, *Tropidurus psammonastes*, foi descrita (Rodrigues et al., 1988). Cei (1993) comparando as populações argentinas de *T. catalanensis* com *T. torquatus* de Cabo Frio (RJ), concorda com a sinonimização de *T. catalanensis* a *T. torquatus*, embora defenda a manutenção do epíteto *catalanensis* na categoria de subespécie, *T. torquatus catalanensis*.

Recentemente, Kunz & Borges-Martins (2013), fazendo uma análise morfológica de exemplares do Centro-Oeste, Sudeste e Sul do país, reconhecem dentro de *Tropidurus torquatus* (*sensu* Rodrigues, 1987) três grupos populacionais distintos: (i) um grupo insular que se distribui do litoral do RJ à BA; (ii) um grupo costeiro da região montanhosa do RJ e MG e (iii) um grupo interior dos cerrados do Brasil Central. Além disso, revalidam a espécie plena *T. catalanensis* e descrevem uma nova espécie, *T. imbituba*, restrita à localidade-tipo.

Em sua tese, Sena (2015) obteve conclusões de que as formas do grupo *torquatus* estudadas nesse trabalho formam um grupo monofilético. Sendo que das 14 espécies do grupo *torquatus* incluídas no trabalho, seis foram recuperadas como monofiléticas: *T. erythrocephalus*, *T. hygomi*, *T. insulanus*, *T. montanus* e *T. mucujensis* e *T. psammonastes*; e das oito espécies restantes, seis foram recuperadas como para- ou polifiléticas: *T. cocorobensis*, *T. etheridgei*, *T. itambere*, *T. hispidus*, *T. oreadicus*, *T. torquatus*. Além disso, *T. catalanensis* e *T. imbituba* foram recuperadas como clados, com ampla distribuição geográfica e variação morfológica que exige que estas formas sejam redescritas.

Vale aqui ressaltar que “*T. torquatus*-*T. catalanensis*-*T. imbituba*” representam um complexo de espécies em estudo, o qual está sendo propriamente revisado taxonomicamente (A. L. G. Carvalho et al., in prep.).

Tropidurus torquatus (Wied-Neuwied, 1820) é a espécie que apresenta a distribuição geográfica mais ampla do gênero, ocorrendo no Paraguai, Uruguai, nordeste da Argentina e quase todas as partes do Brasil, ocupando áreas dos biomas Cerrado, Pampa e Mata Atlântica, (Rodrigues, 1987; Arruda et al., 2008; Carvalho, 2013). É extremamente abundante em formações abertas (Rodrigues, 1987), sendo comumente encontrado em ambientes perturbados como áreas urbanas. Já *T. hispidus* (Spix, 1825) está distribuída em uma ampla área no leste da América do Sul, desde Guiana Francesa, Suriname, Guiana, Venezuela e uma localidade na fronteira com a Colômbia, atingindo o sul do estado de Minas Gerais (Rodrigues, 1987; Ávila-Pires, 1995; Vitt et al., 1996), com uma distribuição contínua e uniforme na Caatinga e áreas costeiras do Nordeste do Brasil e se estende ao longo de grande parte da serra do Espinhaço onde é sintópica com vários congêneres (Carvalho, 2013).

Estudos recentes vêm ampliando as áreas de distribuição das espécies de *Tropidurus* e foram documentados casos de simpatria entre populações de *T. hispidus* e *T. aff. torquatus* (A. L. G. Carvalho et al., in prep.). A zona de contato geográfico das espécies em questão está localizada no estado de Minas Gerais, em zonas urbanas dos municípios de Sete Lagoas (simpatria), Igarapé (simpatria e sintopia) e Curvelo (simpatria e sintopia), esse último foi escolhido como a localidade alvo do nosso trabalho.

Com isso, visamos testar, neste capítulo, se o contato geográfico secundário entre espécies congêneras proximamente relacionadas filogeneticamente pode levar a um deslocamento da forma e do tamanho da genitália. A nossa hipótese é de que quando espécies próximas se encontram em simpatria e sintopia tendem a possuir mais divergências entre traços genitais, do que o observado quando essas mesmas espécies não estão em simpatria, ou seja, hipotetizamos que nas espécies em questão, ocorra deslocamento de caráter entre as genitálias.

MATERIAIS E MÉTODOS

- Grupo de estudo

Neste capítulo analisamos genitálias femininas de duas espécies que ocorrem em simpatria e sintopia em localidades do estado de Minas Gerais e indivíduos de populações de origem, dos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Figura 1), provenientes da coleção do Laboratório de Herpetologia da Universidade de São Paulo (Tabela 1). Os espécimes sintópicos foram coletados na cidade de Curvelo (18°45'25.8"S, 44°25'7"W), Estado de Minas Gerais.

Tabela 1 – Lista da amostragem das espécies utilizadas.

Espécie	<i>Tropidurus aff. torquatus</i>		<i>Tropidurus hispidus</i>	
	Simpatria/Sintopia	Externo	Simpatria/Sintopia	Externo
N	11	22	10	13

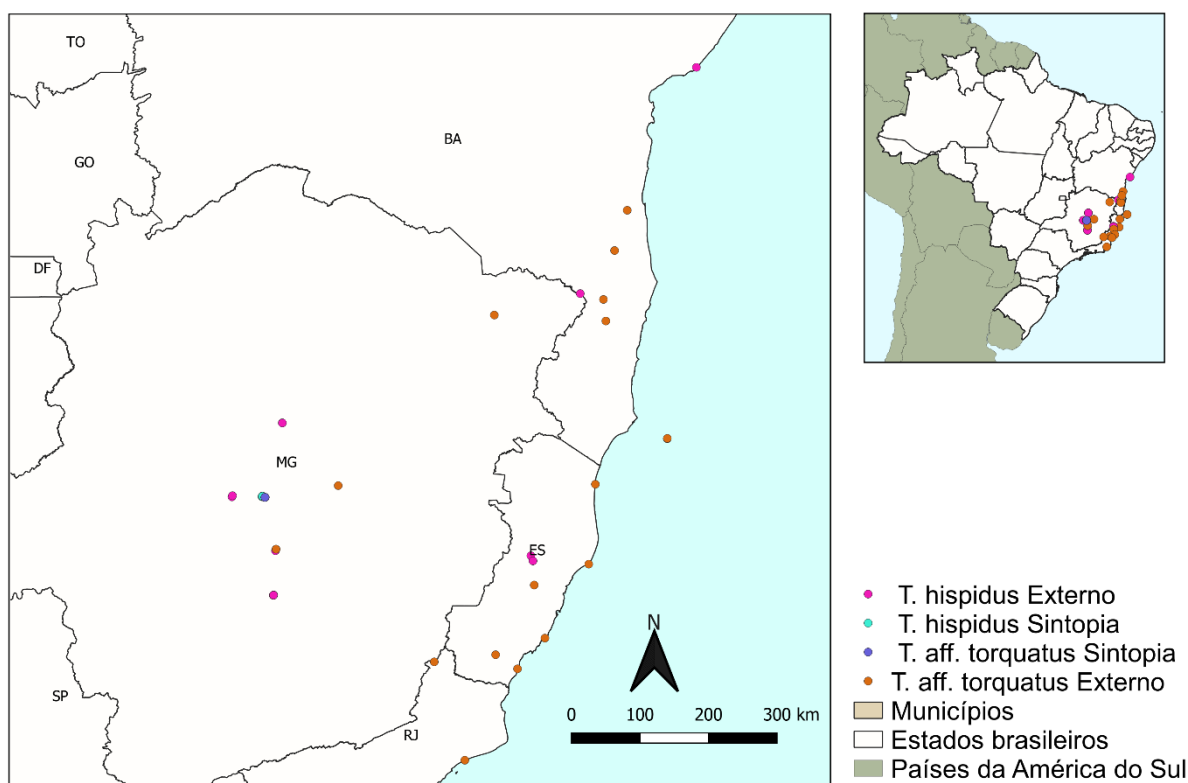


Figura 1 – Mapa da distribuição dos espécimes analisados.

- Preparo das genitálias

A cloaca e o trato genital foram removidos através de uma incisão na região pélvica, com o mesmo processo detalhado no capítulo 1.

Após retiradas, as vaginas foram seccionadas longitudinalmente, lavadas e, então, limpas de tecidos conectivos, músculos e trato digestivo e mantidas em álcool 70% para análise interna. A face dorsal foi fotografada utilizando câmera (Canon 40D, objetiva EF 100mm f/2.8 macro USM, Macro Close-up Raynox Dcr-250) através do Software Helicon Remote (versão 3.9.7 W).

- Análise e descrição das genitálias

Descrição qualitativa

Foi feita descrição detalhada utilizando o artigo Sánchez-Martinez et al. (2007) para nomenclatura morfológica de vagina.

Análise de morfometria geométrica

Como explicado no primeiro capítulo dessa dissertação, incluímos os marcos e os semi-marcos utilizando o tpsDig versão 2.22 (Rohlf, 2015), após importar as imagens com o tpsUtil versão 1.64 (Rohlf, 2013).

Usando o tpsRelw versão 1.61 (Rohlf, 2015) foram geradas grades de deformação para que a variação da forma da genitália seja melhor observada. As coordenadas alinhadas resultantes para os marcos e semi-marcos foram usadas para análises adicionais de forma em MorphoJ (Klingenberg, 2011). A sobreposição de procrustes para minimizar as diferenças entre os indivíduos com base na posição, rotação e escala (Adams et al., 2004), a visualização do morfoespaço que separa os espécimes por espécie, gerar os principais componentes (PCs), ANOVA de Procrustes e análise de regressão foram realizadas no MorphoJ.

Análise de alometria

Utilizando o Software Image J (1.53e) (Schneider et al. 2012) as imagens digitais obtidas foram medidas dos seguintes traços: comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento dos cornos urodeais (FUC) e comprimento total da cloaca feminina (FIGL). Também foram obtidos dados do comprimento rostro-cloacal (CRC) de cada espécime usando paquímetro. Para cada característica, foi

testado se o coeficiente de alometria é significativamente diferente da isometria ($b = 1$) usando a função de teste de inclinação no pacote Smatr do software R (Warton et al., 2012; R Core Team, 2019).

Foi realizada uma Análise de covariância (Ancova) para verificar se há efeito da espécie sobre os traços analisados quando controlado pelo CRC do indivíduo, também utilizando o software R (R Core Team, 2019).

RESULTADOS

- Descrição qualitativa

O aspecto geral da forma da genitália feminina de *Tropidurus hispidus* e *T. aff. torquatus* pode ser observada na Figura 2. *Tropidurus aff. torquatus* em sintopia apresenta uma genitália mais longa do que larga, com a mucosa do lúmen cloacal com poucas pregas discretas (Figura 2A). Enquanto que *T. hispidus*, também quando em sintopia, apresenta a genitália alongada, mas comparativamente mais larga, apresentando maior quantidade de pregas na mucosa do lúmen cloacal (Figura 2B).

Tropidurus aff. torquatus do grupo externo apresenta também, assim como *T. hispidus* em sintopia, uma vagina mais larga com uma grande quantidade de pregas (Figura 2C). Já, *T. hispidus* do grupo externo possui uma genitália mais alongada e mais estreita, do mesmo modo que *T. aff. torquatus* em sintopia (Figura 2D).

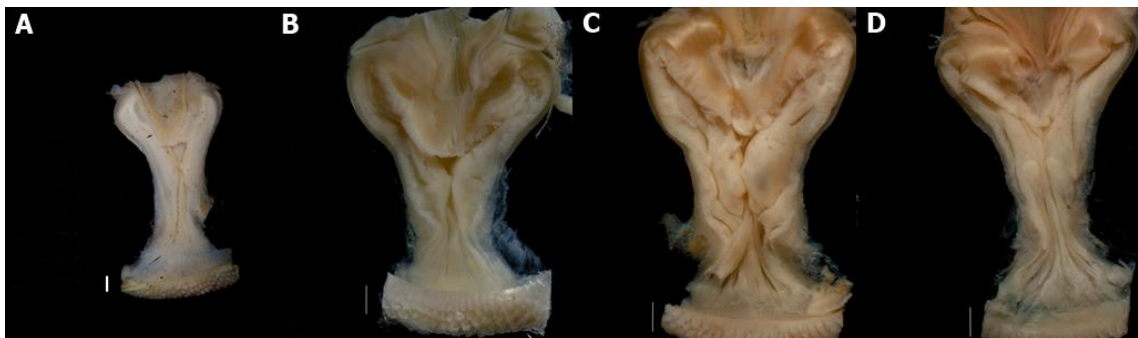


Figura 2 – Aspecto da forma geral da vagina de *T. aff. torquatus* e *T. hispidus*. A- *T. aff. torquatus* (MTR30463) de Curvelo (sintopia); B- *T. hispidus* (MTR29805) de Curvelo (sintopia); C- *T. aff. torquatus* (MTR29784) grupo externo e D- *T. hispidus* (MTR29835) grupo externo. Escala 1mm.

- Morfometria Geométrica

Os resultados variações morfoespaciais da vagina, separados por espécie e localidade, são mostrados na Figura 3. Descobrimos que a condição simpatria afetou significativamente a morfologia da vagina nessas espécies. Quando analisamos apenas espécimes simpátricas o PC1 explicou 44,77% da variância, enquanto o PC2 explicou 18,32% e 33,37% e 20,59%, PC1 e PC2, respectivamente, quando plotamos espécimes em simpatria juntamente com espécimes de outras localidades. Plotamos então PC1 contra PC2, onde o primeiro eixo descreve a variação do aspecto da vagina

em relação ao comprimento, com valores positivos demonstrando vaginas mais longas, e valores negativos vaginas mais curtas. No entanto, quando observamos espécimes em simpatria juntamente com espécimes de outras localidades quando plotamos PC1 contra PC2, valores positivos do primeiro eixo demonstraram vaginas mais curtas, e valores negativos vaginas mais longas. O segundo eixo, para ambas as condições, descreve a variação em relação à largura, onde valores positivos representam vaginas mais largas e valores negativos vaginas mais estreitas.

Tropidurus aff. torquatus apresentando vagina maior do que *T. hispidus*, quando em simpatria, enquanto quando colocados juntos com espécimes do grupo externo há uma grande sobreposição de formas.

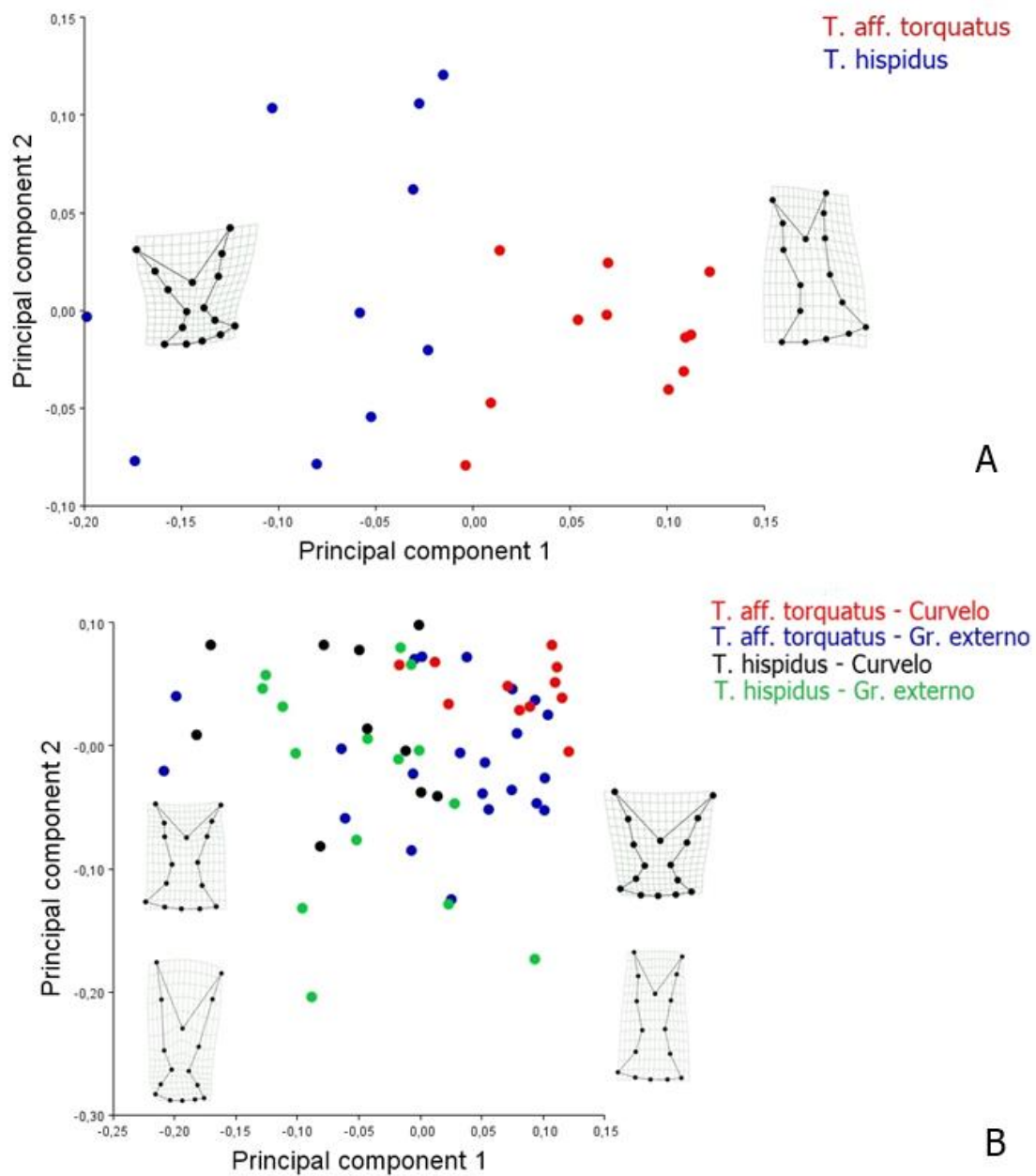


Figura 3 – Variação morfoespacial da vagina de *T. aff. Torquatus* e *T. hispidus*. A - Dados referentes aos espécimes simpátricos em Curvelo. B - Dados dos indivíduos em simpatria e demais localidades.

A regressão para estimar os efeitos de alometria retornou um índice se Soma de Quadrados de 0,169 para os indivíduos em sintopia e 0,420 quando analisados todos os indivíduos incluindo o grupo externo. Desse total, apenas 10,8% (sintopia) e 8,76% (todos os indivíduos) eram atribuídos à variação no tamanho do centróide (Figura 4).

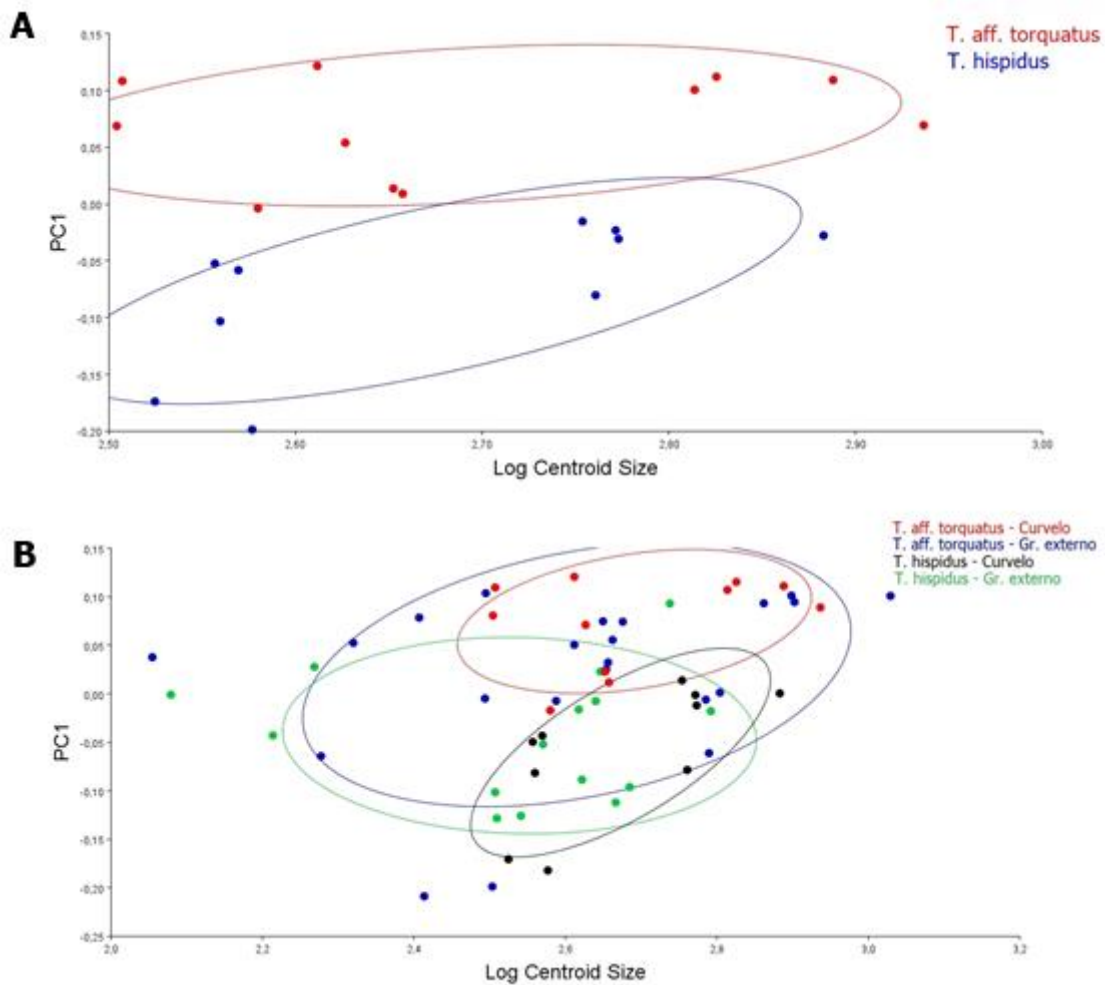


Figura 4 – Gráfico de regressão PC1 pelo Log do tamanho do centroide. A- Indivíduos em sintopia e B- Indivíduos em sintopia e grupo externo. As elipses representam intervalo de confiança de 0.7.

- Padrão alométrico

Quando analisados apenas indivíduos de Curvelo (em sintopia) a espécie *T. aff. torquatus* apresentou inclinação alométrica positiva apenas para o traço FPUR, os demais traços não apresentaram valores significativamente diferentes de 1,0 indicando isometria. Por outro lado, a inclinação do comprimento da região proctodeal-urodeal e comprimento total da vagina na espécie *T. hispidus*, foi significativamente menor que 1,0, indicando alometria negativa para estas características, enquanto o comprimento dos cornos urodeais indicou isometria para essa espécie (Figura 5, Tabela 2). Todas as características genitais femininas analisadas abordando todos os indivíduos (Curvelo e grupo externo) apresentaram alometria positiva, com inclinações significativamente maiores que 1,0 em ambas as espécies (Figura 5, Tabela 3).

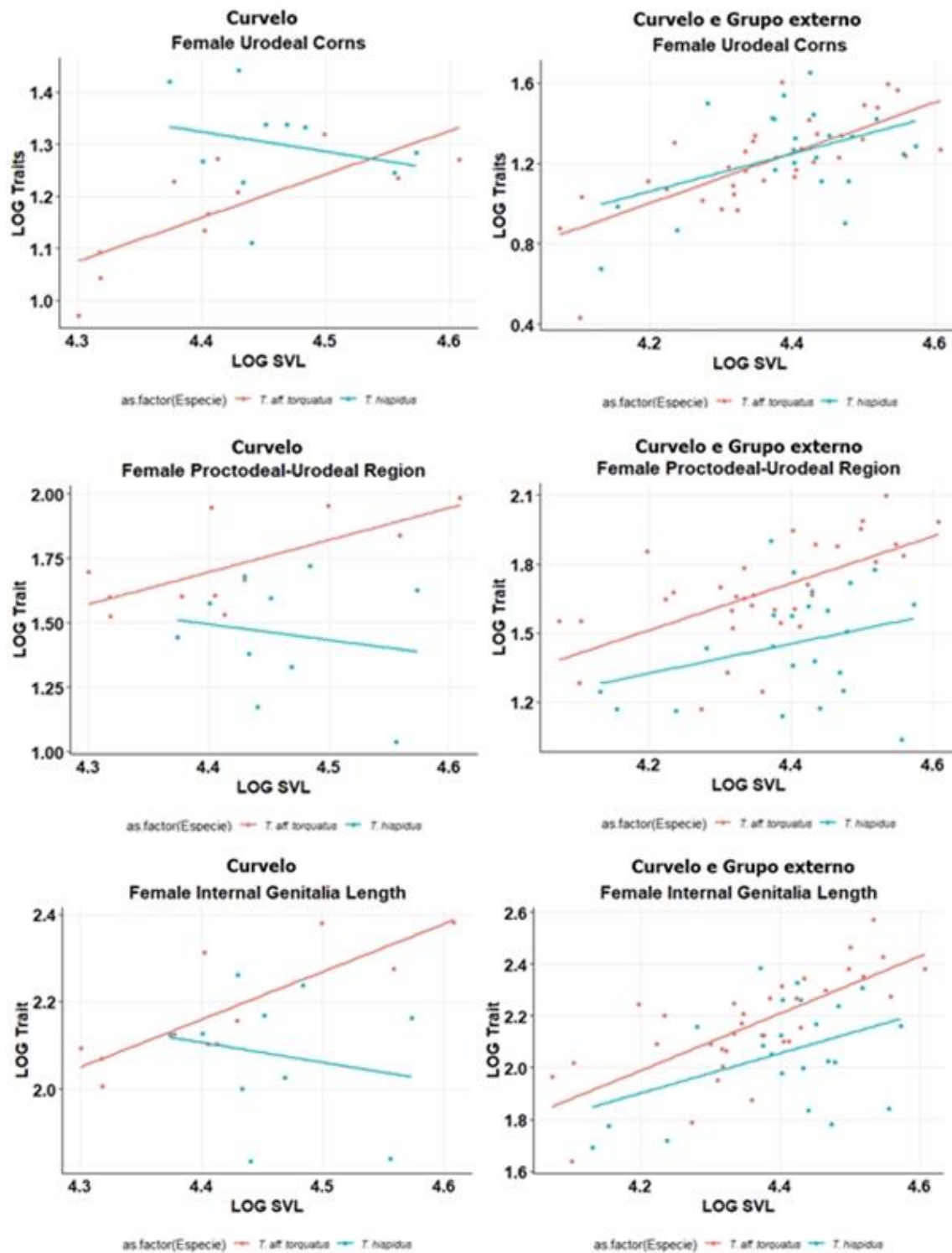


Figura 5 – Regressões de características transformadas em log contra tamanho do corpo transformado em log (CRC) para características vaginais de *Tropidurus aff. torquatus* e *T. hispidus*.

Tabela 2 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. aff. torquatus* e *T. hispidus* em estado de sintopia. *b* = coeficiente alométrico; r^2 = coeficiente de determinação e *P* = significância de inclinação diferente de 1.

Espécie	Traço	Alometria		
		<i>b</i>	r^2	<i>P</i>
<i>T. aff. torquatus</i>	FUC	1.0759	0.599	0.737
	FPUR	1.772	0.497	0.031
	FIGL	1.326	0.681	0.163
<i>T. hispidus</i>	FUC	-1.538	0.0598	0.231
	FPUR	-3.597	0.0295	0.001
	FIGL	-2.392	0.0364	0.022

Tabela 3 – Resumo das estatísticas de regressão entre traços comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL) e tamanho corporal (CRC) realizadas em *T. aff. torquatus* e *T. hispidus* de todas as localidades. *b* = coeficiente alométrico; r^2 = coeficiente de determinação e *P* = significância de inclinação diferente de 1.

Espécie	Traço	Alometria		
		<i>b</i>	r^2	<i>P</i>
<i>T. aff. torquatus</i>	FUC	1.738	0.520	<0.001
	FPUR	1.673	0.371	<0.001
	FIGL	1.493	0.544	0.002
<i>T. hispidus</i>	FUC	2.076	0.205	<0.001
	FPUR	2.154	0.088	<0.001
	FIGL	1.829	0.177	0.004

Para os indivíduos sintópicos a Ancova demonstrou que há efeito da espécie sobre os traços independentemente do CRC (Tabela 4). As comparações entre pares mostraram que há diferença entre os traços do grupo *T. aff. torquatus* e do grupo *T. hispidus*, sendo que o último grupo, em média, apresenta traços menores, exceto no traço 'FUC', em que essa última espécie apresenta média maior (Figuras 6, 7 e 8).

A Ancova demonstrou também que há efeito da espécie sobre os traços independentemente do CRC quando analisando as espécies de todas as localidades, exceto o traço 'FUC' (Tabela 4). As comparações entre pares mostraram que há diferença entre os traços do grupo *T. aff. torquatus* e do grupo *T. hispidus*, sendo que o último grupo, em média, apresenta traços menores, exceto no traço 'FUC', que não apresentou diferenças entre as médias (Figuras 6, 7 e 8).

Tabela 4 – Descrição dos resultados da ANCOVA para os traços de *T. aff. torquatus* e *T. hispidus*. Comprimento dos cornos urodeais (FUC), comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR), comprimento total da genitália feminina (FIGL).

Grupo	Traço	DF	DF resíduos	F	P
Curvelo	FUC	1	18	5.81	0.027
	FPUR	1	18	11.24	0.003
	FIGL	1	18	4.87	0.040
Todas as localidades	FUC	1	53	0.0007	0.98
	FPUR	1	53	21.82	<0.0001
	FIGL	1	53	11.83	0.001

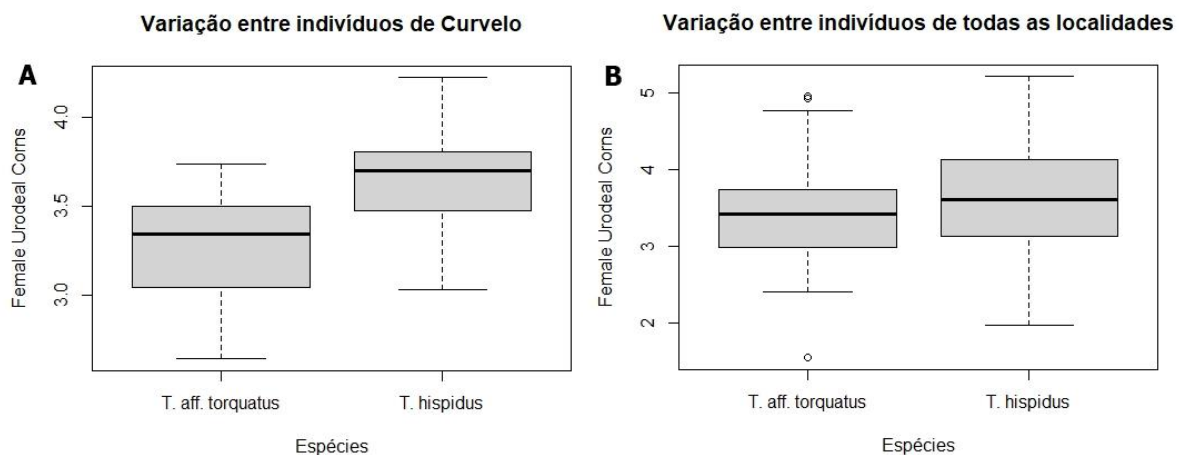


Figura 6 – Variação do traço comprimento dos cornos urodeais (FUC) entre as espécies. A- Comparação entre indivíduos de Curvelo B- Comparação entre indivíduos de todas as localidades.

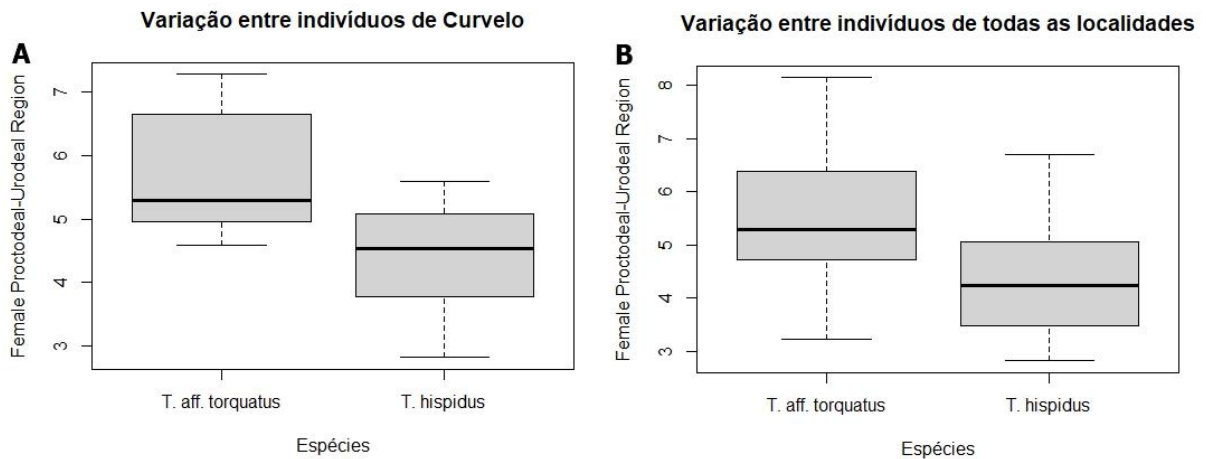


Figura 7 –Variação do traço comprimento da região proctodeal-urodeal (FPUR) entre as espécies. A- Comparação entre indivíduos de Curvelo B- Comparação entre

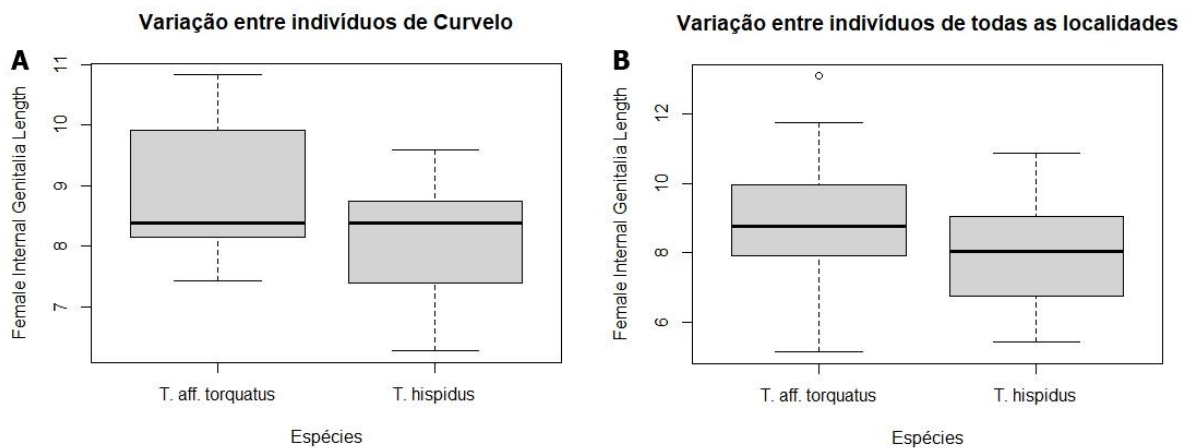


Figura 8 – Variação do traço comprimento total da genitália feminina (FIGL) entre as espécies. A- Comparação entre indivíduos de Curvelo B- Comparação entre indivíduos de todas as localidades.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A maioria dos estudos com animais tratando de deslocamento de caracteres reprodutivos (RCD - sigla em inglês) tem abordado mudanças em caracteres comportamentais: acústico (Gordon et al., 2017; Pfennig, 2000; Wheatcroft & Qvarnström, 2017; Marshall e Cooley, 2000; Cooley et al., 2001; Jang & Gerhardt, 2006), visual (Waage 1979; Lukhtanov et al., 2005) ou feromonal (Gries et al., 2001). E poucos estudos demonstraram claramente o RCD em características associadas ao isolamento pré-zigótico, pós-acasalamento, como a morfologia genital (Howard, 1993; Kawano 2002, 2003; Kameda et al., 2009).

Stuart e Losos (2013) fizeram uma ampla revisão sobre deslocamento de caracteres e reexaminaram revisões anteriores sobre o assunto (Schluter, 2000b; Dayan & Simberloff, 2005) e complementaram com dados obtidos em sua pesquisa. Segundo os autores, deve considerar seis critérios com a finalidade de excluir processos alternativos que podem levar a padrões semelhantes ao deslocamento de caráter (Schluter & McPhail, 1992), a saber: (1) diferenças fenotípicas entre espécies resultam de diferenças genéticas evoluídas entre populações em simpatria *versus* alopatria; (2) o padrão de deslocamento do caráter não poderia surgir por acaso; (3) o padrão de deslocamento de caráter resulta de uma mudança evolutiva ao invés de classificação de espécies; (4) mudanças no fenótipo (ou seja, deslocamento de caráter) correspondem às mudanças ecológicas no uso de recursos; (5) os locais de alopatria e simpatria não diferem consideravelmente no ambiente e (6) a evidência mostra que fenótipos semelhantes competem por recursos limitados.

A quebra de qualquer critério indica que as diferenças observadas não são causadas por deslocamento de caráter (Stuart & Losos, 2013). Eles observaram que há uma escassez de trabalhos em que os seis critérios são cumpridos, com uma taxa de pouco mais de 5% das evidências examinadas nas três revisões atendendo a esses critérios, sendo restritos a alguns grupos como lagartos anoles, peixes esganagatas, tentilhões de Darwin, sapos pé de espada (spadefoot) e guildas de carnívoros e roedores (Stuart & Losos, 2013; Schluter, 2000b).

Nossos resultados apontam que há uma maior divergência na forma da vagina de *T. hispidus* e *T. aff. torquatus* quando se encontram em sintopia, e uma sobreposição da forma quando não, sendo um possível indicativo de deslocamento

de caracteres. Nossos achados atendem aos critérios supracitados, no entanto, como estamos utilizando caracteres reprodutivos, é difícil afirmar certamente, sob a perspectiva ecológica proposta, sobre os critérios 4 e 6. Porém está claro que as espécies analisadas estão disputando por um recurso limitado, que nesse caso, seria o parceiro sexual, para evitar ou diminuir a possibilidade de hibridização e as consequências que isso acarretaria.

Mostramos também um efeito da espécie sobre os traços, onde *T. aff. torquatus* apresentou inclinação alométrica positiva apenas para o traço FPUR, enquanto *T. hispidus* alometria negativa para FPUR e FIGL. No entanto ao analisarmos todo o grupo amostral (Curvelo e grupo externo), todas as características genitais femininas apresentaram inclinação alométrica positiva. No geral, nossos resultados divergem do que há na literatura que apontam alometria negativa para traços da genitália feminina (De-Lima et al. 2019).

Nós apresentamos aqui, ao que se sabe, o primeiro trabalho com análise morfológica de vaginas em espécies sintópicas, com possível demonstração de RCD em caracteres genitais em Squamata. O que se espera é que ao longo do tempo o deslocamento do caráter reprodutivo da morfologia genital evolua para reduzir a ocorrência de acasalamentos caros e hibridização (Sota & Kubota, 1998; Kawano, 2002, 2004; McPeck et al., 2008; Kameda et al., 2009). Para verificar se essas divergências na forma da genitália feminina previnem ou não a hibridização dessas espécies, além de testar a correspondência das genitálias feminina e masculina, seria necessário fazer teste genético.

LITERATURA CITADA

Adams DC & Rohlf FJ. 2000. Ecological character displacement in *Plethodon*: biomechanical differences found from a geometric morphometric study. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97(8)**: 4106-4111.

Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* **71**: 5–16.

Arnold ML. 1997. Hibridização e evolução natural. Nova York: Oxford University Press.

Arnold ML. 2006. Evolução por troca genética. Nova York: Oxford University Press.

Arnold ML & Burke JM. 2006. Natural hybridization. In: Fox CW & Wolf JB, editores. *Genética evolutiva: conceitos e estudos de caso*. Nova York: Oxford University Press. pp. 399–413.

Arruda JLS, Arruda DA & Cechin SZ. 2008. Reptilia, Squamata, Tropicuridae, *Tropidurus torquatus*: Distribution extension. *Check List* **4**: 269–271.

Ávila-Pires TC. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zoologische Verhandelingen* **299**: 1-706.

Axtell RW. 1972. Hybridization between western collared lizards with a proposed taxonomic rearrangement. *Copeia*, **4**: 707-727.

Brown WL & Wilson EO. 1956. Character displacement. *Systematic zoology* **5(2)**: 49-64.

Burt CE & Burt MD. 1930. The South American lizards in the collection of the United States National Museum. *Proceedings of the United States National Museum*, **78(6)**: 1–52.

Burt CE & Burt MD. 1931. South American lizards in the collection of the American Museum of Natural History. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **61**: 227–395.

Carvalho ALG. 2013. On the distribution and conservation of the South American lizard genus *Tropidurus* Wied-Neuwied, 1825 (Squamata: Tropicuridae). *Zootaxa* **3640(1)**: 42-56.

Cei JM. 1993. Reptiles del Noroeste, Nordeste y Este de la Argentina - Herpetofauna de las Selvas Subtropicales, Puna y Pampas. Monografía XIV. *Museo Regionale di Scienze Naturali*, Torino, Italia. 950 p.

Cooley JR, Simon C, Marshall DC, Slon K & Ehrhardt C. 2001. Allochronic speciation, secondary contact, and reproductive character displacement in periodical cicadas (Hemiptera: Magicicada spp.): genetic, morphological, and behavioural evidence. *Molecular Ecology* **10(3)**: 661-671.

Coyne JA & Orr HA. 2004. Speciation. Sinauer Associates. Sunderland, MA, **276**: 281.

Dayan T & Simberloff D. 2005. Ecological and community-wide character displacement: the next generation. *Ecology Letters* **8(8)**: 875-894.

De-Lima AKS, Paschoaletto IP, Pinho L de O Benmamman P & Klaczko J. 2019. Are hemipenial traits under sexual selection in *Tropidurus* lizards? Hemipenial development, male and female genital morphology, allometry and coevolution in *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae). *PLOS ONE* **14(7)**: e0219053. doi:10.1371/journal.pone.0219053

Dessauer HC, Cole CJ & Townsend CR. 2000. Hybridization Among Western Whiptail Lizards (*Cnemidophorus Tigris*) In Southwestern New Mexico: Population Genetics, Morphology, And Ecology Inthree Contact Zones. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **2000(246)**: 1-148.

Dobzhansky T. 1937. Genetic nature of species differences. *The American Naturalist* **71(735)**: 404-420.

Etheridge R. 1970. *Tropidurus*. In: Peters, J.A. & Donoso-Barros, R. (Eds.), *Catalogue of the Neotropical Squamata*, Part II: Lizards and Amphisbaenians. *Smithsonian Institution*, Washington, pp. 264–270.

Frost DR. 1992. Phylogenetic Analysis and Taxonomy of the *Tropidurus* Group of Lizards (Iguania: Tropiduridae). *American Museum Novitates*, **3033**: 1–68.

Frost DR, Rodrigues MT, Grant T, Titus TA. 2001. Phylogenetics of the lizard genus *Tropidurus* (Squamata: Tropiduridae: Tropidurinae): Direct optimization, descriptive efficiency, and sensitivity analysis of congruence between molecular data and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **21 (3)**: 352 – 371.

Galoyan EA, Tsellarius EY & Arakelyan MS. 2019. Friend-or-foe? Behavioural evidence suggests interspecific discrimination leading to low probability of hybridization in two coexisting rock lizard species (Lacertidae, *Darevskia*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **73(4)**: 46.

Gordon NM, Ralph MZ & Stratman KD. 2017. Rapid character displacement of different call parameters in closely related treefrogs (*Hyla cinerea* and *H. gratiosa*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **71(8)**: 1-8.

- Grant PR. 1972.** Convergent and divergent character displacement. *Biological journal of the Linnean Society* **4(1)**: 39-68.
- Grant PR. 1999.** Ecology and evolution of Darwin's finches. Princeton University Press.
- Gries G, Schaefer PW, Gries R, Liška J & Gotoh T. 2001.** Reproductive character displacement in *Lymantria monacha* from northern Japan?. *Journal of chemical ecology* **27(6)**: 1163-1176.
- Howard DJ. 1993.** Reinforcement: origin, dynamics, and fate of an evolutionary hypothesis. *Hybrid zones and the evolutionary process* 46-69.
- Jančúchová-Lásková J, Landová E & Fryta D. 2015.** Are genetically distinct lizard species able to hybridize? A review. *Current Zoology*, **61(1)**: 155-180.
- Jang Y & Gerhardt HC. 2006.** Divergence in female calling song discrimination between sympatric and allopatric populations of the southern wood cricket *Gryllus fultoni* (Orthoptera: Gryllidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **60(2)**: 150-158.
- Jenssen TA. 1977.** Morphological, behavioral and electrophoretic evidence of hybridization between the lizards, *Anolis grahami* and *Anolis lineatopus neckeri*, on Jamaica. *Copeia*, 270-276.
- Kawano K. 2002.** Character displacement in giant rhinoceros beetles. *The American Naturalist* **159(3)**: 255-271.
- Kawano K. 2003.** Character displacement in stag beetles (Coleoptera: Lucanidae). *Annals of the Entomological Society of America* **96(4)**: 503-511.
- Kawano K. 2004.** Developmental stability and adaptive variability of male genitalia in sexually dimorphic beetles. *The American Naturalist* **163(1)**: 1-15.
- Kameda Y, Kawakita A & Kato M. 2009.** Reproductive character displacement in genital morphology in Satsuma land snails. *The American Naturalist* **173(5)**: 689-697.
- Klingenberg CP. 2011.** MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources* **11(2)**: 353-357.
- Kunz T & Borges-Martins M. 2013.** A new microendemic species of *Tropidurus* (Squamata: Tropiduridae) from southern Brazil and revalidation of *Tropidurus catalanensis* Gudynas & Skuk, 1983. *Zootaxa* **3681 (4)**: 413–439.
- Lack, D. 1947.** Darwin's finches. CUP Archive. In Pfennig DW & Pfennig KS. 2010. Character Displacement and the Origins of Diversity. *The American Naturalist* **176(S1)**: S26–S44. doi:10.1086/657056

- Leaché AD & Cole CJ. 2007.** Hybridization between multiple fence lizard lineages in an ecotone: locally discordant variation in mitochondrial DNA, chromosomes, and morphology. *Molecular Ecology* **16(5)**: 1035-1054.
- Losos JB. 2000.** Ecological character displacement and the study of adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97(11)**: 5693-5695.
- Lukhtanov VA, Kandul NP, Plotkin JB, Dantchenko AV, Haig D & Pierce NE. 2005.** Reinforcement of pre-zygotic isolation and karyotype evolution in *Agrodiaetus* butterflies. *Nature* **436(7049)**: 385-389.
- Marshall DC & Cooley JR. 2000.** Reproductive character displacement and speciation in periodical cicadas, with description of a new species, 13-year *Magicicada neotredecim*. *Evolution* **54(4)**: 1313-1325.
- Mayr E. 1942.** Systematics and the origin of species Columbia University Press. *New York*, 334.
- McPeck MA, Shen L, Torrey JZ & Farid H. 2008.** The tempo and mode of three-dimensional morphological evolution in male reproductive structures. *The American Naturalist* **171(5)**: E158-E178.
- Panov EN & Zykova LY. 2016.** Rock agamas of Eurasia. Moscow: KMK *Scientific Press*.
- Pfennig KS. 2000.** Female spadefoot toads compromise on mate quality to ensure conspecific matings. *Behavioral Ecology* **11(2)**: 220-227.
- Pfennig DW & Murphy PJ. 2003.** A test of alternative hypotheses for character divergence between coexisting species. *Ecology* **84(5)**: 1288-1297.
- Pinho C, Kaliontzopoulou A, Carretero MA, Harris DJ & Ferrand N. 2009.** Genetic admixture between the Iberian endemic lizards *Podarcis bocagei* and *Podarcis carbonelli*: evidence for limited natural hybridization and a bimodal hybrid zone. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **47(4)**: 368-377.
- R Development Core Team (2019).** R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reinhardt J & Lütken C. 1861.** Bidrag til Kundskab om Brasiliens Padder og Öglerne. *Videnskabelige Meddelelser Dansk Naturhistorisk Forening*, **1861**: 143–242.
- Robinson BW & Wilson DS. 1994.** Character release and displacement in fishes: a neglected literature. *The American Naturalist* **144(4)**: 596-627.

Rodrigues MT. 1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia* **31(3)**: 1–230.

Rodrigues MT, Kasahara S & Yonenaga-Yassuda Y. 1988. *Tropidurus psammonastes*: Uma nova espécie do grupo *torquatus* com notas sobre seu cariótipo e distribuição (Sauria, Iguanidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* **36(26)**: 307–313.

Rohlf FJ. (2013). Tps Utility program. Ecology and Evolution. *SUNY at Stony Brook*.

Rohlf FJ. (2015). Ecology and Evolution. *SUNY at Stony Brook*.

Sánchez-Martínez PM, Ramírez-Pinilla MP & Miranda-Esquivel DR. 2007. Comparative histology of the vaginal–cloacal region in Squamata and its phylogenetic implications. *Acta Zoologica* **88(4)**: 289-307.

Schneider CA, Rasband WS & Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9(7)**: 671–675.

Schluter D. 2000a. The Ecology of Adaptive Radiation Oxford University Press

Schluter D, Price TD & Grant PR. 1985. Ecological character displacement in Darwin's finches. *Science* **227(4690)**: 1056-1059.

Schluter D. 2000b. Ecological character displacement in adaptive radiation. *the american naturalist* **156(S4)**: S4-S16.

Schluter D & McPhail JD. 1992. Ecological character displacement and speciation in sticklebacks. *The American Naturalist* **140(1)**: 85-108.

Sena, MAD. 2015. Filogenia e evolução dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* (Squamata: Tropiduridae) (Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo).

Sota T & Kubota K. 1998. Genital lock-and-key as a selective agent against hybridization. *Evolution* **52(5)**: 1507-1513.

Spix JB. 1825. Animalia nova sive species nova lacertarum quas in itinere per Brasiliam annis MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I Bavariae Regis suscepto collegit et descripsit Dr. J. B. de Spix. T.O. Weigel, Lipsiae, 26 pp.

Stuart YE & Losos JB. 2013. Ecological character displacement: glass half full or half empty? *Trends in Ecology & Evolution* **28(7)**: 402–408. doi:10.1016/j.tree.2013.02.014

Tarroso P, Pereira RJ, Martínez-Freiría F, Godinho R & Brito JC. 2014. Hybridization at an ecotone: ecological and genetic barriers between three Iberian vipers. *Molecular ecology*, **23(5)**: 1108-1123.

Vanzolini PE & Gomes N. 1979. On *Tropidurus hygomi*: redescription, ecological notes, distribution and history (Sáuria, Iguanidae). *Papeis Avulsos de Zoologia*, **32**: 243–259.

Vitt LJ, Zani PA & Caldwell JP. 1996. Behavioural ecology of *Tropidurus hispidus* on isolated rock outcrops in Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* **12**:81–101.

Waage JK. 1979. Reproductive character displacement in *Calopteryx* (Odonata: calopterygidae). *Evolution* 104-116.

Warton DI, Duursma RA, Falster DS & Taskinen S. 2012. smatr 3—an R package for estimation and inference about allometric lines. *Methods in Ecology and Evolution* **3(2)**: 257-259.

Wheatcroft D & Qvarnström A. 2017. Reproductive character displacement of female, but not male song discrimination in an avian hybrid zone. *Evolution* **71(7)**: 1776-1786.

Wied-Neuwied MP zu. 1820. Reise nach Brasilien in den jahren 1815 bis 1817. Vol. 1. H.L. Brönnner, Frankfurt, 454 pp.

Wied-Neuwied MP zu. 1820. Reise nach Brasilien in den jahren 1815 bis 1817. Vol. 2. H.L. Brönnner, Frankfurt, 364 pp.

Wied-Neuwied MP zu. 1825. Beiträge zur Naturgeschichte von Brasilien, Vol.1. Gr. H.S. priv. Landes-Industrie-Comptoirs, Weimar, 646 pp.

APÊNDICE

Apêndice I. Coleções consultadas e espécimes analisados

Coleções: Laboratório de Anatomia Comparativa de Vertebrados da Universidade de Brasília (LACV - UnB), Laboratório de Herpetologia da Universidade de São Paulo (USP) e Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT).

Espécimes analisados:

- LACV:

Tropidurus itambere (N= 2)

LACV3843; LACV3849.

Tropidurus oreadicus (N= 2)

LACV3853; LACV3858.

Tropidurus sp. nov (N= 5)

LACV3841; LACV3842; LACV3844; LACV3847; LACV3850.

Tropidurus xanthochilus (N= 1)

LACV3852.

- USP:

Tropidurus hispidus (N= 23)

MTR29774; MTR29776; MTR29779; MTR29786; MTR29790; MTR29802; MTR29803;
MTR29805; MTR29835; MTR29862; MTR29926; MTR29931; MTR30453; MTR30454;
MTR30469; MTR30471; MTR30473; MTR30474; MTR30475; MTR30477; MTR30478;
MTR30481; MTR30483.

T. montanus (N= 2)

MTR30457; MTR30459.

T. aff. torquatus (N= 33)

MTR29780; MTR29781; MTR29783; MTR29784; MTR29791; MTR29792; MTR29809;
MTR29812; MTR29819; MTR29833; MTR29837; MTR29843; MTR29858; MTR29873;
MTR29885; MTR29887; MTR29910; MTR29920; MTR29934; MTR29939; MTR29953;
MTR29958; MTR29964; MTR29970; MTR30460; MTR30461; MTR30463; MTR30465;
MTR30468; MTR30484; MTR30487; MTR30489; MTR30490.

- UFMT:

Tropidurus oreadicus (N= 10)

UFMT11361; UFMT11363; UFMT11365; UFMT11368; UFMT11369; UFMT11370;
UFMT11376; UFMT11377; UFMT11378; UFMT11385.