



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

RADAN ELVIS MATIAS DE OLIVEIRA

**MORFOLOGIA DA BOLSA CLOACAL DE EMAS**  
**(*Rhea americana americana* LINNAEUS, 1758)**

MOSSORÓ-RN

2017

RADAN ELVIS MATIAS DE OLIVEIRA

**MORFOLOGIA DA BOLSA CLOACAL DE EMAS**

**(*Rhea americana americana* LINNAEUS, 1758)**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia e Biotecnologia Animal

Orientador: Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira

MOSSORÓ-RN

2017

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

O48m Oliveira, Radan Elvis Matias de.  
MORFOLOGIA DA BOLSA CLOACAL DE EMAS (Rhea americana americana LINNAEUS, 1758) / Radan Elvis Matias de Oliveira. - 2017.  
83 f. : il.

Orientadora: Moacir Franco de Oliveira.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2017.

1. Macroscopia. 2. Microscopia. 3. Ratitas. 4. Varredura. 5. Vascularização Arterial. I. Oliveira, Moacir Franco de , orient. II. Título.

RADAN ELVIS MATIAS DE OLIVEIRA

**MORFOLOGIA DA BOLSA CLOACAL DE EMAS**

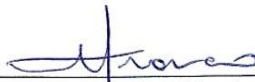
**(*Rhea americana americana* LINNAEUS, 1758)**

Dissertação apresentada ao Mestrado em  
Ciência Animal do Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal da Universidade  
Federal Rural do Semi-Árido como requisito  
para obtenção do título de Mestre em Ciência  
Animal.

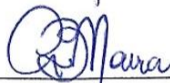
Linha de Pesquisa: Morfofisiologia e  
Biotecnologia Animal

Defendida em: 21 /02 /2017

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira (UFERSA)  
Presidente



Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra de Moura (UFERSA)  
Membro Examinador



Prof. Dra. Ana Bernadete Lima Fragoso (UERN)  
Membro Examinador

*Aos meus pais, Maria Elenilde Matias e Roberto de Oliveira e Silva pelo o amor, carinho e pela fé depositada em mim.*

*Ao meu professor orientador Dr. Moacir Franco de Oliveira por todos os conhecimentos e conselhos transmitidos na minha formação e por sua amizade.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **DEUS**, porque em todos os momentos da minha vida sempre estive ao meu lado, caminhou comigo, deu-me saúde, abriu as portas da minha felicidade, protegeu-me contra os perigos deste mundo. Não sei o que seria de mim se não fosse esse DEUS tão maravilhoso. MUITO OBRIGADO SENHOR!!!

À minha **Mãe**, Maria Elenilde Matias, pelo amor, pelo carinho, por ficar noites em claro sofrendo comigo nos hospitais quando tinha crises alérgicas e pela fé depositada em mim. Não sei o que seria de mim se não fosse essa mulher guerreira, conseguiu criar cinco filhos com muita dedicação e todos muito bem-criados. TE AMO MAINHA.

Ao meu **Pai**, Roberto de Oliveira e Silva, pelo seu amor, carinho e apoio, sempre me ensinou o que era o certo e o errado, só precisava olhar com uma cara feia que eu já sabia que estava fazendo coisa errada, isso se não desse logo um grito. Agradeço a Deus todos os dias por você ser o meu pai.

À minha **Avó** que tanto amo, Maria Feliciano dos Santos, pelo amor, carinho e apoio. Agradeço a Deus todos os dias por sua recuperação, esses últimos meses foram de muita luta, mas graças ao nosso Senhor, minha velhinha está ficando zerada.

Aos meus **Irmãos**, Maércia Romara Oliveira e Silva, Renan Everson Matias de Oliveira, Elizaiane Raissa Matias de Oliveira, José Romério Matias de Oliveira e Rita de Kássia Matias de Oliveira, pelo amor e carinho de todos.

Ao meu grande amigo e professor orientador, **Moacir Franco de Oliveira**, por sua paciência e dedicação em passar seus conhecimentos e pelos seus conselhos. Você foi muito importante na minha formação, tanto profissional quanto pessoal.

Ao meu amigo e professor, **Carlos Eduardo Bezerra de Moura**, pela sua amizade, apoio e por ter aceitado o convite para participar da minha banca de defesa, como também à sua esposa e amiga **Maria Tereza Marinho Miranda** por sua amizade e carinho.

À professora, **Simone Almeida Gavilan**, pela grande amizade, pelo carinho e por ter aceitado o convite para participar da minha banca de defesa. Sempre continue sendo esta pessoa maravilhosa, muitíssimo obrigado professora. Te adoro.

Ao meu grande professor e amigo, **José Fernando Gomes de Albuquerque**, pelos ensinamentos de anatomia veterinária durante a graduação e pela grande amizade. Sempre estando disposto em ajudar em todos os momentos da minha vida acadêmica. Valeu por tudo professor.

Ao meu grande amigo e irmão, **Felipe Venceslau Câmara**, por sua amizade e pelo o apoio nas horas que mais precisei, principalmente em todas as etapas do processamento do meu experimento, realmente você é um amigo de verdade, neste mundo existem poucas pessoas como você, espero que sempre seja essa pessoa maravilhosa.

Ao meu grande amigo, **Oberlan de Oliveira Lima Medeiros**, pela amizade, carinho e os momentos divertidos em nossas vidas. Continue sempre sendo esta pessoa maravilhosa e de bom coração, obrigado mais uma vez por fazer parte da minha vida.

À minha grande amiga, **Franceliusa Delys de Oliveira** (NATAL), pela amizade, carinho e apoio durante todo o processamento da microscopia eletrônica de transmissão e varredura no laboratório da USP, pela estadia em sua casa e dos passeios em Sampa. Se não fosse você não tinha conhecido tantos lugares bacanas.

Ao meu amigo, **Paulo Ramos Silva Santos**, pela amizade, carinho e apoio. Foram muitos dias de muita diversão em São Paulo.

Aos meus grandes amigos **Allan Magnus Carvalho Moreno**, **Juliette Marie Azevedo Franco** e **Manuela Cristina Rego de Carvalho**, agradeço pela amizade e pelos momentos de muita alegria e diversão, adoro todos vocês.

Aos meus grandes amigos, **Affonso Recipute** e **Adierson Araújo Medeiros**, pela amizade e conselhos, são pessoas sensacionais de bom coração. Muito obrigado pela amizade.

Ao meu grande amigo, **Iago Antônio Ananias Silva** pela a amizade, e por todos os momentos bons e ruins que passamos em Mossoró.

À minha grande amiga e irmã de coração, **Márcia Rodrigues de Pontes**, pela grande amizade, pelo amor e carinho depositado em mim, pessoa mais que especial em minha vida.

Ao meu grande amigo e chefe, **Flávio José de Lima e Silva** e à sua esposa, **Fátima Regina Santos Almeida Lima**, pela amizade, carinho e apoio. São pessoas extraordinárias e de bom coração. Agradeço a Deus por ter colocados em minha vida.

Aos meus amigos do Projeto Cetáceos da Costa Branca (PCCB), **Iara Cecília da Costa**, **Werona de Oliveira Barbosa Fernandes**, **Rysonely Maclay de Oliveira**, **Iraê Terra Guedes de Oliveira**, **Karina Passini Tarozzi**, **Antonysmar Pereira Martins** (Toninho), **Márcio José Dantas Alves**, **Antônio Marcos da Silva** (Tony), **Heloisa Cristina de Moraes e Sá Leitão**, **Juliana Maia Lorena Pires**, **Augusto da Boa Viagem Freire**, **Ana Bernadete Lima Fragoso**, **Edson Soares Júnior** e **Diogo Mickael Rolim e Silva**, pela amizade de todos, carinho e pelos dias de alegria na base de reabilitação de fauna marinha em Areia Branca-RN.

Aos meus grandes amigos do projeto cetáceos da Costa Branca Base-Natal, **Daniel Solon Dias de Farias**, **Ana Emília Barbosa de Alencar**, **Aline da Costa Bomfim** e **Jean Carlos da Silva Nascimento**, pela amizade e pelos dias de diversão e alegria na base Natal. Espero que nossa amizade persista para sempre.

Aos meus grandes amigos, **Wesley Bruno Carneiro** e **Francisco das Chagas de Andrade Júnior**, pela amizade, apoio e farras em Mossoró.

Aos meus amigos do curso de Veterinária da UFERSA, **Rebeca Jéssica Falcão Câmara**, **Eduardo Gomes Bezerra**, **Grazielly Dantas da Costa**, **Elianderson Barbosa Portela**, **Neymar Mendes Lucena**, e a todos os outros que vivenciaram comigo durante a graduação e o mestrado. Um agradecimento de coração pela amizade, carinho e momentos inesquecíveis em Mossoró.

Aos meus amigos do laboratório, **Carlos Magno Oliveira Júnior**, **André Menezes do Vale**, **Gleidson Benevides de Oliveira**, **Ferdinando Fernandes Vinícius Bezerra**, **Luã Barbalho de Macedo**, **Herson da Costa Silva**, **Igor Renno Guimarães Lopes**, **Hélio Noberto de**

**Araújo Júnior e André Vinícius Nunes Silva**, pela amizade, apoio e contribuições nos resultados deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação, **Valéria Veras de Paula, Jean Berg Alves da Silva, Jael Soares Batista, José Domingues Fontenele Neto, Alexandre Rodrigues Silva**, e aos demais que contribuíram para a minha formação, transmitindo seus conhecimentos e experiência de vida.

Aos meus grandes amigos tops, **Carolina de Medeiros Tavares, Lenita Carvalho Lopes, Larissa Leykman da Costa Nogueira e Gustavo Caldas Leite Raposa**, pela amizade de todos, companheirismo e pelos dias de alegria.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão de bolsas de estudos durante a realização do mestrado.

À **Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA)** e ao **CEMAS - UFERSA**, tornando possível a conclusão do meu mestrado.

À **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP)**, pelo auxílio na realização das análises das técnicas de microscopia eletrônica de varredura e transmissão. Em especial à Chefe do Departamento de Anatomia, a professora **Maria Angélica Miglino** e à Técnica do laboratório de microscopia eletrônica **Rose Eli Grassi Rici**, foram pessoas importantes para obtenção destes resultados. Um muito obrigado.

Aos funcionários do CEMAS, **Antônio Almeida dos Santos, Manoel Messias dos Santos (Cuscuz) e Francisco**, pela contribuição nas coletas dos materiais. Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação...

“Temos o destino que merecemos. O nosso destino está de acordo com os nossos méritos”.

(Albert Einstein)

## RESUMO

A bolsa cloacal é o órgão das aves responsável pela maturação e transferência de linfócitos B para outros tecidos. Apesar da importância deste órgão nos mecanismos imunológicos desses animais, são poucas as informações sobre o desenvolvimento e ultraestrutura em emas jovens. Desta forma, objetivou-se descrever a macroscopia, microscopia, ultraestrutura e vascularização arterial da bolsa cloacal de emas jovens. Neste estudo, utilizou-se 26 animais de ambos os sexos (8 machos e 18 fêmeas), sendo 20 animais destinados à macroscopia e vascularização arterial e os seis para a microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão e microscopia eletrônica de varredura. A bolsa cloacal de emas é um órgão oco, arredondado, ligeiramente achatado, coloração rosada e com mucosa interna pregueada, localizada dorsalmente à cloaca, com quem se comunica por meio de um óstio. Verificou-se que, a irrigação da bolsa cloacal ocorre a partir de ramos terminais da artéria aorta abdominal, tais como as artérias ilíacas internas direita e esquerda e a mesentérica caudal. Das ilíacas internas direita e esquerda originaram-se as artérias pudendas internas direita e esquerda, que por sua vez deram origem às artérias bursocloacais e cloacais direita e esquerda em todos os animais analisados. Microscopicamente, a bolsa cloacal da ema apresentou, em todas as idades, mucosa interna pregueada composta por lóbulos linfóides de diversos tamanhos e organizados como estrutura alveolar, apresentando dois tipos de epitélios de revestimento, o epitélio associado ao lóbulo bursal, do tipo pavimentoso simples e o epitélio interlobular, correspondendo ao estratificado colunar. Esse lóbulo compunha-se de zona cortical, zona corticomedular e zona medular. Dispostos nesses lóbulos, verificou-se por meio da microscopia de transmissão a existência de linfócitos de tamanhos variados, linfoblastos, capilares sanguíneos, células reticulares epiteliais e macrófagos. Na varredura, a superfície da mucosa dos lóbulos bursais apresentaram projeções poligonais, com a presença de curtas microvilosidades em toda superfície. Conclui-se, que a bolsa cloacal das emas jovens se apresentou como estrutura distinta da cloaca, com tamanho variado em função da idade, e ainda, observou-se seu desenvolvimento a partir da sexta semana de vida.

**Palavras-chave:** Macroscopia. Microscopia. Ratitas. Varredura. Vascularização arterial.

## ABSTRACT

The cloacal bursa is the responsible organ of the birds for the maturation and transfer of lymphocytes to other tissues. Despite the importance of this organ in the immunological mechanisms of these animals, there is little information on the development and ultrastructure in young greater rhea. The objective of this study was to describe macroscopy, microscopy, ultrastructure and arterial vascularization of cloacal bursa of young greater rhea. In this study, 26 animals of both sexes (8 males and 18 females) were used, 20 of which were animals for macroscopy and arterial vascularization, and the six for light microscopy, transmission electron microscopy and scanning electron microscopy. The greater rhea cloacal bursa is a hollow organ, rounded, slightly flattened, pinkish color and with pleated inner mucosa, located dorsally to the cloaca, with whom it communicates through an ostium. It was verified that, irrigation of the cloacal sac occurs from terminal branches of the abdominal aorta, such as the right and left internal iliac arteries and the caudal mesenteric arteries. Left and right internal iliac arteries originated the right and left internal pudendal arteries, which in turn gave rise to right and left bursocloacal and cloacal arteries in all animals analyzed. Microscopically, the cloacal sac of the emu presented, at all ages, the pleated internal mucosa composed of lymphoid lobes of various sizes and organized as alveolar structure, presenting two types of lining epithelia, the bundle lobe epithelium, the simple squamous type and interlobular epithelium, corresponding to the columnar stratification. These lobes consisted of cortical zone, corticomedullar zone and medullar zone. Arranged in these lobes, the existence of lymphocytes of various sizes, lymphoblasts, blood capillaries, epithelial reticular cells and macrophages were verified by transmission microscopy. In the scanning, the surface of the mucosa of the bursal lobes presented polygonal projections, with the presence of small microvilli on the whole surface. It was concluded that the cloacal bursa of the young greater rhea was presented as a distinct structure of the cloaca, with varied size as a function of age, and also, its development was observed from the sixth week of life.

**Keywords:** Macroscopy. Microscopy. Ratitas. Scanning. Vascularization Arterial.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Ema (*Rhea americana americana*). **Fonte:** Acervo pessoal (2015).....26
- Figura 2:** Secção mediana da cloaca, desenho esquemático. Em (1) cólon; (2) coprodeu; (2') prega coprourodeal; (3) urodeo; (3') prega uroproctodeal; (4) proctodeo; (4') prega bursoproctodeal; (5) entrada da cloaca; (6) óstio (cloacal) do ureter; (7) papila do ducto deferente; (8) posição do óstio do oviduto (somente do lado esquerdo); (9) bolsa cloacal; (10) pele. **Fonte:** Arquivo pessoal (2017).....27
- Figura 3:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de codorna japonesa. Em A, observa-se as pregas da mucosa da bolsa cloacal, constituído de um lúmen (1), epitélio estratificado (2), lóbulo ou folículo bursal (3), túnica mucosa (4), túnica muscular (5) e túnica serosa (6). Em B, verifica-se o lumen da bolsa cloacal (1), epitélio pseudoestratificado (2), trabéculas de tecido conjuntivo (3), medula do lóbulo (4), córtex do lóbulo (5) e tufo epitelial (6). Hematoxilina Eosina (HE). **Fonte:** (AL-TEMEMY et al., 2011).....28
- Figura 4:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de avestruz. Em A, observa-se o lóbulo bursal, dividido em três zonas, a zona cortical (Co), corticomedular (MZ) e medular (M). Em B, verifica-se o epitélio do lóbulo bursal (MF). Hematoxilina Eosina (HE). **Fonte:** (SONG et al., 2012).....29
- Figura 5:** Centro de Multiplicação de Animais Silvestres – CEMAS. **Fonte:** Bessa (2010)..35
- Figura 6:** Emas recém-nascidas – CEMAS. **Fonte:** Arquivo pessoal (2015). .....36
- Figura 7:** Vascularização arterial da bolsa cloacal da ema. Em (A), nota-se os ramos terminais da aorta abdominal (1), artérias isquiáticas (\*), mesentérica caudal (2) e ilíacas internas (3, 3'). Em (B), observa-se dorsalmente a bolsa cloacal (BC), a artéria mesentérica caudal (2) emitindo dois ramos (2' e 2'') para bolsa cloacal (BC), pudendas internas direita (4) e esquerda (4'). Em (C), verifica-se a bolsa cloacal (BC) localizada dorsalmente à cloaca (C). Observa-se também uma anastomose da artéria mesentérica caudal (2) com um ramo da artéria pudenda interna direita (cabeça de seta). Em (D), nota-se na vista lateral esquerda, artéria mesentérica caudal (2) em anastomose com a artéria pudenda interna esquerda (4'). Em (E), no antímero direito,

evidencia-se a artéria pudenda interna direita (4) originando as artérias bursocloacal crâniodorsal direita (5), bursocloacal dorsolateral direita (6), cloacal direita (7), esta última emitindo dois ramos (7' e 7'') para a bolsa cloacal (BC). Em (F), a partir da vista lateral esquerda tem-se a artéria pudenda interna esquerda (4'), emitindo as artérias bursocloacal crâniodorsal esquerda (5'), bursocloacal dorsolateral esquerda (6'), bursocloacal cranioventral (7') cloacal esquerda (8'), e profundamente a artéria pudenda interna direita (4). Barra: 1 cm. **Fonte:** Revista Bioscience Journal (2016). .....43

**Figura 8:** Modelos de vascularização da bolsa cloacal identificados em emas a partir da artéria mesentérica caudal. Encontram-se identificadas a artéria aorta abdominal (AA), artéria ilíaca interna direita (IID), artéria ilíaca interna esquerda (IIE), artéria pudenda interna direita (PID), artéria pudenda interna esquerda (PIE), artéria bursocloacal direita (BD), artéria bursocloacal esquerda (BE), artéria cloacal direita (CD), artéria cloacal esquerda (CE) e artéria mesentérica caudal (MC). **Fonte:** Revista Bioscience Journal (2016). .....45

**Figura 9:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de emas com 6 semanas de idade. Em (A), observa-se a mucosa, representado pelos lóbulos linfoides (setas) e o epitélio interlobular (cabeça de seta), submucosa (S), muscular (M) e adventícia (A). Em (B), verifica-se o epitélio interlobular (EIL) do tipo estratificado colunar. Em (C), constata o epitélio associado ao lóbulo (EAL) do tipo pavimentoso simples. Em (D), observa-se a camada submucosa (S) com presença de vasos sanguíneos (setas), a camada muscular composta por músculo liso, com suas fibras dispostas de forma longitudinal (M2) e circular (M1), e ainda, a camada adventícia constituída de tecido conjuntivo frouxo (A). Hematoxilina e Eosina (HE). .....47

**Figura 10:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de ema com 6 semanas de vida (A e B). Em (A), observa-se o epitélio associado ao lóbulo bursal (EAL), do tipo pavimentoso simples, a zona medular (M), zona corticomedular (CM), zona cortical (C), tecido conjuntivo frouxo (TCF), PAS positivo e em (B), verifica-se o epitélio interlobular (EIL), do tipo estratificado colunar, também PAS positivo. Ácido Periódico de Schiff (PAS). .....48

**Figura 11:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de ema com zero dia de vida (A e B) e com 15 semanas de idade (C e D). Em (A), observa-se a mucosa, representado pelos lóbulos linfoides (setas) e o epitélio interlobular (cabeça de seta), submucosa (S), muscular (M) e adventícia (A). Em (B), tem-se no lóbulo linfoide três zonas, a medular (M), corticomedular (CM), cortical (C),

vasos sanguíneos (seta preta), tecido conjuntivo frouxo (TCF), capilares na zona corticomedular (setas amarelas), epitélio pavimentoso simples (EAL) e o epitélio estratificado colunar (EIL). Em (C), verifica-se os lóbulos linfoides (setas), onde a zona medular corou mais intensamente do que a zona cortical. Em (D), constata uma zona medular (M), zona corticomedular (CM), zona cortical, capilares na zona corticomedular (setas amarelas) e cistos (cabeça de seta). Hematoxilina Eosina (HE).....49

**Figura 12:** Microscopia eletrônica de transmissão da bolsa cloacal de emas com zero dia de vida (A e B), 6 semanas de idade (C) e 15 semanas de idade (D). Em (A), observa-se célula epitelial reticular (RC) na zona cortical do lóbulo bursal. Em (B), nota-se a presença de macrófago (MAC) na zona cortical do lóbulo bursal. Em (C), verifica-se os linfócitos (setas), linfoblasto (cabeça de seta) na zona medular. Em (D), evidencia-se dois capilares (C) na zona corticomedular, linfócitos (setas) e uma célula reticular (RC) também na mesma zona. .... 50

**Figura 13:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de emas com 6 semanas de idade (A, B, C), e microscopia eletrônica de transmissão em um animal de 6 semanas de idade (D). Em (A), observa-se conjunto de lóbulos bursais interligados por estrutura peduncular. (HE). Em (B), verifica-se a estrutura peduncular com a mucosa constituída de tecido epitelial estratificado colunar com microvilosidades (setas) e a submucosa constituída de tecido conjuntivo frouxo (TCF) com vasos sanguíneos (\*). (HE). Em (C), tem-se a mucosa constituída de tecido epitelial estratificado colunar (setas) e a submucosa constituída de tecido conjuntivo frouxo (TCF) com vasos sanguíneos (\*) e a presença de cistos (cabeça de seta). Azul de Toluidina (AT). Em (D), observa-se por meio da TEM as células da mucosa, constituído de muitos grânulos de mucina intracitoplasmático na região apical (GM), numerosas mitocôndrias (M), o núcleo na região basal da célula (N) e microvilosidades em toda superfície das células (cabeça de seta). .... 51

**Figura 14:** Microscopia eletrônica de transmissão do epitélio estratificado colunar da bolsa cloacal de emas com zero dia de vida (A), 6 semanas de idade (B e C) e 15 semanas de idade (D). Em (A), nota-se os desmossomos (setas) da célula da mucosa (N) com a célula adjacente e a membrana plasmática (cabeças de setas). Em (B), observa-se em destaque o núcleo da célula da mucosa (N), lisossomo (L) e mitocôndrias (M). Em (C), verifica-se a presença do retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido (RER) da mucosa. Em (D), constata-se a presença do complexo de Golgi (CG). .... 52

**Figura 15:** Microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura da bolsa cloacal de emas. Em (A e B), verifica-se o animal com zero dia de vida. Em (C e D), observa-se o crescimento e desenvolvimento dos lóbulos bursais nos animais com 15 semanas de idade. (HE).....53

**Figura 16:** Microscopia eletrônica de varredura da bolsa cloacal de emas com 15 semanas de idade (A e B) e zero dia de vida (C e D). Em (A), observa-se a disposição dos lóbulos bursais da bolsa cloacal como estrutura alveolar. Em (B), pode-se observar no quadrado delineado na Fig. (A), o revestimento epitelial. Em (C), nota-se a superfície da mucosa do lóbulo bursal com várias estruturas poligonais. Em (D), verifica-se as microvilosidades a partir do aumento no quadrado delineado da Fig. (C). .....54

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Morfometria da bolsa cloacal de emas de zero a 15 semanas de idade.....41

**Tabela 2:** Frequência absoluta (N) e relativa (%) dos ramos emitidos pelas artérias bursocloacais e cloacais para os antímeros direito e esquerdo para suprir a bolsa cloacal de emas. **Fonte:** Revista Bioscience Journal (2016).....46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |                                                       |
|--------|-------------------------------------------------------|
| AA     | Aorta Abdominal                                       |
| AT     | Azul de Toluidina                                     |
| BC     | Bolsa Cloacal                                         |
| BD     | Bursocloacal Direita                                  |
| BE     | Bursocloacal Esquerda                                 |
| CD     | Cloacal Direita                                       |
| CE     | Cloacal Esquerda                                      |
| cm     | Centímetro                                            |
| EAL    | Epitélio Associado ao lóbulo                          |
| EIL    | Epitélio Interlobular                                 |
| HE     | Hematoxilina Eosina                                   |
| IID    | Íliaca Interna Direita                                |
| IIE    | Íliaca Interna Esquerda                               |
| MC     | Mesentérica Caudal                                    |
| MEV    | Microscopia Eletrônica de Varredura                   |
| mm     | Milímetro                                             |
| PAS    | Ácido Periódico de Schiff                             |
| PBS    | Tampão Fosfato Salino                                 |
| PID    | Pudenda Interna Direita                               |
| PIE    | Pudenda Interna Esquerda                              |
| SISBIO | Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade |
| TEM    | Microscopia Eletrônica de Transmissão                 |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|   |                  |
|---|------------------|
| ® | Marca registrada |
| % | Porcentagem      |

## SUMÁRIO

|                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                 | <b>22</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                       | <b>25</b> |
| <b>2.1 Ema (<i>Rhea americana</i>).....</b>                               | <b>25</b> |
| <b>2.2 Caracterização Morfológica da Bolsa Cloacal .....</b>              | <b>26</b> |
| 2.2.1 Anatomia Macroscópica.....                                          | 26        |
| 2.2.2 Microscopia.....                                                    | 28        |
| 2.2.3 Ultraestrutura.....                                                 | 30        |
| <b>2.3 Função da Bolsa Cloacal .....</b>                                  | <b>30</b> |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>                                                  | <b>33</b> |
| <b>3.1 Objetivo Geral.....</b>                                            | <b>33</b> |
| <b>3.2 Objetivos Específicos .....</b>                                    | <b>33</b> |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                         | <b>35</b> |
| <b>4.1 Local de Coleta e Material .....</b>                               | <b>35</b> |
| <b>4.2 Macroscopia e Vascularização.....</b>                              | <b>36</b> |
| <b>4.3 Análises dos Resultados Macroscópicos e Vascular .....</b>         | <b>37</b> |
| <b>4.4 Processamento para Microscópio de Luz .....</b>                    | <b>37</b> |
| <b>4.5 Processamento para Microscopia Eletrônica de Transmissão .....</b> | <b>38</b> |
| <b>4.6 Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura.....</b>    | <b>38</b> |
| <b>5 RESULTADOS .....</b>                                                 | <b>41</b> |
| <b>5.1 Macroscopia e Vascularização.....</b>                              | <b>41</b> |
| 5.1.1 Artérias Bursocloacais.....                                         | 41        |
| 5.1.2 Artérias Cloacais .....                                             | 42        |
| 5.1.3 Artéria Mesentérica Caudal.....                                     | 44        |
| <b>5.2 Microscopia de Luz.....</b>                                        | <b>46</b> |
| <b>5.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão.....</b>                     | <b>49</b> |
| <b>5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura .....</b>                      | <b>52</b> |
| <b>6 DISCUSSÃO .....</b>                                                  | <b>56</b> |
| <b>6.1 Macroscopia e Vascularização Arterial.....</b>                     | <b>56</b> |
| <b>6.2 Microscopia de Luz.....</b>                                        | <b>58</b> |
| <b>6.3 Microscopia Eletrônica de transmissão e varredura .....</b>        | <b>60</b> |
| <b>CONCLUSÕES.....</b>                                                    | <b>63</b> |

**REFERÊNCIAS .....64**  
**ANEXOS .....70**



# INTRODUÇÃO

## 1 INTRODUÇÃO

A *Rhea americana americana* é uma das três sub-espécies de *Rhea americana* descritas no Brasil e habita as regiões de cerrados e de caatinga. São consideradas, as aves mais primitivas, sob o ponto de vista filogenético e por tanto o grupo mais antigo dentre as aves (ALMEIDA, 2003). A carne de ema pode ser consumida como fonte de proteína animal, especialmente pelo seu baixo teor de lipídios, e ainda por apresentar baixo conteúdo de colágeno, proporcionando carne macia e de baixo teor de colesterol, o que a configura como um produto saudável, para consumo humano (PEREIRA et al., 2006), aspecto importante para justificar à sua criação em sistema produtivo sustentável.

O conhecimento da morfologia da ema é importante do ponto de vista do manejo sanitário, em sistemas de criação em cativeiro, bem como pode contribuir em procedimentos clínicos-cirúrgicos. Na literatura é possível identificar vários estudos referentes a sua morfologia a exemplo dos trabalhos referentes a morfologia do ovário (PARIZZI et al., 2007), das células do sangue periférico (FORTES et al., 2009), do sistema reprodutor masculino e da cloaca (SANTOS et al., 2011), e do sistema digestório (RODRIGUES et al., 2012a, 2012b). Entretanto, são escassas informações acerca da morfologia da bolsa cloacal, destacando-se trabalhos pioneiros que descrevem a morfologia da bolsa cloacal de Struthioniformes em comparação com *Gallus gallus domesticus*, como o de Rautenfeld e Budras (1982), e ainda, um outro estudo mais recente com emas adultas (Elbrond et al., 2009), porém, os autores deixam de descrever o desenvolvimento morfológico da bolsa cloacal de emas jovens, aspecto que motivou este estudo.

A cloaca dos Struthioniformes, é subdividida em uma câmara cranial (coprodeo), média (urodeo) e caudal (proctodeo), enquanto, que a bolsa cloacal é um apêndice craniodorsal do proctodeo, separado por uma prega bursoproctodeal. A mucosa interna é modificada em uma rede de pregas, organizadas em dobras primárias, secundárias e terciárias, constituído de tecido linfático, este caracterizado por apresentar lóbulos linfoides em toda sua extensão (RAUTENFELD e BUDRAS, 1982). Os quais apresentam linfócitos, linfoblastos, células reticulares epiteliais, capilares sanguíneos, plasmócitos e macrófagos (ACKERMAN, 1962; SONG et al., 2012). É caracterizado como o local de diferenciação de linfócitos B, desempenhando papel importante no sistema de defesa humoral do organismo das aves (DYCE, 2010).

A vascularização arterial é o sistema responsável pelo transporte do sangue para a manutenção dos órgãos e quando se trata da bolsa cloacal, é essencial para o desenvolvimento

da função imunológica da ave. Nas aves domésticas, a vascularização arterial da bursa, se dá pelas artérias bursocloacais e cloacais, derivadas das artérias pudendas internas, e em alguns casos as artérias mesentérica caudal e caudal mediana, ramos da aorta abdominal, podem participar na vascularização deste órgão (PINTEA et al., 1967; NICKEL et al., 1981; SANTANA et al.; 1999).

Existem diversas patologias infectocontagiosas que acometem as aves e que causam alterações tanto na estrutura quanto na função da bolsa cloacal. Como exemplo, o Gumboro, doença altamente contagiosa, também denominada de bursite infecciosa viral aguda, acomete aves jovens nas quais a bolsa cloacal é primeiramente envolvida, sendo considerada uma das principais causas de imunossupressão, alta mortalidade e aumento das taxas de condenações de carcaças (BUTCHER e MILES, 2014). Assim, o presente estudo também poderá contribuir com informações importantes para a indústria de fabricação de vacinas, visto que a bolsa cloacal é um órgão que indica a resposta imune quando se administra cepas de vírus de vacinas, e que, por meio do exame anatomohistopatológico, pode-se observar alterações morfológicas no órgão (AL-MAYAH et al., 2010; VILLANUEVA e BERNARDO, 2015).

Considerando a escassez de informações acerca da morfologia da bolsa cloacal de emas e objetivando-se estabelecer o modelo padrão para a bolsa cloacal nesta espécie, com ênfase no seu desenvolvimento até 15 semanas de idade, bem como visando obter informações importantes para a obtenção de diagnóstico de doenças por meio de exame anatomohistopatológico e visando a melhoria do manejo sanitário da espécie em cativeiro, desenvolveu-se este estudo.



# REVISÃO DE LITERATURA

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ema (*Rhea americana*)

É uma espécie primitiva, descendente direta dos dinossauros, pertence ao grupo das ratitas, classificada dentro da ordem Reiforme, família Rheidae (SARASQUETA, 1997). Pertence à superordem dos Paleognatos, apresentando características anatômicas e fisiológicas que a diferenciam das aves carinatas, entre as quais: ausência de quilha no osso esterno, a perda da capacidade de voo, não possuem glândula uropigiana, as fezes e urina estão separadas na cloaca (SICK, 1997) e músculos peitorais pouco desenvolvidos (FOWLER, 1991). Sua altura em pé varia de 134 a 170 cm, pesando em média 34,4 kg os machos e 32 kg as fêmeas de massa corporal, são animais ausentes inteiramente de cauda e do osso pigóstilo. O macho adulto possui pênis, que é posto para fora da cloaca com certa frequência (NOVAES, 2002).

O gênero *Rhea* possui uma única espécie a *Rhea americana*, e engloba cinco subespécies de acordo com Stewart (1999), representados por:

- *Rhea americana albescens* (lynch; Arribálzaga; Holmberg, 1878) ocorrendo no nordeste e leste da Argentina;
- *Rhea americana intermedia* (Rothschild; Chubb, 1914), no sudeste do Brasil e Uruguai;
- *Rhea americana americana* (Linnaeus, 1758), do nordeste ao sudeste do Brasil (Figura 1);
- *Rhea americana nobilis* (Brodkorb, 1939), no leste do Paraguai, e;
- *Rhea americana araneipes* (Brodkorb, 1938), no oeste do Paraguai, leste da Bolívia e sudeste do Brasil.

A ema é um animal filogeneticamente antigo, de grande porte e que apresenta similaridades morfológicas, bioquímicas, genéticas e comportamentais com o avestruz. Pelas suas semelhanças Dani (1993) pressupõe que ambas as espécies possuam origem comum e que sua separação tenha ocorrido no período mezozóico, juntamente com a separação do continente *Gondwanaland*, originando as atuais, América do Sul e África.

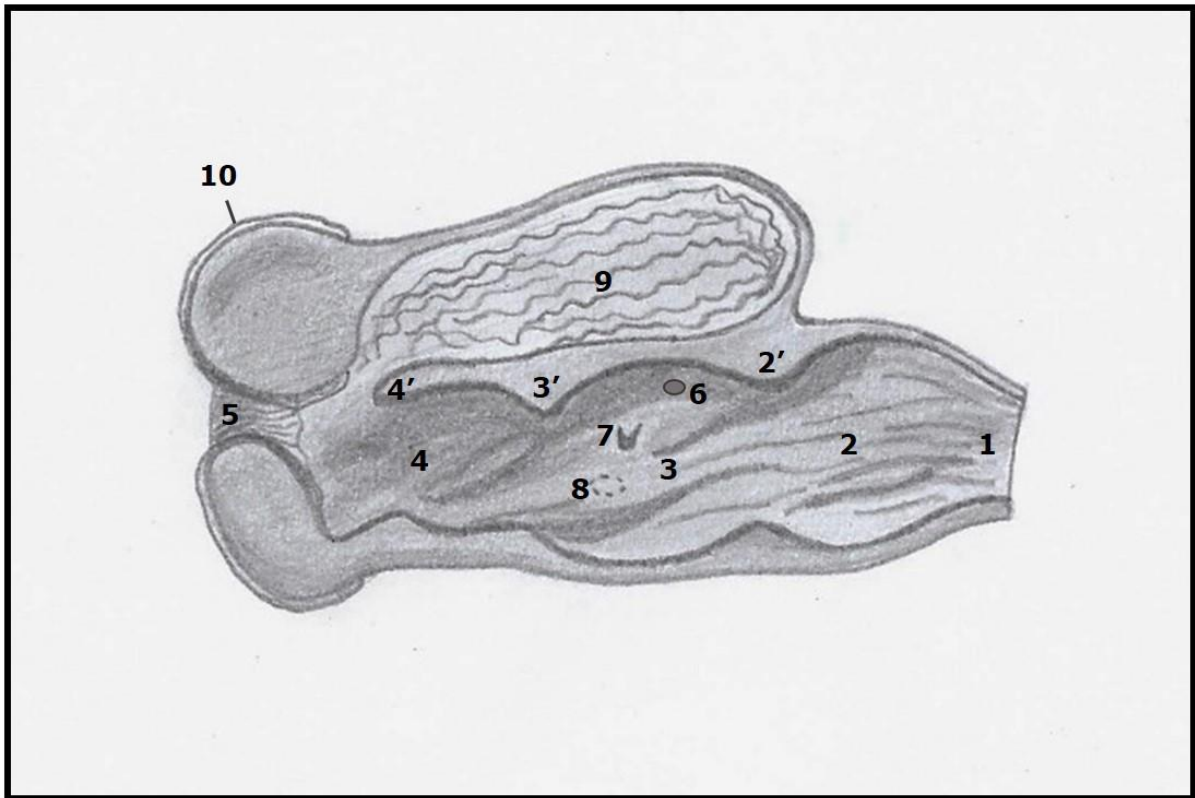


**Figura 1:** Ema (*Rhea americana americana*). **Fonte:** Acervo pessoal (2015).

## 2.2 Caracterização Morfológica da Bolsa Cloacal

### 2.2.1 Anatomia Macroscópica

Em avestruzes, segundo Warui e Skadhauge (1998) e Song et al. (2012), a bolsa cloacal tem forma arredondada e está localizada dorsalmente à cloaca, comunicando-se com o proctodeo por meio de um óstio. Segundo Teles et al. (2001), a bolsa cloacal de pombos (*Columba livia*), é um órgão bastante desenvolvido, localizado dorsalmente à cloaca, iniciando-se no coprodeo e percorrendo dorsalmente toda a extensão do urodeo e desembocando no proctodeo (Figura 2).



**Figura 2:** Secção mediana da cloaca, desenho esquemático. Em (1) cólon; (2) coprodeu; (2') prega coprourodeal; (3) urodeo; (3') prega uroproctodeal; (4) proctodeu; (4') prega bursoproctodeal; (5) entrada da cloaca; (6) óstio (cloacal) do ureter; (7) papila do ducto deferente; (8) posição do óstio do oviduto (somente do lado esquerdo); (9) bolsa cloacal; (10) pele. **Fonte:** Arquivo pessoal (2017).

No que diz respeito à origem das artérias que participam da irrigação da bolsa cloacal em aves domésticas, Nickel et al. (1981) e Pintea et al. (1967) afirmam que, as artérias ilíacas internas originadas da aorta abdominal e ao se bifurcarem vão formar as artérias pudendas internas cujos ramos são responsáveis pela irrigação desse órgão.

A vascularização arterial da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* da linhagem Peterson dá-se pelas artérias bursocloacais e ramos diretos das artérias cloacais, derivadas respectivamente das artérias pudendas internas, os autores relatam que em alguns casos as artérias mesentérica caudal e caudal mediana, ramos da aorta abdominal, podem participar na vascularização da bolsa cloacal (SANTANA et al., 1999).

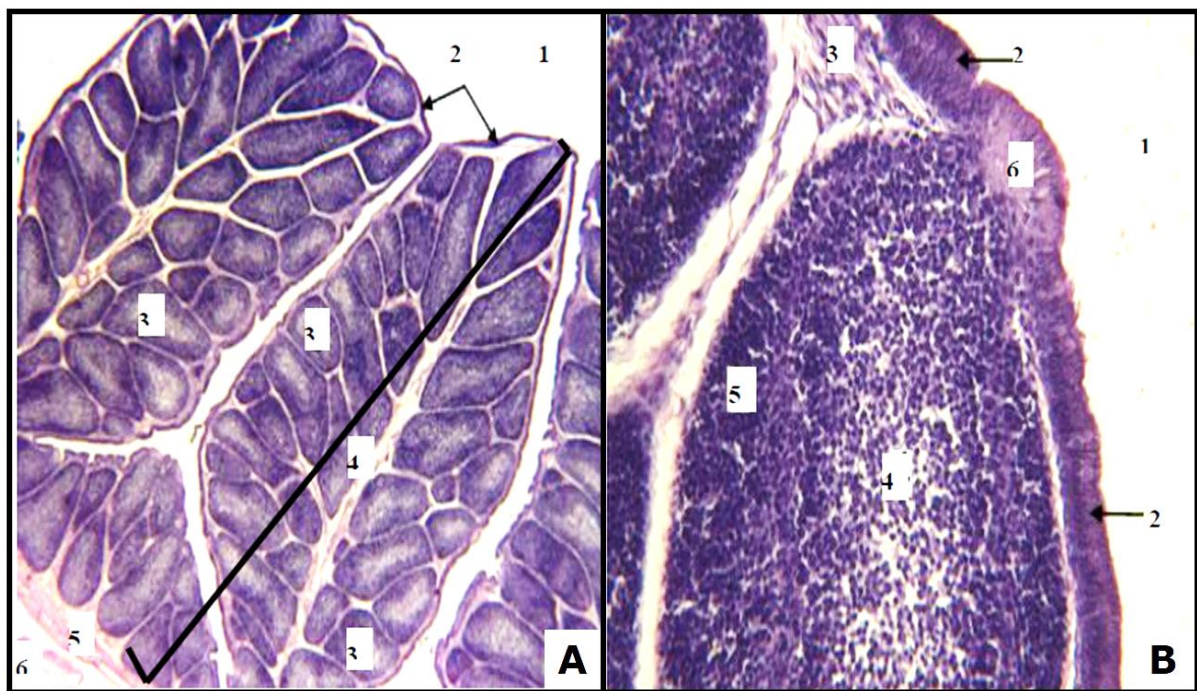
Segundo Davison, Kaspers e Schat (2008), a bolsa cloacal atinge seu tamanho máximo entre 8-10 semanas de idade em frangos, em seguida, sofre involução por volta dos 6-7 meses de idade.

Guimarães et al. (2003), estudando a influência do estresse térmico sobre a bolsa cloacal em pintos da linhagem Aviam Farms, afirmam que a involução precoce da bolsa cloacal

submetido ao estresse térmico ambiental, afeta a sua maturação e diminuição do parênquima bursal, devido a intensa apoptose que as células linfoides sofrem, mediada pelo aumento da concentração de cortisol.

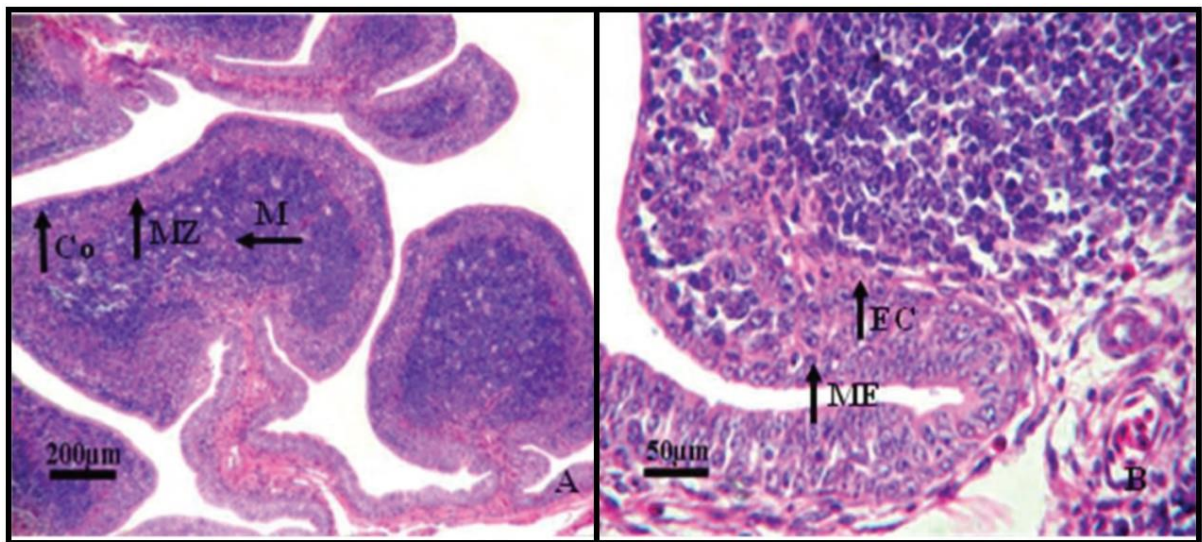
### 2.2.2 Microscopia

A bolsa cloacal na maioria das aves apresenta pregas em toda a superfície interna da mucosa, e em cada prega existe um aglomerado de lóbulos e/ou folículos linfoides na lâmina própria, separados por trabéculas de tecido conjuntivo, formada por três túnicas, mucosa, muscular e serosa, a exemplo do que é relatado em pato selvagem (WARD e MIDDLETON, 1971), galinha da angola (ONYEANUSI et al., 1993), ganso nativo (GÜLMEZ e ASLAN, 1999), peru (KARADAG SARI e KURTDEDE, 2007), codorna japonesa (AL-TEMEMY et al., 2011) e falcão (KARADAG SARI et al., 2015) (Figura 3).



**Figura 3:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de codorna japonesa. Em A, observa-se as pregas da mucosa da bolsa cloacal, constituído de um lúmen (1), epitélio estratificado (2), lóbulo ou folículo bursal (3), túnica mucosa (4), túnica muscular (5) e túnica serosa (6). Em B, verifica-se o lumen da bolsa cloacal (1), epitélio pseudoestratificado (2), trabéculas de tecido conjuntivo (3), medula do lóbulo (4), córtex do lóbulo (5) e tufo epitelial (6). Hematoxilina Eosina (HE). **Fonte:** (AL-TEMEMY et al., 2011).

Em avestruzes, Song et al. (2012), afirmaram a existência de uma cápsula na bolsa cloacal, composta por uma mucosa, submucosa, camada muscular e adventícia. A mucosa sendo formada pelo epitélio pseudoestratificado colunar. A submucosa é fina e composta por tecido conjuntivo frouxo e muitos vasos sanguíneos. A camada muscular bem desenvolvida, enquanto a adventícia é uma membrana fibrosa bem simples. Os mesmos autores afirmam a existência de três zonas no lóbulo bursal. A zona cortical, bem delgada, intensamente corada, e contendo um grande número de linfócitos e um pequeno número de células reticulares epiteliais e macrófagos. A zona corticomedular localiza-se entre o córtex e a medula, fracamente corada, diferenciando a zona cortical da medular. A zona medular é mais espessa e com coloração mais escura quando comparado com o córtex, possuindo grande número de linfócitos, poucos reticulócitos e macrófagos espalhados (Figura 4).



**Figura 4:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de avestruz. Em A, observa-se o lóbulo bursal, dividido em três zonas, a zona cortical (Co), corticomedular (MZ) e medular (M). Em B, verifica-se o epitélio do lóbulo bursal (MF). Hematoxilina Eosina (HE). **Fonte:** (SONG et al., 2012).

Em codornas do campo (*Nothura maculosa*), Oliveira e Mahecha (1996), descreveram que a mesma possui mucosa interna bastante pregueada, revestida por epitélio colunar pseudoestratificado e têm pequenas glândulas mucosas exócrinas tubulares simples embora não apresente ducto excretor típico. A lâmina própria tem mastócitos e numerosos melanócitos e linfócitos dispersos. Nódulos linfáticos estão presentes, mas a sua frequência varia de acordo com o grau de regressão da bolsa cloacal.

### 2.2.3 Ultraestrutura

Ackerman (1962), descreveu a ultraestrutura dos nódulos linfóides da bolsa cloacal de embriões de pintos da linhagem white Leghorn aos 15º e 16º dias de incubação e constatou a existência de vários tipos celulares que compreendem os folículos linfóides, podendo ser verificadas células epiteliais basais indiferenciadas, linfoblastos, linfócitos de médio e grande tamanho, células reticulares epiteliais, células mesenquimatosas e eritrócitos em capilares.

Nos Struthioniformes, de acordo com Rautenfeld e Budras (1982), os linfócitos B são pequenos, escuros e predominam nas malhas das células reticulares epiteliais, e os linfoblastos, imaturos, maiores e mais claros, ainda, o mesmo autor observou maior frequência das células plasmáticas na zona cortical. A população celular da zona medular é composta principalmente por células reticulares, linfócitos B, linfoblastos B e macrófagos, e eventualmente pode-se observar plasmócitos.

Song et al., (2012), estudando avestruzes jovens, por meio da microscopia eletrônica de transmissão, verificaram a existência de poucos linfócitos desenvolvidos, com eucromatina abundante em seus núcleos. As células epiteliais reticulares adjacentes interligadas por meio de desmossomos, composta por mitocôndrias e lisossomos, e o epitélio da mucosa composto por células colunares com microvilosidades na superfície.

## 2.3 Função da Bolsa Cloacal

A bolsa cloacal caracteriza-se por ser um tecido linfóide primário onde ocorre a diferenciação de linfócitos B que desempenham papel importante no sistema de defesa humoral do organismo (DYCE, 2010).

A primeira indicação de que a bolsa cloacal estava ligada a reações imunes veio de um achado por Glick et al. (1956), em que se verificou que as galinhas que tinham sido bursectomizadas cirurgicamente numa idade precoce eram muito susceptíveis à infecção por *Salmonella typhimurium* e não produziam qualquer anticorpo detectável. A partir deste relato, houve um interesse maior pela bolsa cloacal, em conexão com seus possíveis papéis na imunidade.

Os órgãos linfóides primários, tais como o timo e a bolsa cloacal das aves, desenvolvem-se em locais geneticamente determinados, onde o ectoderma e o endoderma são justapostos nas bolsas branquiais e na membrana cloacal, respectivamente. O quadro funcional para ambos os

órgãos linfoides primários é o tecido linfo-epitelial, no qual as células epiteliais em forma de estrela formam uma malha e esta estrutura cria um microambiente para a maturação dos linfócitos (GLICK, 1985, GLICK e OLÁH, 1993, COOPER et al., 2006). E de acordo com Gerlach (1999) em tratado de medicina sobre aves, as células precursoras dos linfócitos se colonizam e se desenvolvem na bolsa cloacal durante a vida embrionária da ave.

Segundo Davison, Kaspers e Schat (2008), nas aves domésticas, pelo menos 98% dos linfócitos da bolsa cloacal são células B, já as células T estão dispersas no córtex e poucos delas entram na medula. Os autores citam ainda que, os linfócitos B proliferam-se tanto no córtex como na medula e depois de 8-10 semanas de idade ocorre a diminuição destas células no interior da medula, indicando o início da involução da bolsa cloacal.

Diversos fatores estão ligados ao desenvolvimento e maturação dos linfócitos B na bolsa cloacal, tais como (bursina) (OTSUBO et al., 2001), peptídeos anti-esteroidogênicos bursal (BASP) (CALDWELL, 1999) e imunoglobulinas (KINCADE; COOPER, 1971).

Otsubo et al. (2001), ao estudarem o papel da bursina nos linfócitos B no desenvolvimento embrionário de galinhas da raça White Leghorn, concluíram que essa é uma estrutura tripeptídica (lisil-histidil-glicilamida), com função hormonal que se expressa a partir das células reticulares epiteliais foliculares e dendríticas e da camada basal do epitélio interlobular e sua função está ligada a maturação e diferenciação de linfócitos B, principalmente células B produtoras de anticorpos IgM.

Em estudo realizado com peptídeos anti-esteroidogênicos bursal (BASP) em *Gallus gallus domesticus* por Caldwell et al. (1999), observaram que, o BASP está relacionado com a sincronização da divisão de células B, durante o período embrionário e neonatal das aves.

Em relação as imunoglobulinas encontradas na bolsa cloacal de galinhas, de acordo com Kincade e Cooper (1971), são predominantemente da classe IgM e IgY e podem ser detectadas na região medular do órgão no 21º dia do desenvolvimento embrionário. Karlsson, Kollberg e Larsson (2004), estudando imunoglobulinas IgY em galinhas, constataram que os anticorpos purificados da gema de ovos de galinhas imunizadas, denominadas imunoglobulinas Y ou IgY, têm apresentado várias aplicações, em imunodiagnóstico, imunoterapia e estudos de proteômica.



OBJETIVOS

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Descrever a macroscopia, microscopia, ultraestrutura e a vascularização arterial da bolsa cloacal de emas e o desenvolvimento deste órgão até 15 semanas de idade.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- a) Descrever a macroscopia e a vascularização arterial da bolsa cloacal de emas;
- b) Caracterizar a microscopia da bolsa cloacal de emas jovens;
- c) Analisar a ultraestrutura da bolsa cloacal de emas;
- d) Descrever o desenvolvimento da bolsa cloacal de emas jovens até 15 semanas de idade.



# MATERIAL E MÉTODOS

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local de Coleta e Material

Os animais foram obtidos no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) (Figura 5) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Foram utilizados 26 animais de ambos os sexos (8 machos e 18 fêmeas), dos quais 20 destinados à descrição macroscópica e da vascularização arterial da bolsa cloacal e que se encontravam formalizados, após óbito por causas naturais, no laboratório de Anatomia Veterinária da Universidade. Os demais animais foram eutanasiados e dissecados para descrição da macroscopia, microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão e varredura, sendo dois animais para cada uma das seguintes idades: 0, 6, e 15 semanas (Figura 6). Estes foram pré-medicados com cloridrato de xilazina (1mg/Kg) pela via intramuscular. Atingido o estágio de sedação os animais foram eutanasiados com uma sobre dose anestésica de tiopental (150mg/Kg) e administração de cloreto de potássio (2,56mEq/Kg), ambos por via intracardíaca. O presente projeto foi aprovado pelo ICMBio conforme parecer nº 48847-1 (Anexo C) e pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da UFERSA conforme protocolo nº 23091.006434/2015-31 (Anexo D).



**Figura 5:** Centro de Multiplicação de Animais Silvestres – CEMAS. **Fonte:** Bessa (2010).



**Figura 6:** Emas recém-nascidas – CEMAS. **Fonte:** Arquivo pessoal (2015).

#### 4.2 Macroscopia e Vascularização

A descrição macroscópica da bolsa cloacal foi realizada após incisão no plano mediano, sentido craniocaudal da cavidade abdominal, seguida de exposição da bolsa cloacal, obtendo-se dados quanto à forma, tamanho, coloração e sintopia do órgão. A biometria foi realizada nos seis animais eutanasiados, sendo analisados como parâmetros, o comprimento e a largura. A vascularização foi descrita utilizando-se 20 animais jovens de ambos os sexos, sendo 5 machos e 15 fêmeas que se encontravam formalizados no Laboratório de Anatomia Veterinária - UFERSA. A aorta torácica foi canulada e o sistema vascular lavado com solução salina aquosa a 0,9% e em seguida, perfundido com látex Neopreme 450 (Du Pont do Brasil S.A.) corado com pigmento vermelho (Globo S.A. Tintas e Pigmentos), de modo a permitir melhor visualização dos vasos. Foram obtidos desenhos esquemáticos para cada sistema vascular e os exemplares mais representativos fotografados (Câmara digital Sony DSC-W570 16.1 MP) para documentação.

### 4.3 Análises dos Resultados Macroscópicos e Vascular

O estudo foi baseado na nomenclatura adotada pelo HANDBOOK OF AVIAN ANATOMY: NOMINA ANATOMICA AVIUM (1993) para a denominação das estruturas identificadas e os resultados comparados com a literatura referente a estudos com aves domésticas e silvestres, sendo os resultados expressos com base em anatomia descritiva e morfometria com base no cálculo de média, valor máximo e mínimo, e para a vascularização arterial o cálculo de porcentagem simples.

### 4.4 Processamento para Microscópio de Luz

Após as coletadas e fixação das amostras estas foram processadas no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA. A metodologia empregada foi baseada em técnicas de histologia preconizadas por Tolosa et al., (2003).

A bolsa cloacal foi fixada por 48 horas em solução de paraformaldeído 4% tamponado com solução de Fosfato de Sódio 0,1M (PBS) e pH 7,4, em seguida foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de fixador e submetidas a processos de desidratação onde as amostras foram imersas em álcoois em concentração crescentes (70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 100%, 100%) por um período de 1 hora em cada álcool.

Finalizado o processo de desidratação, iniciou-se a diafanização, que consistiu em dois banhos de xilol por 30 minutos cada, para total retirada do álcool da amostra, sendo posteriormente feita a parafinização por imersão em parafina histológica (Synt®, granulada com ponto de fusão 58°C a 62°C, lote: 138199) em estufa a temperatura de 58°C, sendo que o primeiro banho em parafina era “over night” e o segundo banho feito em parafina por uma hora.

Após essa etapa, as amostras eram incluídas em nova parafina para confecção dos blocos histológicos, dos quais foram obtidos cortes de cinco a sete micrometros de espessura, com auxílio de micrótomo (LEICA RM 2125 RT), que após aderidos em lâminas de vidros eram levados a estufa a 58°C para desparafinização. Em seguida, as lâminas eram imersas em dois banhos de xilol por dez minutos e reidratados em álcool 100%, 95%, 70% e em água corrente, durante três minutos em cada álcool para hidratação. Posteriormente foram realizadas colorações pelas técnicas de Hematoxilina – Eosina (HE), Azul de Toluidina, Ácido Periódico de Schiff (PAS), para análise em microscópio de luz (Olympus CX 31 RBSFA) sendo as

imagens mais representativas fotomicrografadas em microscópio de luz (LEICA modelo ICC50 HD) e obtidas imagens por meio do programa LAS EZ Ink (LEICA versão 2.0.0).

#### **4.5 Processamento para Microscopia Eletrônica de Transmissão**

Para análise da ultraestrutura da bolsa cloacal, foram obtidos e fixados em glutaraldeído a 2,5% em (PBS) fragmentos com cerca de 0,5mm<sup>2</sup> da bolsa cloacal de animais com as seguintes idades: zero dia (natimorto), 6 semanas e 15 semanas. Posteriormente, estes foram processados no Laboratório de Anatomia Microscópica e do Desenvolvimento do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP). Para isto o material foi lavado três vezes em tampão PBS durante 10 minutos cada, pós-fixados em Tetróxido de Ósmio tamponado com PBS, durante duas horas e em seguida, lavadas três vezes com solução tampão PBS durante 10 minutos cada e uma única vez em água destilada por 15 minutos. Os fragmentos foram desidratados em uma série de álcool etílico (50%, 70%, 80%, 90%, 100%, com três trocas a cada 15 minutos). Em seguida banhados com Óxido de Propileno por 10 minutos e depois imerso em mistura de Óxido de Propileno e resina Spurr na proporção 1:1 por seis horas. Posteriormente, imersos em resina Spurr pura durante 12 horas e então inclusos na resina para obtenção dos blocos. Obtidos os blocos, cortes semi-finos com 0,4µm de espessura foram feitos em ultramicrotomo (LEICA, modelo: Reichert Ultracut S), corados em azul de toluidina a 1% para seleção do material. Em seguida, obtinha-se cortes ultrafinos de 0,07 µm, que foram contrastados em acetato de uranila a 2% e citrato de chumbo a 0,5% para análise em microscópio eletrônico de transmissão (Morgagni268D, FEI Company, The Netherlands; Mega View III Câmera, Solf Imaging, Germany).

#### **4.6 Processamento para Microscopia Eletrônica de Varredura**

Foram coletados fragmentos da bolsa cloacal em um animal de zero dia de idade e um animal de 15 semanas fixadas em glutaraldeído 2,5% tamponado com PBS 0,1M e pH 7,4. Em seguida, processadas no Laboratório de Anatomia Microscópica e do Desenvolvimento do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP). Os fragmentos foram lavados com solução tampão PBS 0,1M e pH 7,4 e em seguida pós-fixados com Tetróxido de Ósmio 1% tamponado com PBS

0,1M e pH 7,4 por duas horas. Posteriormente, eram realizadas três lavagens em tampão PBS 0,1M pH 7,2 e duas com água destilada. Dando prosseguimento, os fragmentos foram imersos em ácido tânico 1% e em seguida desidratados em série crescente de álcoois (50%, 70%, 90% e 100%). Por último, procedia-se a desidratação e secagem em aparelho de ponto crítico utilizando gás carbônico. Finalmente, o material foi montado em suportes (Stub), metalizado com ouro “sputtering”, para observação em microscópio eletrônico de varredura (LEO VP 435-Carl-Zeis, Oberkochen, Germany).



RESULTADOS

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Macroscopia e Vascularização Arterial

A bolsa cloacal de emas apresentou-se como um órgão oco, arredondado, ligeiramente achatado, coloração rosada e mucosa interna pregueada, estando localizada dorsalmente à cloaca, com quem se comunica por meio de um óstio. O tamanho médio do comprimento foi de 22,82 mm e a largura de 14,66 mm, com valores mínimos e máximos do comprimento (14,9 e 32,85 mm) e da largura (9,96 e 19,52 mm) conforme a tabela 1.

**Tabela 1:** Morfometria da bolsa cloacal de emas de zero a 15 semanas de idade.

| <b>Animal</b> | <b>Idade</b> | <b>Sexo</b> | <b>Comprimento (mm)</b> | <b>Largura (mm)</b> |
|---------------|--------------|-------------|-------------------------|---------------------|
| 01            | Zero dia     | Macho       | 16,71                   | 11,83               |
| 02            | Zero dia     | Fêmea       | 15,08                   | 9,96                |
| 03            | 6 semanas    | Macho       | 25,09                   | 16,72               |
| 04            | 6 semanas    | Fêmea       | 14,90                   | 10,92               |
| 05            | 15 semanas   | Macho       | 32,85                   | 19,05               |
| 06            | 15 semanas   | Fêmea       | 32,30                   | 19,52               |
| <b>Média</b>  |              |             | 22,82                   | 14,66               |

A irrigação arterial desse órgão teve origem a partir de ramos terminais da aorta abdominal, dentre eles as artérias ilíacas internas direita e esquerda e a artéria mesentérica caudal (Figura 7A). As ilíacas internas direita e esquerda originaram as artérias pudendas internas direita e esquerda, que por sua vez emitiram as artérias bursocloacais e cloacais direita (Figura 7E) e esquerda (Figura 7F) em todos os animais estudados (Figura 8).

#### 5.1.1 Artérias Bursocloacais

As artérias bursocloacais direita e esquerda originaram-se das artérias pudendas internas direita e esquerda, respectivamente, contribuindo diretamente com o aporte sanguíneo arterial da bolsa cloacal em todos os animais estudados. No antímero direito, a artéria bursocloacal direita variou em número, podendo ser observada uma única artéria bursocloacal direita (65%), duas (30%) ou três (5%), ambas originadas da artéria pudenda interna direita. Da mesma forma,

no antímero esquerdo observou-se, a presença de uma (75%), duas (20%) ou três (5%) artérias bursocloacais esquerdas, também de origem comum.

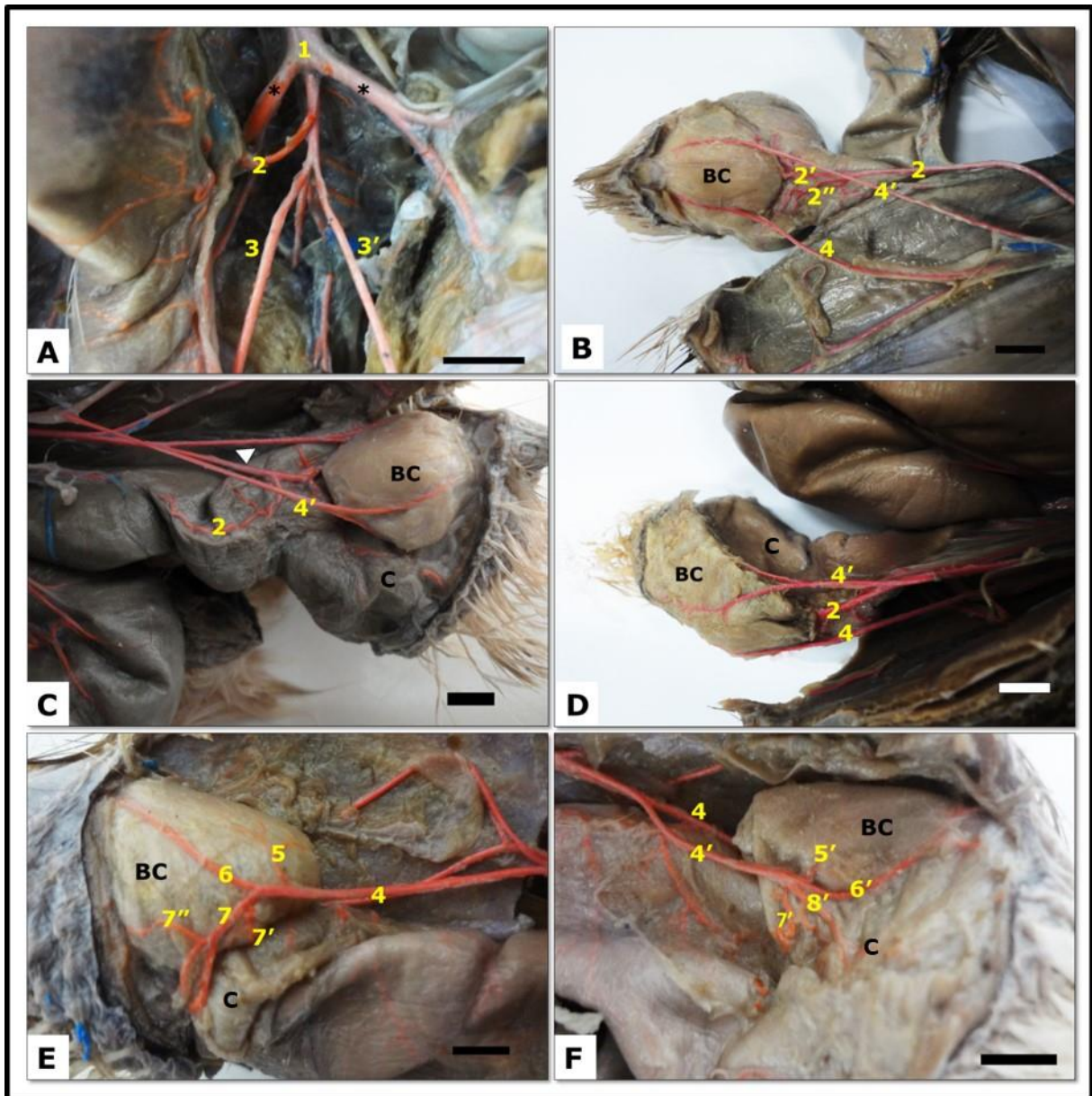
Quanto ao percurso destas artérias, verificou-se a presença de três direções distintas. No primeiro caso, uma artéria bursocloacal, em ambos os antímeros, dirigiu-se dorsolateralmente à região dorsocaudal da bolsa cloacal em todos os exemplares (Figura 7E e 7F). No segundo caso, uma artéria bursocloacal direita percorreu a face craniodorsal da bolsa cloacal em cinco casos (25%) no antímero direito (Figura 7E) e em três (15%) no esquerdo (Figura 7F), ou ainda, em um terceiro caso, percorreu a região cranioventral da bolsa cloacal, sendo em três animais (15%) no antímero direito e dois (10%) no esquerdo (Figura 7F).

Quanto ao número de ramos emitidos pelas artérias bursocloacais direita, observou-se uma variação entre dois e nove ramos, tendo sido verificado dois ramos em quatro casos (20%), três ramos em dois casos (10%), quatro ramos em cinco casos (25%), cinco ramos em quatro casos (20%), seis ramos em dois casos (10%), sete ramos em dois casos (10%) e nove ramos em um caso (5%). Enquanto a artéria bursocloacal esquerda emitiu de um a sete ramos para o antímero esquerdo, tendo-se um ramo em um animal (5%), dois em quatro animais (20%), três em dois (10%), quatro em sete (35%), cinco em dois (10%), seis em dois (10%) e sete em dois animais (10%) (Tabela 2).

### 5.1.2 Artérias Cloacais

As artérias cloacais direita e esquerda originaram-se das artérias pudendas internas direita e esquerda, respectivamente, e ao longo do seu percurso em direção a cloaca emitiram ramos para a região ventrolateral da bolsa cloacal (Figura 7E e 7F), sendo que a artéria cloacal direita contribuiu com o suprimento sanguíneo deste órgão em 17 animais analisados (85%) e a esquerda em 19 exemplares (95%). Ressalta-se que nos animais que não tiveram a participação da artéria cloacal direita na irrigação da bolsa cloacal, este órgão foi suprido por duas artérias bursocloacais direita, compensando a ausência da artéria cloacal direita.

Observou-se ainda que a artéria cloacal direita ao longo de seu percurso em direção a cloaca emitiu um ramo em sete casos (41,18%), dois em cinco (29,41%), três em três (17,65%) ou quatro ramos em dois casos (11,76%), enquanto a artéria cloacal esquerda emitiu um ramo em quatro exemplares (21,05%), dois em nove (47,38%), três em quatro (21,05%), quatro em um (5,26%) e cinco em um animal (5,26%) (Tabela 2).

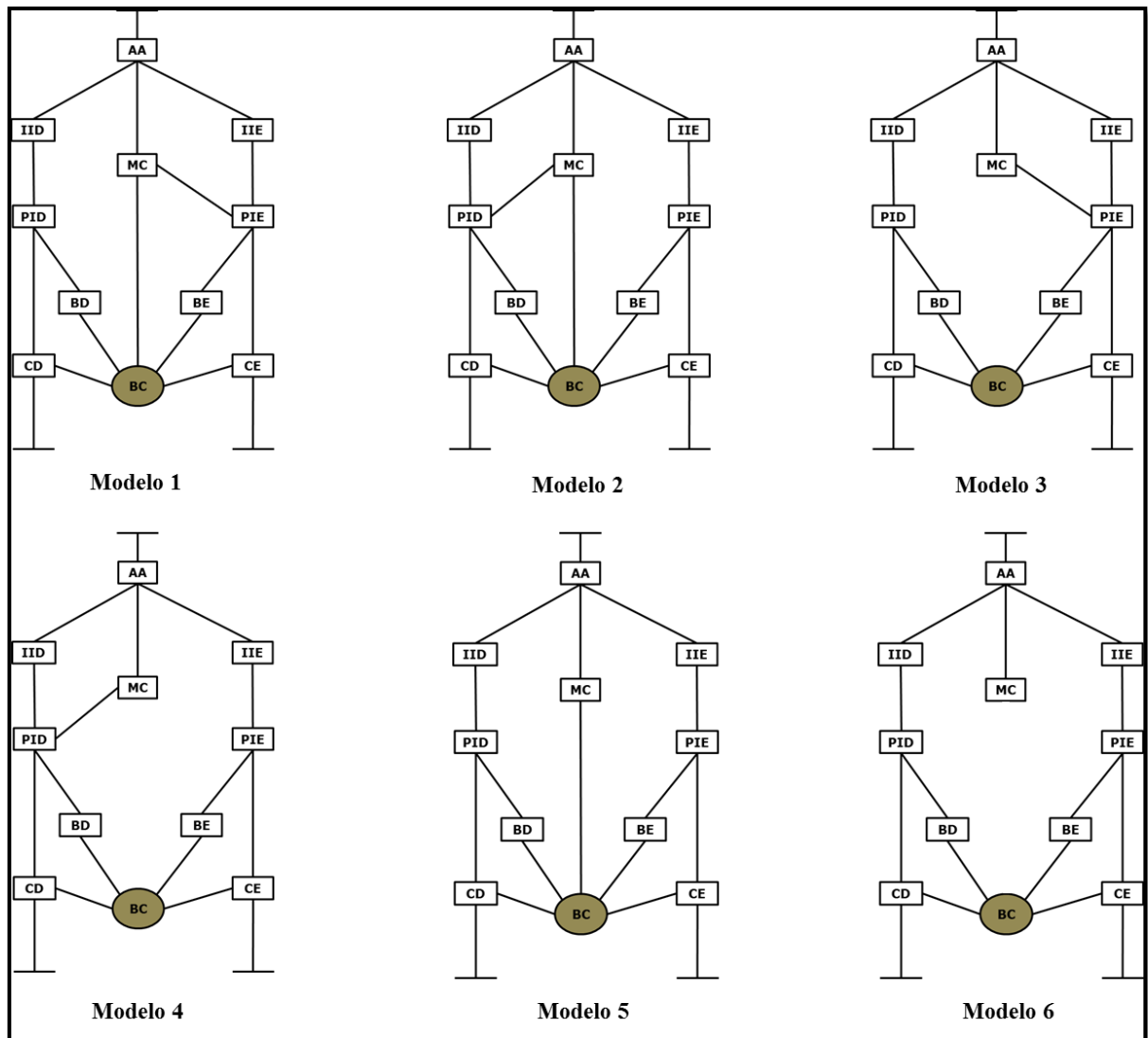


**Figura 7:** Vascularização arterial da bolsa cloacal da ema. Em (A), nota-se os ramos terminais da aorta abdominal (1), artérias isquiáticas (\*), mesentérica caudal (2) e ilíacas internas (3, 3'). Em (B), observa-se dorsalmente a bolsa cloacal (BC), a artéria mesentérica caudal (2) emitindo dois ramos (2' e 2'') para bolsa cloacal (BC), pudendas internas direita (4) e esquerda (4'). Em (C), verifica-se a bolsa cloacal (BC) localizada dorsalmente à cloaca (C). Observa-se também uma anastomose da artéria mesentérica caudal (2) com um ramo da artéria pudenda interna direita (cabeça de seta). Em (D), nota-se na vista lateral esquerda, artéria mesentérica caudal (2) em anastomose com a artéria pudenda interna esquerda (4'). Em (E), no antímero direito, evidencia-se a artéria pudenda interna direita (4) originando as artérias bursocloacal craniodorsal direita (5), bursocloacal dorsolateral direita (6), cloacal direita (7), esta última emitindo dois ramos (7' e 7'') para a bolsa cloacal (BC). Em (F), a partir da vista lateral esquerda tem-se a artéria pudenda interna esquerda (4'), emitindo as artérias bursocloacal craniodorsal esquerda (5'), bursocloacal dorsolateral esquerda (6'), bursocloacal cranioventral (7') cloacal esquerda (8'), e profundamente a artéria pudenda interna direita (4). Barra: 1 cm. **Fonte:** Revista Bioscience Journal (2016).

### 5.1.3 Artéria Mesentérica Caudal

A artéria mesentérica caudal contribuiu para o suprimento sanguíneo arterial da bolsa cloacal, direta ou indiretamente em 17 exemplares estudados (85%). Diretamente quando emitia pequenos ramos para a bolsa cloacal estando ou não em anastomose com as artérias pudendas internas direita e esquerda e, indiretamente, quando só realizou anastomoses com as artérias pudendas internas direita e esquerda.

A artéria mesentérica caudal realizou anastomose com a artéria pudenda interna direita em sete casos (35%) (Figura 7C e Figura 8 – modelo 2 e 4) e com a artéria pudenda interna esquerda em oito casos (40%) (Figura 7D e Figura 8 – modelo 1 e 3). Quando associada à artéria pudenda interna direita, a artéria mesentérica caudal emitiu para a bolsa cloacal um ramo em três casos (15%) e dois em um caso (5%) (Figura 8 – modelo 2) e quando associada à pudenda interna esquerda, emitiu um ramo em um caso (5%) e dois ramos em dois casos (10%) (Figura 8 – modelo 1). Por sua vez, a artéria mesentérica caudal também emitiu ramos diretos para a bolsa cloacal em duas emas analisadas (10%), emitindo nestes casos um ramo (5%) ou três ramos (5%) (Figura 8 – modelo 5).



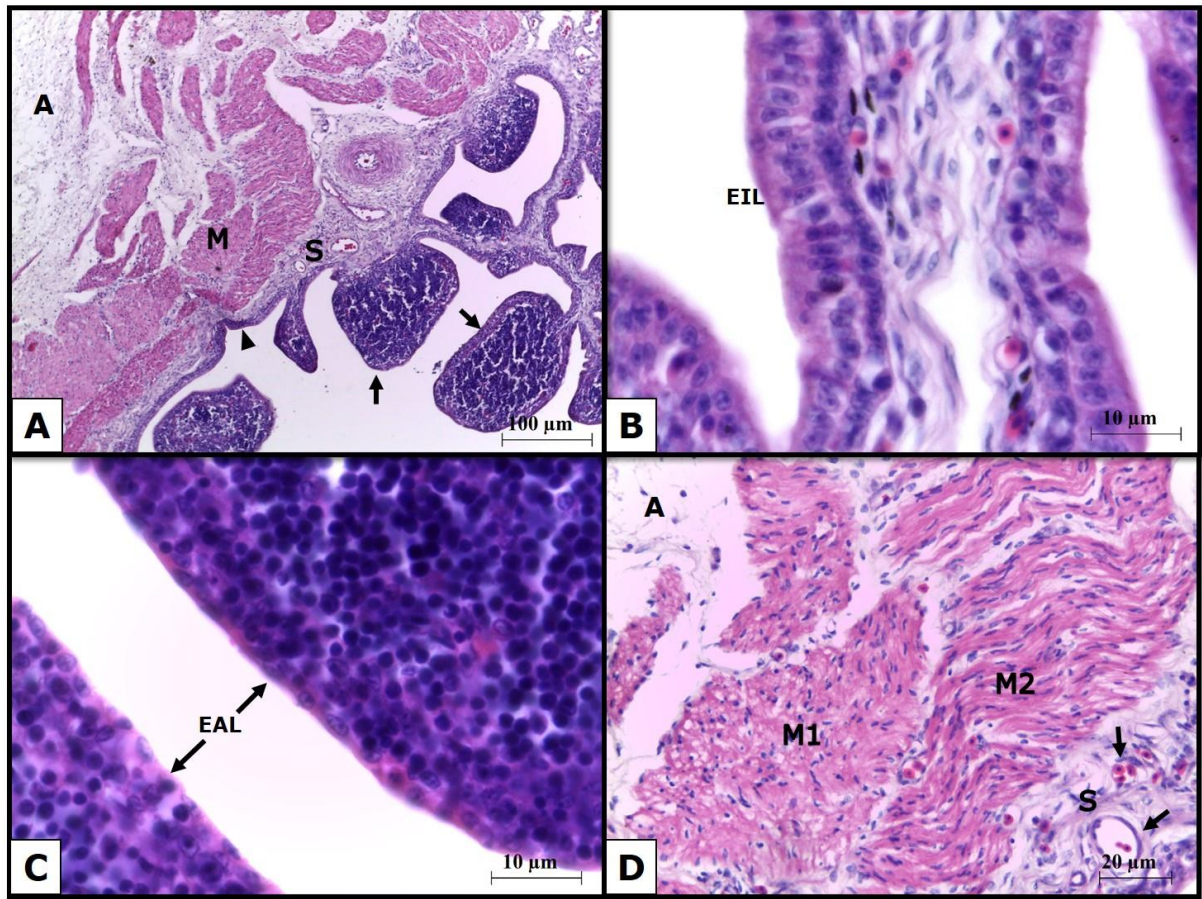
**Figura 8:** Modelos de vascularização da bolsa cloacal identificados em emas a partir da artéria mesentérica caudal. Encontram-se identificadas a artéria aorta abdominal (AA), artéria ilíaca interna direita (IID), artéria ilíaca interna esquerda (IIE), artéria pudenda interna direita (PID), artéria pudenda interna esquerda (PIE), artéria bursocloacal direita (BD), artéria bursocloacal esquerda (BE), artéria cloacal direita (CD), artéria cloacal esquerda (CE) e artéria mesentérica caudal (MC). **Fonte:** Revista Bioscience Journal (2016).

**Tabela 2:** Frequência absoluta (N) e relativa (%) dos ramos emitidos pelas artérias bursocloacais e cloacais para os antímeros direito e esquerdo para suprir a bolsa cloacal de emas. **Fonte:** Revista Bioscience Journal (2016).

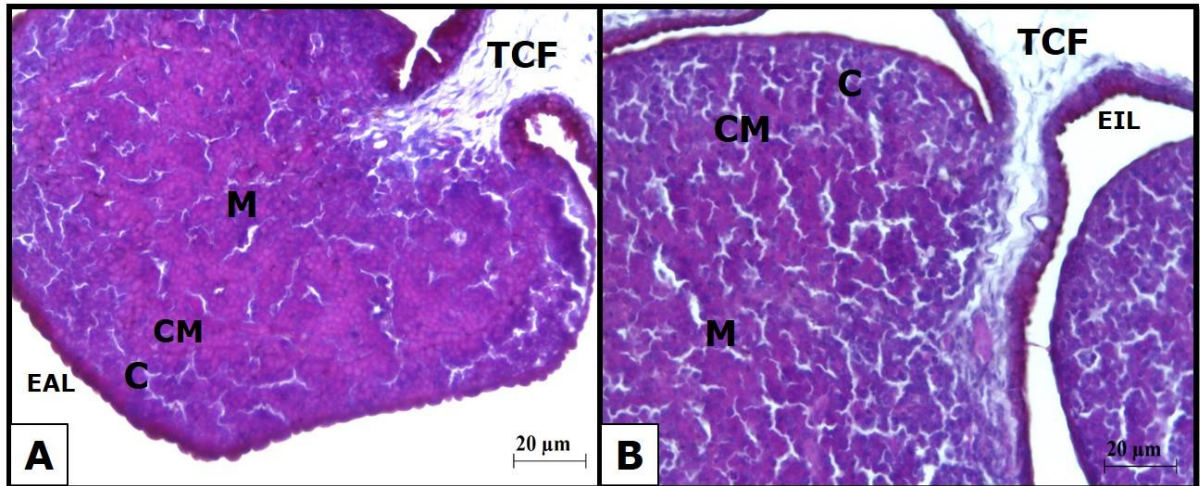
| Ramos        | Artéria bursocloacal |     |    |     | Artéria cloacal |       |    |       |
|--------------|----------------------|-----|----|-----|-----------------|-------|----|-------|
|              | D                    |     | E  |     | D               |       | E  |       |
|              | N                    | %   | N  | %   | N               | %     | N  | %     |
| 1            | -                    | -   | 1  | 5   | 7               | 41,18 | 4  | 21,05 |
| 2            | 4                    | 20  | 4  | 20  | 5               | 29,41 | 9  | 47,38 |
| 3            | 2                    | 10  | 2  | 10  | 3               | 17,65 | 4  | 21,05 |
| 4            | 5                    | 25  | 7  | 35  | 2               | 11,76 | 1  | 5,26  |
| 5            | 4                    | 20  | 2  | 10  | -               | -     | 1  | 5,26  |
| 6            | 2                    | 10  | 2  | 10  | -               | -     | -  | -     |
| 7            | 2                    | 10  | 2  | 10  | -               | -     | -  | -     |
| 8            | -                    | -   | -  | -   | -               | -     | -  | -     |
| 9            | 1                    | 5   | -  | -   | -               | -     | -  | -     |
| <b>Total</b> | 20                   | 100 | 20 | 100 | 17              | 100   | 19 | 100   |

## 5.2 Microscopia de Luz

Microscopicamente a bolsa cloacal da ema nas idades estudadas, apresentou mucosa interna pregueada composta por lóbulos linfoides, de diversos tamanhos, organizados como uma estrutura alveolar. Composta por quatro camadas, sendo, a camada mucosa, submucosa, camada muscular e adventícia (Figura 9). A mucosa é formada por dois tipos de células epiteliais, o epitélio associado ao lóbulo (EAL), PAS positivo, de forma simples e pavimentosa, e o outro tipo é o epitélio interlobular (EIL) também PAS positivo, de forma colunar e estratificado (Figura 9 e 10). A submucosa é delgada, composta por tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos. Já a camada muscular é composta por músculo liso, com suas fibras dispostas de forma longitudinal e circular, enquanto a adventícia é constituída de tecido conjuntivo frouxo (Figura 9).

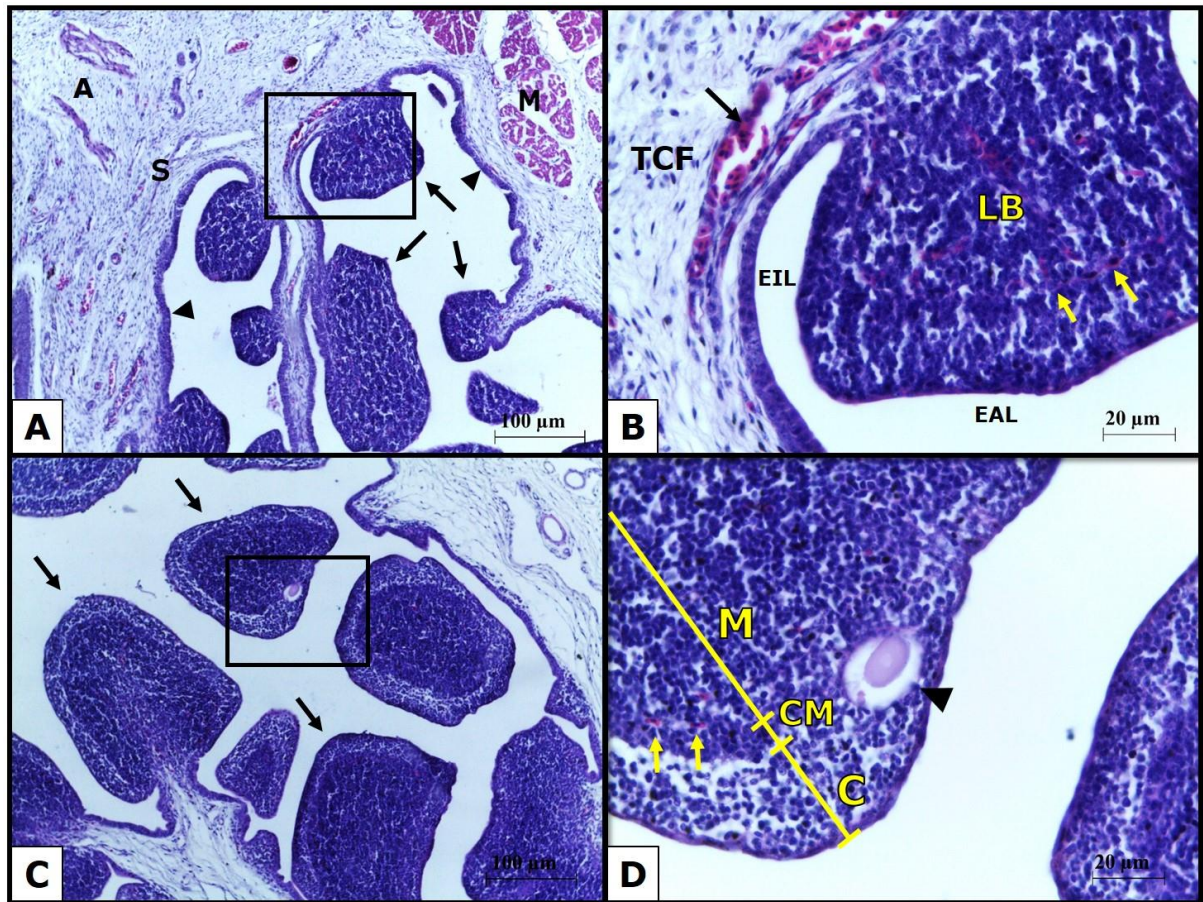


**Figura 9:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de emas com 6 semanas de idade. Em (A), observa-se a mucosa, representado pelos lóbulos linfóides (setas) e o epitélio interlobular (cabeça de seta), submucosa (S), muscular (M) e adventícia (A). Em (B), verifica-se o epitélio interlobular (EIL) do tipo estratificado colunar. Em (C), constata o epitélio associado ao lóbulo (EAL) do tipo pavimentoso simples. Em (D), observa-se a camada submucosa (S) com presença de vasos sanguíneos (setas), a camada muscular composta por músculo liso, com suas fibras dispostas de forma longitudinal (M2) e circular (M1), e ainda, a camada adventícia constituída de tecido conjuntivo frouxo (A). Hematoxilina e Eosina (HE).



**Figura 10:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de ema com 6 semanas de vida (A e B). Em (A), observa-se o epitélio associado ao lóbulo bursal (EAL), do tipo pavimentoso simples, a zona medular (M), zona corticomedular (CM), zona cortical (C), tecido conjuntivo frouxo (TCF), PAS positivo e em (B), verifica-se o epitélio interlobular (EIL), do tipo estratificado colunar, também PAS positivo. Ácido Periódico de Schiff (PAS).

Os lóbulos bursais são constituídos por três zonas, a cortical, corticomedular e medular. Nos animais de zero dia de vida observou-se que a zona cortical e medular eram indistintas e desta forma não conseguindo diferenciá-las. Já na 6ª e 15ª semanas de idade, foi possível diferenciar a zona cortical da medular, onde a cortical localizado na região periférica do lóbulo bursal corou-se fracamente em relação a zona medular com HE. A zona corticomedular é caracterizada por uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo delimitando o córtex da medula e com a presença de vasos sanguíneos (capilares), enquanto a zona medular é a parte central do lóbulo bursal, ocupando uma porção maior do lóbulo quando comparado com a zona cortical. Além disso, foi observado a presença de cistos nas três zonas dos lóbulos bursais nos animais com 6 e 15 semanas de idade, revestidos por epitélio pavimentoso simples, com lúmen repleto de substância mucoide (Figura 11).

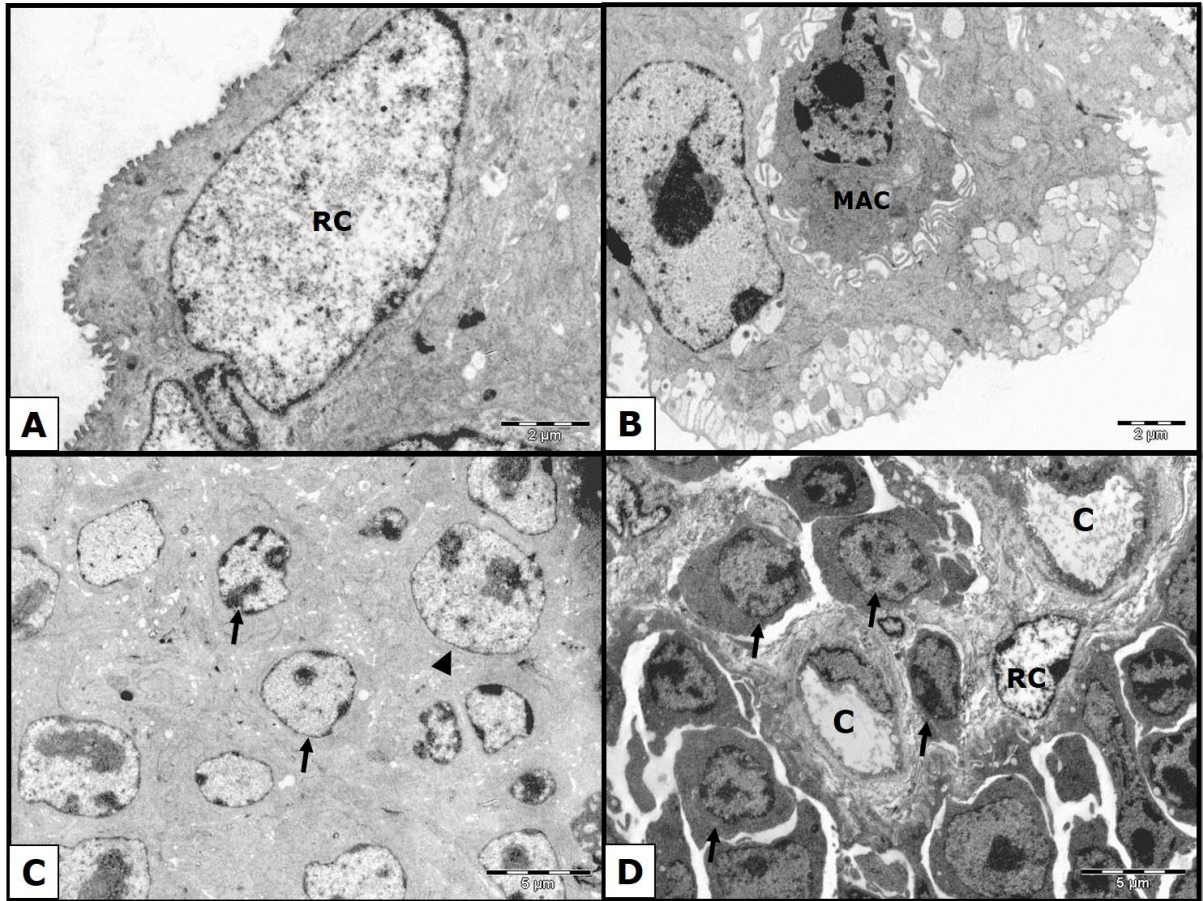


**Figura 11:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de ema com zero dia de vida (A e B) e com 15 semanas de idade (C e D). Em (A), observa-se a mucosa, representado pelos lóbulos linfoides (setas) e o epitélio interlobular (cabeça de seta), submucosa (S), muscular (M) e adventícia (A). Em (B), tem-se no lóbulo bursal (LB), vasos sanguíneos (seta preta), tecido conjuntivo frouxo (TCF), capilares na zona corticomedular (setas amarelas), epitélio pavimentoso simples (EAL) e o epitélio estratificado colunar (EIL). Em (C), verifica-se os lóbulos linfoides (setas), onde a zona medular corou mais intensamente do que a zona cortical. Em (D), constata uma zona medular (M), zona corticomedular (CM), zona cortical, capilares na zona corticomedular (setas amarelas) e cistos (cabeça de seta). Hematoxilina Eosina (HE).

### 5.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

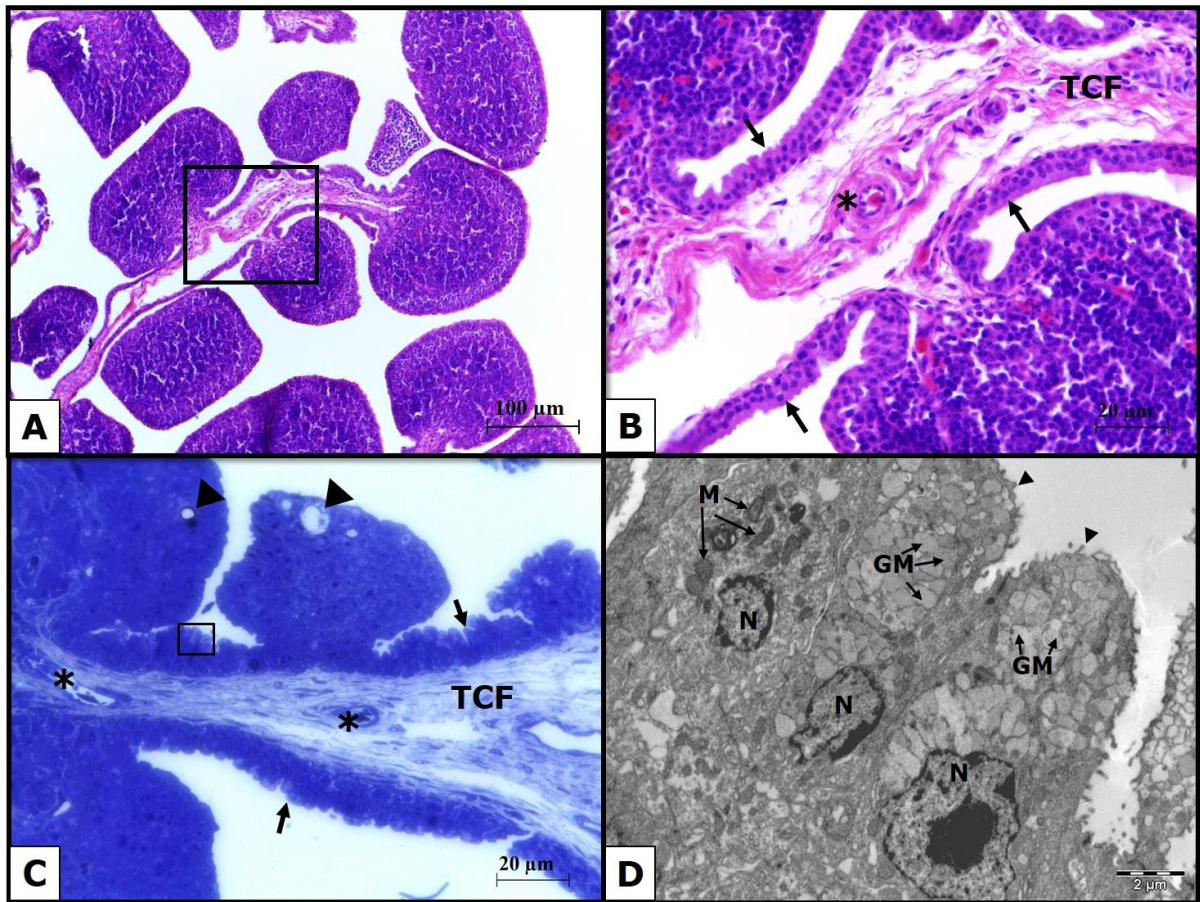
Os lóbulos bursais continham linfócitos de tamanhos variados, vasos sanguíneos (capilares) e algumas células reticulares epiteliais e macrófagos dispersos. Os linfócitos apresentaram os núcleos heterocromáticos quando comparados com as células reticulares, com nucléolos evidentes e pouco citoplasma, encontravam-se nas zonas cortical e medular. Os linfoblastos tendem a ser ligeiramente maiores do que os linfócitos e são arredondados e localizavam-se na medula. As células reticulares apresentam-se com grandes núcleos ovais eucromáticos, que normalmente contêm um ou dois nucléolos pequenos evidentes, estando

dispersos em todo parênquima do lóbulo bursal. Os macrófagos têm núcleo pequeno, heterocromático, com nucléolos evidentes, citoplasma bastante desenvolvido e localizados na zona cortical (figura 12).



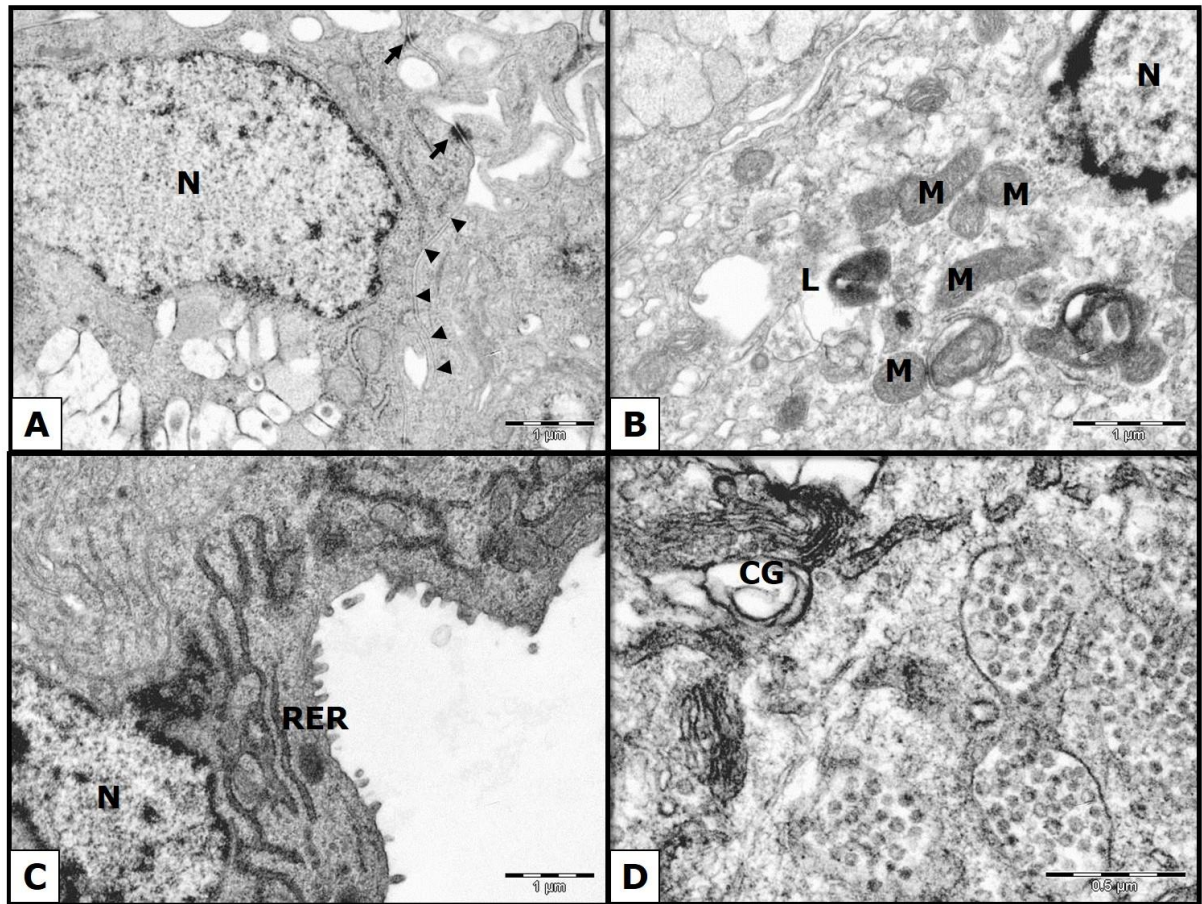
**Figura 12:** Microscopia eletrônica de transmissão da bolsa cloacal de emas com zero dia de vida (A e B), 6 semanas de idade (C) e 15 semanas de idade (D). Em (A), observa-se célula epitelial reticular (RC) na zona cortical do lóbulo bursal. Em (B), nota-se a presença de macrófago (MAC) na zona cortical do lóbulo bursal. Em (C), verifica-se os linfócitos (setas), linfoblasto (cabeça de seta) na zona medular. Em (D), evidencia-se dois capilares (C) na zona corticomedular, linfócitos (setas) e uma célula reticular (RC) também na mesma zona.

As células do epitélio interlobular apresentam grânulos de mucina intracitoplasmático na região apical, mitocôndrias, o núcleo localiza-se na região basal da célula, além da presença de curtas microvilosidades em toda superfície celular (figura 13).



**Figura 13:** Microscopia de luz da bolsa cloacal de emas com 6 semanas de idade (A, B, C), e microscopia eletrônica de transmissão em um animal de 6 semanas de idade (D). Em (A), observa-se conjunto de lóbulos bursais interligados por estrutura peduncular. (HE). Em (B), verifica-se a estrutura peduncular com a mucosa constituída de tecido epitelial estratificado colunar com microvilosidades (setas) e a submucosa constituída de tecido conjuntivo frouxo (TCF) com vasos sanguíneos (\*). (HE). Em (C), tem-se a mucosa constituída de tecido epitelial estratificado colunar (setas) e a submucosa constituída de tecido conjuntivo frouxo (TCF) com vasos sanguíneos (\*) e a presença de cistos (cabeça de seta). Azul de Toluidina (AT). Em (D), observa-se por meio da TEM as células da mucosa, constituído de muitos grânulos de mucina intracitoplasmático na região apical (GM), numerosas mitocôndrias (M), o núcleo na região basal da célula (N) e microvilosidades em toda superfície das células (cabeça de seta).

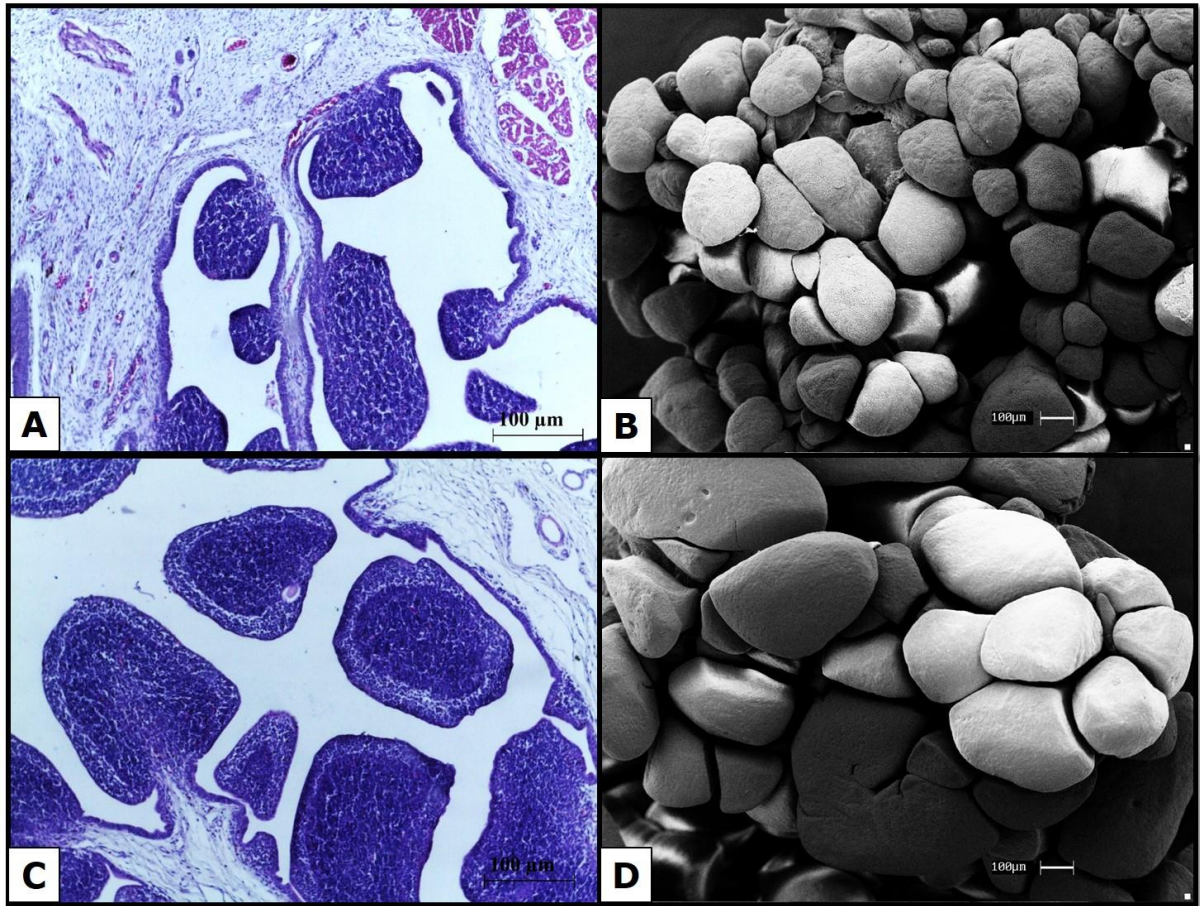
Essas células epiteliais apresentaram as junções celulares do tipo desmossomos. O citoplasma das células continha numerosos ribossomos livres e o retículo endoplasmático rugoso bastante desenvolvido com densidade ligeiramente maior do que a matriz citoplasmática. As mitocôndrias apresentaram-se ovais ou em forma de bastão e estão dispersas por todo o citoplasma celular. Alguns lisossomos e complexo de Golgi foram evidenciados nessas células (figura 14).



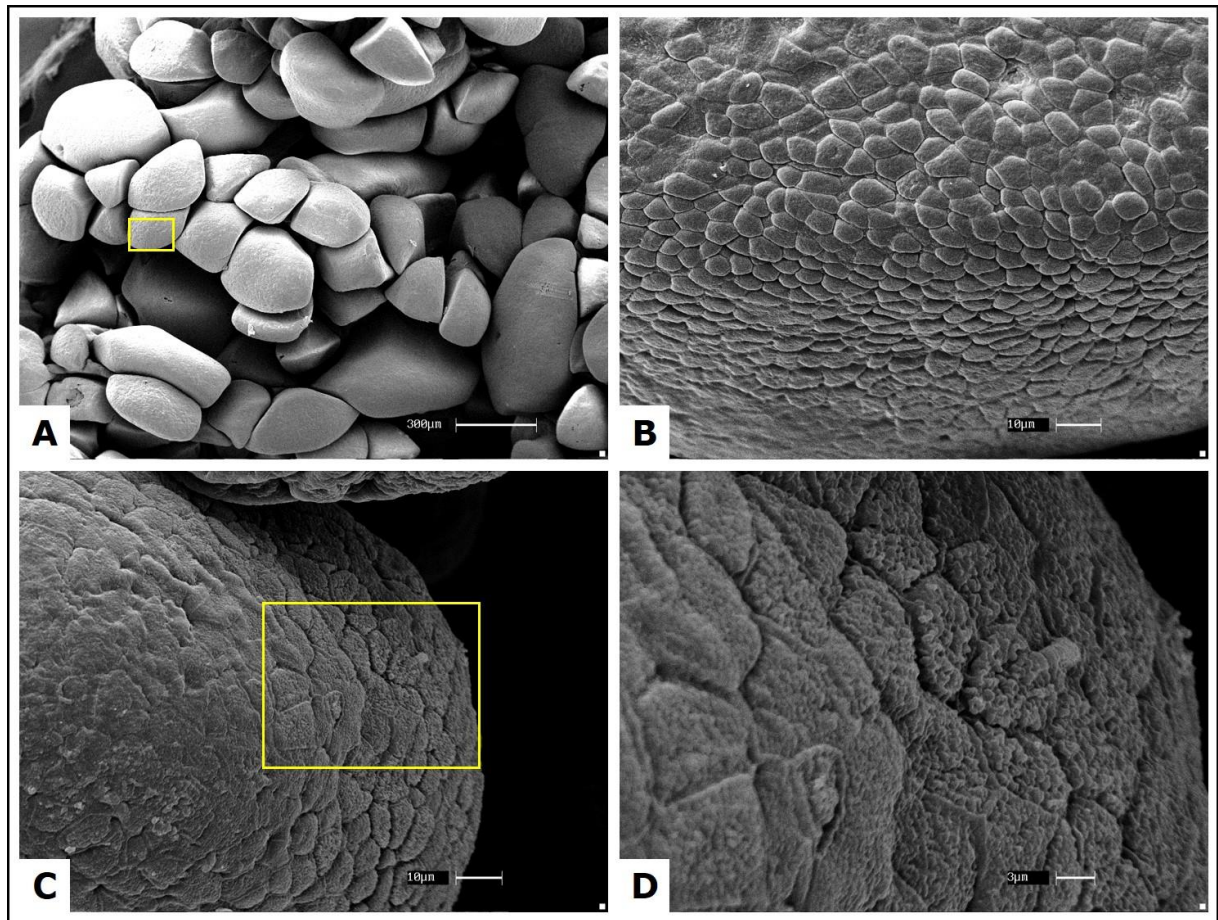
**Figura 14:** Microscopia eletrônica de transmissão do epitélio estratificado colunar da bolsa cloacal de emas com zero dia de vida (A), 6 semanas de idade (B e C) e 15 semanas de idade (D). Em (A), nota-se os desmossomos (setas) da célula da mucosa (N) com a célula adjacente e a membrana plasmática (cabeças de setas). Em (B), observa-se em destaque o núcleo da célula da mucosa (N), lisossomo (L) e mitocôndrias (M). Em (C), verifica-se a presença do retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido (RER) da mucosa. Em (D), constata-se a presença do complexo de Golgi (CG).

#### 5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na microscopia eletrônica de varredura, foi observado que a mucosa interna da bolsa cloacal é pregueada, composta por lóbulos bursais, de tamanhos variados, organizados como estrutura alveolar, e isso pode ser também verificado na microscopia de luz. Observou-se ainda que, nos animais de zero a 15 semanas de idade, tiveram o desenvolvimento dos lóbulos bursais (figura 15). A superfície da mucosa dos lóbulos bursais em todas as idades apresentaram projeções poligonais, com microvilosidades em toda a superfície (figura 16).



**Figura 15:** Microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura da bolsa cloacal de emas. Em (A e B), verifica-se o animal com zero dia de vida. Em (C e D), observa-se o crescimento e desenvolvimento dos lóbulos bursais nos animais com 15 semanas de idade. (HE).



**Figura 16:** Microscopia eletrônica de varredura da bolsa cloacal de emas com 15 semanas de idade (A e B) e zero dia de vida (C e D). Em (A), observa-se a disposição dos lóbulos bursais da bolsa cloacal como estrutura alveolar. Em (B), pode-se observar no quadrado delineado na Fig. (A), o revestimento epitelial. Em (C), nota-se a superfície da mucosa do lóbulo bursal com várias estruturas poligonais. Em (D), verifica-se as microvilosidades a partir do aumento no quadrado delineado da Fig. (C).



*DISCUSSÃO*

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Macroscopia e Vascularização Arterial

A bolsa cloacal da ema apresentou-se como uma estrutura distinta da cloaca, um órgão oco, arredondado e de cor pálida ou ligeiramente bege e mucosa interna bastante pregueada, estando localizada dorsalmente à cloaca, com quem se comunica por meio de uma abertura e com irrigação própria, a exemplo do que é relatado em patos (SCALA et al. 1989), galinhas (SANTANA et al., 1999), pombos (TELES et al., 2001; ABBATE et al., 2007) e avestruzes (HONORATO et al., 2009).

A irrigação da bolsa cloacal em emas ocorreu a partir dos vasos terminais da aorta abdominal, em especial a partir de ramos das artérias ilíacas internas direita e esquerda. Estas artérias emitiam as artérias pudendas internas direita e esquerda, as quais originavam as artérias bursocloacais e cloacais direita e esquerda em todos os animais estudados, vasos responsáveis por irrigar a bolsa cloaca na ema, corroborando com os dados de estudos em *Gallus gallus domesticus* das linhagens Peterson (SANTANA et al., 1999), NPK (SILVA et al., 2001), Label Rouge (SILVA et al., 2003), Lhoman White LSL (LIMA et al., 2008) e Master Gris Cou Plumé (ROSA et al., 2014).

Além das ilíacas internas, verificou-se a participação colaborando para irrigação da bolsa cloacal da ema, a artéria mesentérica caudal, cuja origem também foi a aorta abdominal, da mesma forma que relatado em diferentes linhagens de *Gallus gallus domesticus* (SANTANA et al., 1999; SANTANA et al., 2000; SANTANA et al., 2003) e no avestruz (HONORATO et al., 2009).

Scala et al. (1989) e Silva et al. (1997), ao estudarem a vascularização da bolsa cloacal em patos e galinhas da linhagem ROSS, respectivamente, relatam que as artérias responsáveis pela irrigação da bolsa cloacal são as pudendas internas direita e esquerda e que estas derivam ramos que desembocam no parênquima da bolsa cloacal. Já Santana et al. (1999), Silva et al. (2001), Silva et al. (2003) e Rosa et al. (2014), estudando diferentes linhagens de galinhas como Peterson, NPK, Label Rouge e Master Gris Cou Plumé, respectivamente, descreveram que além das artérias pudendas internas direita e esquerda, as artérias bursocloacais e cloacais direita e esquerda também irrigavam a bolsa cloacal, como descrito na Nômina Anatômica Aviária (BAUMEL et al., 1993), padrão semelhante ao observado em emas.

Observou-se ainda na ema que a artéria pudenda interna direita contribuiu com a irrigação da bolsa cloacal em todos os casos, emitindo de uma a três artérias bursocloacais

direita com a predominância de uma artéria bursocloacal. Estes resultados assemelham-se aos achados de Santana et al. (1999) em galinhas da linhagem Peterson e Silva et al. (2003) em galinhas da linhagem Label Ruge, quando verificaram a existência de uma a duas artérias bursocloacais direita oriundas a partir da pudenda interna direita, sendo uma artéria mais frequente. Assemelham-se ainda aos estudos realizados por Santana et al. (2000) em matrizes de corte da linhagem Avian Farms, onde os autores citaram de uma a quatro artérias bursocloacais direita e aos de Silva et al. (2001) em frangos da linhagem.

A artéria pudenda interna esquerda nesta espécie também participou do aporte sanguíneo para a bolsa cloacal em todos os animais estudados, emitindo mais frequentemente uma ou em alguns casos duas ou três artérias bursocloacais esquerda, resultado semelhante ao relatado por Santana et al. (1999) em galinhas da linhagem Peterson e Silva et al. (2003) na linhagem Label Rouge, cujos autores mencionam a emissão de uma a duas artérias bursocloacais esquerda, mais comumente uma única artéria. Vale ressaltar que apesar da ocorrência de apenas uma artéria bursocloacal nos antímeros direito e esquerdo, na maioria das emas estudadas, o suprimento sanguíneo da bolsa cloacal não fica comprometido, já que esta artéria percorre dorsolateralmente a bolsa cloacal estendendo-se até atingir a região caudodorsal, emitindo ramos em todo seu percurso, fazendo com que grande parte do órgão receba a quantidade de sangue necessária para desempenhar suas funções fisiológicas.

Quanto à distribuição das artérias que irrigam a bolsa cloacal Scala et al. (1989), relataram em patos (*Anas platyrhynchos*), que os ramos derivados das artérias pudendas internas direita e esquerda adentram pelas margens laterais e face ventral do órgão, semelhante ao observado na ema, onde verificou-se a participação das artérias cloacais direita e esquerda, ramos das artérias pudendas internas. Este comportamento anatômico pode estar relacionado à decorrência da relação sintópica dos vasos com o órgão, visto que as artérias cloacais em todos os casos percorrem ventrolateralmente à bolsa cloacal até atingir a cloaca.

De acordo com Santana et al. (1999), Silva et al. (2001), Santana et al. (2003) e Lima et al. (2008), os quadrantes caudais das bolsas cloacais foram abundantemente supridos por vasos que forneceram um aporte sanguíneo maior do que o observado nos quadrantes craniais, fato também foi evidenciado na ema principalmente pelas artérias bursocloacais. Em contrapartida, Santana et al. (2000), em seu estudo com matrizes de corte da linhagem Avian Farms, analisaram que a maioria dos ramos arteriais que suprem a bolsa cloacal eram destinados aos quadrantes craniais da bolsa cloacal, diferindo do observado na ema.

A artéria caudal mediana foi relatada suprimindo a bolsa cloacal em estudos realizados em *Gallus gallus domesticus* de diferentes linhagens, ROSS (Silva et al., 1997), Peterson

(SANTANA et al., 1999), Avian Farms (SANTANA et al., 2000), Hubbard (SANTANA et al., 2003), Hybro PG (GOMES et al., 2009) e Coob Slow (SINOTTI et al., 2012), diferindo do observado na ema, já que nesta espécie, esta artéria não irrigava a bolsa cloacal. Possivelmente, a ausência desta artéria no aporte sanguíneo da bolsa cloacal nas emas esteja relacionada com sua sintopia, por sua localização não favorecer a emissão de ramos para o órgão.

A artéria mesentérica caudal neste estudo participou do suprimento sanguíneo arterial da bolsa cloacal associada às artérias pudendas internas direita e esquerda em sete e oito casos, respectivamente, por meio de anastomoses, resultados também observados por Santana et al. (1999), em um estudo realizado com galinhas da linhagem Peterson e Santana et al. (2003) com matrizes de corte da linhagem Hubbard, os quais constataram a anastomose entre as artérias mesentérica caudal e pudendas internas direita e esquerda em menor frequência. Por sua vez, Honorato et al. (2009) estudando as artérias da bolsa cloacal de avestruzes, observaram a associação da artéria mesentérica caudal com a artéria bursocloacal direita ou com a bursocloacal esquerda, resultado não observado na ema. Acredita-se que essas anastomoses criem vias alternativas, colaterais, ou desvios, que permitem uma melhor manutenção da circulação sanguínea ou apresentam-se como a fonte supridora quando a via mais direta se encontrar bloqueada, evitando a necrose dos tecidos da bolsa cloacal.

## **6.2 Microscopia de Luz**

Nas aves, foi observado que a bolsa cloacal apresenta pregas em toda a superfície da mucosa interna, e em cada prega existe um aglomerado de lóbulos linfóides na lâmina própria, separados por trabéculas de tecido conjuntivo, a exemplo do que foi relatado para aves como em pato selvagem (WARD e MIDDLETON, 1971), galinha da angola (ONYEANUSI et al., 1993), ganso nativo (GÜLMEZ e ASLAN, 1999), peru (KARADAG SARI e KURTDEDE, 2007), codorna japonesa (AL-TEMEY et al., 2011) e falcão (KARADAG SARI et al., 2015). Na ema, observou-se a mucosa pregueada composta por lóbulos linfóides, de diversos tamanhos, distribuídos isoladamente na lâmina própria, como estrutura alveolar, sendo esses achados semelhantes aos relatados para emas adultas (ELBROND et al., 2009) e em pintos de avestruzes (SONG et al., 2012).

Em ganso nativo (GÜLMEZ e ASLAN, 1999), peru (KARADAG SARI e KURTDEDE, 2007), codorna japonesa (AL-TEMEY et al., 2011) e no falcão (KARADAG SARI et al., 2015), a bolsa cloacal era formada por três túnicas: mucosa, muscular e serosa, enquanto que em estudos realizados com pintos de avestruzes, foram observadas quatro túnicas,

mucosa, submucosa, muscular e adventícia, corroborando com os resultados obtidos para emas. Essa semelhança com o avestruz pode estar relacionada com o que Dani (1993), menciona quando afirma que a ema apresenta similaridades morfológicas, bioquímicas, genéticas e comportamentais com o avestruz.

Na mucosa da bolsa cloacal, foi observado a existência de dois tipos de epitélios, o associado ao lóbulo linfoide (EAL) e o interlobular (EIL). Em peru (KARADAG SARI e KURTDEDE, 2007) e em codorna japonesa (AL-TEMEMY et al., 2011), observou-se dois tipos de epitélios, o epitélio simples colunar revestindo os lóbulos bursais e o epitélio pseudoestratificado colunar entre os lóbulos. Já no falcão (KARADAG SARI et al., 2015), refere-se aos dois tipos de epitélios, um sendo cúbico simples e o outro colunar simples revestindo o lóbulo bursal e a região interlobular, respectivamente. Em pato selvagem (WARD e MIDDLETON, 1971), ganso nativo (GÜLMEZ e ASLAN, 1999) e pintos de avestruzes (SONG et al., 2012), os autores, observaram que a mucosa interna, é revestida apenas por epitélio pseudoestratificado colunar. No entanto, na ema, verificou-se que o epitélio associado ao lóbulo bursal, é do tipo pavimentoso simples, e o interlobular, é do tipo estratificado colunar, diferindo assim de todas as outras.

Utilizando a coloração histológica do tipo Acido Periódico de Schiff, foi observado que os resultados encontrados para as emas jovens se assemelham aos achados para gansos nativos (GÜLMEZ e ASLAN, 1999) e emas adultas (ELBROND et al., 2009), uma vez que nessas aves a mucosa da bolsa cloacal apresentou-se fortemente marcada para PSA. Em contrapartida, Karadag Sari et al. (2015), afirmaram que no falcão, a mucosa do lóbulo bursal marcou fracamente com PAS. Nas emas, além da mucosa, a zona medular também foi PAS positivo, e isso pode estar relacionado com a ação das células reticulares que contêm glicoproteínas em grande concentração em seus citoplasmas, corando-se fortemente com o PAS, como mencionado por Davison et al. (2008). Ackerman (1962), ainda reforça que estas células estão dispersas por todo parênquima do lóbulo bursal.

Nas aves já estudadas como por exemplo, o pato selvagem (WARD e MIDDLETON, 1971), galinha da angola (ONYEANUSI et al., 1993), ganso nativo (GÜLMEZ e ASLAN, 1999), peru (KARADAG SARI e KURTDEDE, 2007), emas adultas (ELBROND et al., 2009), codorna japonesa (AL-TEMEMY et al., 2011), falcão (KARADAG SARI et al., 2015) e em pintos de avestruzes (SONG et al., 2012), os lóbulos bursais são constituídos por três zonas, a cortical, corticomedular e medular, o que também foi observado nesse estudo com emas. Em relação a coloração dessas regiões, verificou-se que o pato selvagem (WARD e MIDDLETON, 1971), a galinha da angola (ONYEANUSI et al., 1993), o ganso nativo (GÜLMEZ e ASLAN,

1999), o peru (KARADAG SARI e KURTDEDE, 2007) e a codorna japonesa (AL-TEMEMY et al., 2011), coraram fracamente com HE a zona medular em relação a cortical, enquanto que nos pintos de avestruzes (SONG et al., 2012), a medula e a cortical corou-se intensamente e homogênea, corroborando com nossos achados observados para emas jovens. Quando determinada zona do lóbulo bursal cora intensamente, significa que os linfócitos estão densamente compactados nessa região, apresentando-se coloração mais escura do que outras zonas de acordo com Bradley e Grahame (1960).

Leena et al. (2009), verificaram a presença de grandes cistos na zona medular nos animais a partir de 8 semanas de idade, revestidos por epitélio pavimentoso simples, com lúmen repleto de substância mucoide, e o número de cistos aumentou com o avançar das idades. Nas emas, observou-se também a presença desses cistos nas três zonas dos lóbulos bursais nos animais com 6 e 15 semanas de idade, também com o epitélio pavimentoso simples revestindo os cistos. Em pesquisas realizadas com frangos, por meio de análise histopatológica, foi observado a presença de cistos e folículos císticos, sendo estas alterações referentes a lesões compatíveis com o vírus da doença infecciosa da Bursa de Fabricius (VDIB), sendo um indicativo para a presença desta enfermidade, como descrito por Pereira et al. (2003).

### **6.3 Microscopia Eletrônica de transmissão e varredura**

Em embriões de 15 e 16 dias de incubação de galinhas da linhagem White Leghorn e em pintos de avestruzes, Ackerman (1962) e Song et al. (2012), respectivamente, descreveram por meio da microscopia de transmissão (TEM), que os linfócitos na bolsa cloacal eram poucos desenvolvidos, possuindo cromatina heterocromática em seus núcleos. Ainda, Ackerman (1962) em seus estudos com aves domésticas, observou a existência de linfoblastos ligeiramente maiores do que os linfócitos, arredondados em contorno com citoplasma e as células epiteliais reticulares com grandes núcleos ovais eucromáticos, contendo um ou dois nucléolos pequenos evidentes, com desmosomos entre células adjacentes. Esses achados corroboraram com nossos resultados com emas jovens.

Neste estudo foi observado a presença de grânulos de mucina no citoplasma apical das células epiteliais, e o mesmo foi relatado por Naukkarinen et al. (1978), em embriões de galinhas White Leghorn no 15º dia de incubação e por Rautenfeld e Budras (1982) nos Struthioniformes. Oláh e Vervelde (2008), afirmam que estes grânulos de mucina são acúmulos de glicoproteínas e segundo Otsubo et al. (2001), ao estudarem o papel do hormônio bursina nos linfócitos B no desenvolvimento embrionário de galinhas da raça White Leghorn,

afirmaram que na camada basal do epitélio interlobular foi expressado o hormônio bursina (tripeptídeo) por meio da imunohistoquímica. Desta forma, pode estar associado a produção dos grânulos de mucina com a produção deste hormônio.

Em todos os animais deste estudo, observou-se no citoplasma das células epiteliais, numerosas mitocôndrias e ribossomos livres. Oláh e Vervelde (2008), afirmam que a presença de muitas mitocôndrias e ribossomos sugere no aumento do estado de atividade da célula, que pode estar relacionado com suas funções, transportando células e antígenos.

Quando analisada a bolsa cloacal por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), pode-se observar que seus lóbulos bursais apresentaram forma alveolar, de tamanhos variados, conforme constatado na microscopia de luz. Já Romano et al. (1996), estudando a ultraestrutura da mucosa da bolsa cloacal em embriões de galinhas, constataram nas pregas bursais o ápice folicular protrusivo, em formato de um “botão” com epitélio associado. Enquanto que nas emas adultas, Elbrond et al. (2009), compararam os lóbulos bursais como projeções em forma de fungos.



CONCLUSÕES

## CONCLUSÕES

Macroscopicamente, a bolsa cloacal da ema apresentou-se como uma estrutura distinta da cloaca, com tamanho variado em função da idade;

Os vasos que irrigam a bolsa cloacal de emas estão representados pelas artérias bursocloacais e cloacais direita e esquerda, oriundas das artérias pudendas internas direita e esquerda e em alguns ocorre ainda a participação da artéria mesentérica caudal;

O fato dos vasos que irrigam a bolsa cloacal apresentarem padrões de ramificações e de anastomoses em emas sugere a ocorrência de variações individuais, características peculiares à espécie que as diferenciam do padrão comumente reportado para outras aves;

Foi observado nos animias de zero dia de vida que a zona cortical e medular apresentaram-se indistintas e desta forma não conseguindo diferenciá-las e a partir de 6 e 15 semanas de idade, foi possível diferenciar a zona cortical, corticomedular e medular, desta forma acredita-se que estas zonas se desenvolveram, tornando-se mais especializadas;

A presença de grande quantidade de RER, mitocôndrias e grânulos de mucina no epitélio da mucosa da bolsa cloacal de emas sugere uma possível síntese de glicoproteínas e, por tanto, possíveis locais de produção do hormônio bursina, visto que, trata-se de glicoproteína, mais precisamente um tripeptídeo;

Comparando-se a microscopia de luz com a microscopia eletrônica de varredura nas idades de zero e 15 semanas de vida percebeu-se que houve um aumento dos lóbulos bursais, indicando o desenvolvimento;

O conhecimento do padrão morfológico da bolsa cloacal de emas contribuirá para biologia da espécie, no que diz respeito aos exames anatomohistopatológicos realizados comumente na inspeção sanitária em criatórios legalizados.

## REFERÊNCIAS

- ABBATE, F.; PFARRER, C.; JONES, C. J. P.; CIRIACO, E.; GERMANÀ, G.; LEISER, R. Age-dependent changes in the pigeon Bursa of Fabricius vasculature: a comparative study using light microscopy and scanning electron microscopy of vessel casts. **Journal of Anatomy**, Malden, v. 211, n. 3, p. 387-398, 2007.
- ACKERMANN, G. A. Electron microscopy of the bursa of Fabricius of the embryonic chick with particular reference of the limpho-epithelia nodules. **Journal of Cell Biology**, Columbus, v. 13, n. 1, p. 127-146, 1962.
- ALMEIDA, M. A. **Influência dos sistemas artificial e natural de incubação e criação de emas (*Rhea americana*) nos índices produtivos de criadores do Estado de São Paulo**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- AL-MAYAH, A. A. S.; TABEEKH, M. A. S. A. Investigation on bursa fabricius and body weights in broiler and local chicks vaccinated with two types of infectious bursal disease vaccines. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 5, p. 464-467, 2010.
- AL-TEMEMY, H. S. A.; HUSSEIN, J. S.; RASOOL, B. S. Histological study on bursa of fabricius of quail birds (*Coturnix coturnix japonica*). **Egyptian Poultry Science**, v. 31, n. 2, p. 613-620, 2011.
- BAUMEL, J. J.; KING, A. S.; BREAZILE, J. E.; EVANS, H. E.; BERGE, J. C. V. **Handbook of avian anatomy: Nomina Anatomica Avium**. 2 Ed. Cambridge: Nuttall Ornithological Club, 1993. 779 p.
- BRADLEY, O.C.; GRAHAME T. **The Structure of the Fowl**. Edinburg, Oliver and Boyd, 1960.
- BUTCHER, G. D.; MILES, R. D. **Infectious Bursal Disease (Gumboro) in Commercial Broilers**. University of Florida, IFAS Extension. Disponível em: <file:///C:/Users/Gustavo/Desktop/VM02400.pdf> Visualizado em: 08 de novembro de 2014.
- CALDWELL, D. J.; DEAN, C. E.; MCELROY, A. P.; CALDWELL, D. Y.; HARGIS, B. M. Bursal anti-steroidogenic peptide (BASP): Modulation of mitogen-stimulated bursal-lymphocyte DNA synthesis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular e Integrative Physiology**, v. 123, n. 4, p. 385-391, 1999.
- COOPER, M. D., PETERSON, R. D., SOUTH, M. A. AND GOOD, R. A. The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken. **Journal of Immunology**, v. 176, p. 6370-6404, 2006.
- DANI, S. **A ema (*Rhea americana*): biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte, MG: Fundação Acangaú, 1993.
- DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K. A. Structure of the avian lymphoid system. In: **Avian Immunology**. 1. Ed. San Diego: Elsevier, 2008. 1384 p. p. 14.

DYCE, K. M.; WENSING, C. J. G.; SACK, W. O. **Tratado de anatomia veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 834 p. p. 799-806.

ELBROND, V. S.; LAVERTY, G.; DANTZER, V.; GRØNDAHL, C.; SKADHAUGE, E. Ultrastructure and electrolyte transport of the epithelium of coprodeum, colon and the proctodeal diverticulum of *Rhea americana*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 152, n. 3, p. 357-365, 2009.

FORTES, E. A. M.; SOUSA, A. F.; ALMEIDA, E. C. S.; CONDE JUNIOR, A. M.; MOURA, W. L. Morfologia das células do sangue periférico em emas (*Rhea americana*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 215-221, 2009.

FOWLER, M. E. Comparative clinical anatomy of ratites. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, p. 204-227, 1991.

GERLACH, H. Defense Mechanisms of the Avian Host. **In:** RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. Avian Medicine: Principles and application. Ed. H B D International, Incorporated, 1999. 1384 p. p. 116.

GLICK, B. The ontogeny and microenvironment of the avian thymus and bursa of Fabricius: contribution of specialized cells to the avian immune response. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v. 30, p. 67-90, 1985.

GLICK, B.; CHANG, T. S.; JAAP, R. G. Normal growth of the bursa of Fabricius in chickens, **Poultry Science**, v. 35, p. 843-851, 1956.

GLICK, B.; OLÁH, I. A bursal secretory dendritic cell and its contributions to the microenvironment of the developing bursal follicle. **Research Immunology**, v. 144, p. 446-447, 1993.

GOMES, A. R. A.; Silva, F. O. C.; MIRANDA, R. L.; RESENDE, G. G. N. Artérias da bolsa cloacal de galinhas (*Gallus gallus*) da linhagem Hybro PG. **Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 4, p. 153-157, 2009.

GUIMARÃES, E. B.; VASCONCELOS, A. C.; MARTINS, N. R. S.; OLIVEIRA, R. F. M.; MORO, L.; NUNES, J. E. S.; SANTOS, F. G. A. Porcentagem de parênquima e índice apoptótico da bolsa cloacal em frangos de corte em ambiente de conforto e estresse térmico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 2, p. 1-7, 2003.

GÜLMEZ, N.; ASLAN, Ş. Histological and histometrical investigations on bursa of fabricius and thymus of native geese. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 23, n. 2, p. 163-172, 1999.

HONORATO, A. G. O.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; ORTEGA, J. F.; PEREIRA, C. C. H. Artérias da bolsa cloacal de avestruzes (*Struthio camelus*). **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 15, n. 2, p. 27-32, 2009.

KARADAG, S. E.; ALTUNAY, H.; KURTDEDE, N.; BAKIR, B. The structure of bursa of fabricius in the long-legged buzzard (*Buteo Rufinus*): histological and histochemical study. **Acta Veterinaria**, v. 65, n. 4, p. 510-517, 2015.

LEENA, C.; PRASAD, R. V.; KAKADE, K.; JAMUNA, K. V. Age Related Histochemical Changes Of The Bursa And Thymus Of Domestic Fowl. **Journal of Veterinary Animal Science**, v. 40, p. 9-11, 2009.

LIMA, E. M. M.; SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; DRUMMOND, S. S.; ARAÚJO, C. L.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S. Suprimento arterial para a bolsa cloacal em aves (*Gallus gallus Linnaeus*, 1758) da linhagem Lhoman White LSL. **Biotemas**, Florianópolis, v. 21, n. 1, p. 95-100, 2008.

KARADAG SARI, E.; KURTDEDE, N. Light and electron microscopic studies of the bursa of Fabricius in Turkeys. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 13, n. 2, p. 177-84, 2007.

KARLSSON, M.; KOLLBERG, H.; LARSSON, A. Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage. **World Poultry Science Journal**, v. 60, p. 341-348, 2004.

KINCADE, P.; COOPER, M. D. Development and distribution of immunoglobulincontaining cells in the chicken: An immunofluorescent analysis using purified antibodies to  $\mu$ ,  $\gamma$ , and light chains. **Journal Immunology**, v. 1, n. 105, p. 371, 1971.

NAUKKARINEN, A.; ARSTILA, A. U.; SORVARI, T. E.; Morphological and functional differentiation of the surface epithelium of the bursa Fabricii in chicken. **The Anatomical Record**, v. 191, n. 4, p. 415-432, 1978.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. **Anatomy of the domestic birds**. Verlag Paul Parey, Berlin, Germany, 1981. 202 p.

NOVAES, F. C. Aves – Struthioniformes – Rheidae, **Fauna da Amazônia Brasileira**, Belém, v. 20, p. 1-3, 2002.

OLÁH, I.; VERVELDE, L. Structure of the avian lymphoid system, In: DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K. A. **Avian Immunology**. 1. Ed. San Diego: Elsevier, 2008. 1384 p. p. 13-15.

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

ONYEANUSI, B.; EZEOKOLI, C. D.; ONYEANUSI, J. C.; EMA, A. N. The anatomy of the cloacal bursa (Bursa of Fabricius) in the helmeted guinea fowl (*Numida meleagris galeata*). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Malden, v.22, n. 3, p. 212-221, 1993.

OTSUBO, Y.; CHEN, N.; KAJIWARA, E.; HORIUCHI, H.; MATSUDA, H.; FURUSAWA, S. Role of bursin in the development of B lymphocytes in chicken embryonic bursa of Fabricius. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 25, p. 485-493, 2001.

PARIZZI, R. C.; MIGLINO, M. A.; MAIA, M. O.; SOUZA, J. A.; SANTOS, J. M.; OLIVEIRA, M. F.; SANTOS T. C. Morfologia do ovário da ema (*Rhea americana*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 27, n. 3, p. 89-94, 2007.

PEREIRA, R.; ALLGAYER, M.C.; FALLAVENA, L.C.B.; MORAES, H.L.S.; FITTÉL, A.P.; MOTTA, A.C.; SANTOS, L.R.; SALLE, C.T.P. Doença Infecciosa da Bursa (DIB) – Comparação entre Monitoria por Exame Histopatológico e Bursometria. **In: XI Encontro Nacional de Patologia Veterinária**, 2003, Botucatu. Anais... Botucatu: UNESP, 2003. p. 138.

PEREIRA, A. V.; ROMANELLI, P. F.; SCRIBONI, A. B.; ORLANDINI, F. P. Rendimentos do abate e composição da carne de ema (*Rhea americana*). **Ciência Tecnologia de Alimentos** v. 26, n. 3, p. 632-638, 2006.

PINTEA, V.; CONSTANTINESCU, G. U.; RADU, C. Vascular and nervous supply of the bursa of Fabricius in the hen. **Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae**, Hungria, v. 17, n. 3, p. 263-268, 1967.

RAUTENFELD, D. B.; BUDRAS, K. D. The bursa cloacae (Fabricii) of Struthioniforms in comparison with the bursa of other birds, **Journal of Morphology**, v. 172, p. 123-138, 1982.

RODRIGUES, M. N.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, R. S. B., TIVANE, C.; ALBUQUERQUE, J. F. G.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. Macroscopia e topografia do aparelho digestório de emas (*Rhea americana americana*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 32, n. 7, p. 681-686, 2012a.

RODRIGUES, M. N.; TIVANE, C. N.; CARVALHO, R. C.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, R. S. B.; AMBROSIO, C. E.; OLIVEIRA, M. F.; MIGLINO, M. A. Gross morphology of rhea oropharyngeal cavity. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 32, n. 1, p. 53-59, 2012b.

ROMANO, N.; BALDASSINI, M. R.; ABELLI, L.; AITA, M.; MASTROLIA, L. Ultrastructural study on the plial epithelium of the bursa of fabricius in chick embryos: influence of partial decerebration and hypophyseal allografts. **Journal of anatomy**, v. 188, p. 29-41, 1996.

ROSA, M. C. B.; GUIMARÃES, G. C.; NARCISO, T. P.; BASTOS, P. M.; NASCIMENTO, L. G.; SANTANA, M. I. S.; LIMA, E. M. M. Vascularização da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (Linhagem Master Gris Cou Plumé). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 484-490, 2014.

SANTANA, M. I. S.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; BOMBONATO, P. P.; MARÇAL, A. V. Irrigação da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (matrizes de corte Hubbard). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 199-204, 2003.

SANTANA, M. I. S.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P. Irrigação da bolsa cloacal, em aves reprodutoras, da linhagem Peterson (*Gallus gallus domesticus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 59-65, 1999.

SANTANA, M. I. S.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P. Vascularização arterial da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (Matrizes de corte Avian Farms). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 115-120, 2000.

SANTOS, T. C.; SOUSA, J. A.; OLIVEIRA, M. F.; SANTOS, J. M.; PARIZZI, R. C.; MIGLINO, M. A. Morfologia dos órgãos genitais masculinos e da cloaca da ema (*Rhea americana americana*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 31, n. 5, p. 430-440, 2011.

SARASQUETA, D.V. **Cría de Ñandúes**. Capítulo 19 en: Cría de Avestruces, Emúes y Ñandúes. 2ª Edición, Real Escuela de Avicultura, Barcelona España. 1997.

SCALA, G.; CAPUTO, G.; PAINO, G.; PELAGALLI, G.V. The vascularization of the bursa cloacalis (of Fabricius) in the duck. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Malden, v. 18, n. 1, p. 66-75, 1989.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**, 2ª Ed. Editora: Universidade de Brasília, Brasília, 916 p., 1997, p. 129-132.

SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S.; LIMA, E. M. M. Irrigação da bolsa cloacal em aves (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) da linhagem NPK. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 5, n. 1, p. 17-24, 2001.

SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; DRUMMOND, S. S.; MACHADO, G. V.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S.; LIMA, E. M. M. Suprimento arterial para a bolsa cloacal de galinhas (*Gallus gallus Linnaeus*, 1758) da linhagem Label Rouge. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 13-18, 2003.

SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S.; GONÇALVES, P. O.; MARÇAL, A. V. Vascularização arterial da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (Linhagem Ross). **Revista da FZVA**, Porto Alegre, v. 4, n. 1, p. 81-92, 1997.

SINOTTI, J. F.; MARTINS, A. B.; BIRCK, A. J.; FILADELPHO, A. L. Vascularização arterial da bolsa cloacal em (*Gallus gallus domesticus*) da linhagem Coob Slow. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 19, n. 2, p. 1-10, 2012.

SONG, H.; PENG, K.; LI, S.; WANG, Y.; WEI, L.; TANG, L. Morphological characterization of the immune organs in ostrich chicks. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 36, n. 2, p. 89-100, 2012.

STEWART, J. Ratites. **In:** RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. Avian Medicine: Principles and application. Ed. H B D International, Incorporated, 1999. 1384 p. p. 1285-1290.

TELES, M. E. O.; RIBEIRO, M. G.; MARUCH, S. M. G.; RIBEIRO, R. D. Aspectos histológicos e histoquímicos da cloaca feminina de *Columba Iivia* (Gmelin) (Columbidae, Columbiformes). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 1, p. 123-131, 2001.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. 2. ed. Barueri: Manole, 2003. 331 p.

VILLANUEVA, A. C.; BERNARDO, F. A. E. M. Morphological and histological features of the bursa of fabricius from non-vaccinated one month old female Gamefowl chicks from hyperimmunized breeders. **Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 41, n. 2, p. 141-146, 2015.

WARD, J. G.; MIDDLETON, A. L. A. Weight and histological studies of growth and regression in the bursa of Fabricius in the mallard, *Anas platyrhynchos*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 49, n. 1, p. 11-14, 1971.

WARUI, C. N.; SKADHAUGE. Morphological and functional anatomy of the cloaca and terminal colon of the african ostrich. In: 2<sup>nd</sup> International Ratite Congress, 21-25 Setembro de 1998, Oudtshoorn, South Africa. **Anais do 2<sup>nd</sup> International Ratite Congress**, Oudtshoorn, South Africa. p. 88-90, 1998.

## ANEXOS

## ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA BIOSCIENCE JOURNAL (QUALIS B2)

691

Original Article

ARTERIAL VASCULARIZATION OF THE CLOACAL BURSA OF GREATER RHEA, *Rhea americana americana* LINNAEUS, 1758VASCULARIZAÇÃO ARTERIAL DA BOLSA CLOACAL DE EMA, *Rhea americana americana* Linnaeus, 1758

Radan Elvis Matias de OLIVEIRA<sup>1</sup>; Gleidson Benevides de OLIVEIRA<sup>2</sup>;  
 Ferdinando Vinicius Fernandes BEZERRA<sup>3</sup>; Felipe Venceslau CÂMARA<sup>3</sup>;  
 Herson da Silva COSTA<sup>3</sup>; André Vinicius Nunes SILVA<sup>3</sup>;  
 Hélio Noberto de ARAÚJO JÚNIOR<sup>3</sup>; Moacir Franco de OLIVEIRA<sup>4</sup>

1. Mestrando em Ciência Animal, Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró, RN, Brasil; radan\_elvis@hotmail.com; 2. Doutorando em Ciência Animal, Departamento de Ciências Animais - UFERSA, Mossoró, RN, Brasil; 3. Graduando em Medicina Veterinária, Departamento de Ciências Animais - UFERSA, Mossoró, RN, Brasil; 4. Professor, Doutor, Departamento de Ciências Animais - UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

**ABSTRACT:** The cloacal bursa is an organ in fowls, which triggers lymphocyte maturation and transference to other tissues. Since there is scanty information on its morphology in wild species in spite of its importance in the fowls' immunological system, current analysis describes the arterial vascularization of the cloacal bursa in the greater rhea. Twenty juvenile rheas (male and female), which died of natural causes, were obtained from the Center for the Multiplication of Wild Animals (CEMAS/UFERSA). The animals were dissected and their thoracic aorta cannulated and red-stained Latex Neoprene 650 was introduced. The cloacal bursa was irrigated from the terminal branches of the abdominal aorta similar to the caudal mesenteric artery and to the right and left internal iliac arteries. The right and left internal podenda arteries originated from the right and left internal iliac arteries which, in their turn, gave rise to cloacal-bursa arteries and to the right and left cloacal arteries in all studied animals. The caudal mesenteric artery contributed to the arterial blood of the cloacal bursa in almost all studied animals through the anastomosis of right or left internal podenda artery, with direct branches to the cloacal bursa. The cloacal bursa of the greater rhea is irrigated by cloacal-bursa arteries and cloacal right and left and also by the mesenteric caudal artery, with small variations with regard to the number and layout of the anastomoses and branches from the arteries. The latter are specific characteristics and differentiate them from standards perceived in other fowls.

**KEYWORDS:** Cloacal-bursa artery. Cloacal artery. Fowls. Immunological system. Mesenteric caudal artery. Ratites.

## INTRODUCTION

The greater rhea is the biggest native fowl in South America and, together with the ostrich, emu, cassowary and kiwi, belong to the Ratite group. The fowl belongs to the Struthioniform order and the family Rheidae, characterized by their reproductive adaptability and the byproducts such as meat, hide, feathers and fat (ALMEIDA, 2003).

The meat of rhea is source of animal protein in appreciated for its low lipid rates (1.59%) and low collagen contents providing softness to meat. In fact, it is a healthy product for human consumption (PEREIRA et al., 2006). Its breeding is highly appropriate within a sustainable production system. Studies on the biology and morphology of the species are required so that animal-improvement characteristics of the species could be better exploited in Brazil.

Morphological knowledge is highly important for health, feed and reproduction management in captivity and to provide basic data

for clinical and surgical procedures. The literature provides few morphological studies with females (PARIZZI et al., 2007), cloaca of the males (SANTOS et al., 2011), digestory apparatus (RODRIGUES et al., 2012a; RODRIGUES et al., 2012b) and morphology of the blood cells (FORTES et al., 2009) in the rhea. There is no information on the morphology and vascularization of the cloacal bursa of the rhea.

Arterial vascularization is responsible for transportation of blood rich in oxygen, which is essential for maintenance of biological organs. The arterial vascularization of the cloacal bursa is essential for the development of the fowls' immunological function. Pioneer work by Ackermann (1962) and Frazier (1974), who described the vascular patterns in fowls, should be underscored, coupled to analyses by Piniea et al. (1967) and Zamojska (1975), who detailed the irrigation of the cloacal bursa in the genus *Gallus*. Further, other studies have been developed in domestic fowls such as pigeons (BAUMEL, 1988;

ABBATE et al., 2007), ducks (SCALA et al., 1989), guinea fowls (ONYEANUSI et al., 1993) and ostriches (HONORATO et al., 2009).

Since the arterial vascularization of the cloacal bursa is very important for the development of fowls' immunological function, this study was undertaken to describe the arterial vascularization of the cloacal bursa by identifying the origin, number and the distribution of arteries that contribute directly or indirectly towards the organ's blood supply. Information on the species's biology and comparative anatomy is thus provided.

## MATERIAL AND METHODS

Twenty young male and female rheas (15 females and 5 males, aged between 4 and 8 weeks old) were used in the assay. They had died of natural causes and were kept frozen at the Center for the Multiplication of Wild Animals (CEMAS) at the Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). The scientific breeding center is registered at IBAMA (Register n. 1478912) and the collection of the animals was authorized by (SISBIO) under protocol 47371-1 and by the Committee for Ethics in the Use of Animals (CEUA/UFERSA), under Register 23091.004968/2015-23.

The animals were thawed and an incision was made on the ventral region of the abdomen to expose the thoracic aorta which was cannulated in a caudal direction. The vascular system was washed in a saline solution 0.9% and latex Neoprene 650 (Du Pont do Brasil S.A.), stained with a specific red hue (Globo S.A. Tintas e Pigmentos), was introduced. After injection of the latex, the animals were fixed in water solution of formaldehyde 10% and after 72 hours dissections and analyses of the structures were performed. Sketches for each vascular arrangement were drawn and the most representative examples were photographed by digital camera Sony DSC-W570 16.1 MP.

The study was based on the nomenclature used by the *Handbook of Avian Anatomy: Nomenclature Anatomica Aviana* (BAUMEL et al., 1993) to name the identified structures. Results were compared to the literature on domestic and wild fowls. Results were given in descriptive anatomy and assessed by simple percentage calculations.

## RESULTS

The cloacal bursa is a hollow, rounded and pale-colored or slightly beige-colored organ, with highly internal sticky mucus. It lies dorsally about

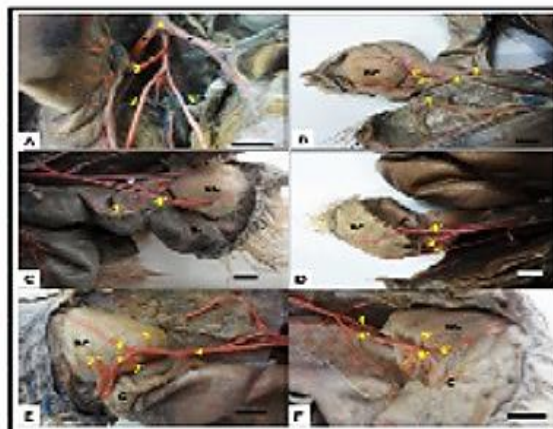
the cloaca with which it communicates through an orifice. The arterial irrigation of the organ originated from terminal branches of the abdominal aorta, such as the right and left internal iliac arteries and the caudal mesenteric artery (Figure 1A). The right and left internal iliac arteries gave rise to the right and left pudendal internal arteries which, in their turn, provided the cloacal-bursa arteries and the right (Figure 1E) and left (Figure 1F) cloacal arteries in all studied animals (Figure 2).

### Cloacal-bursa arteries

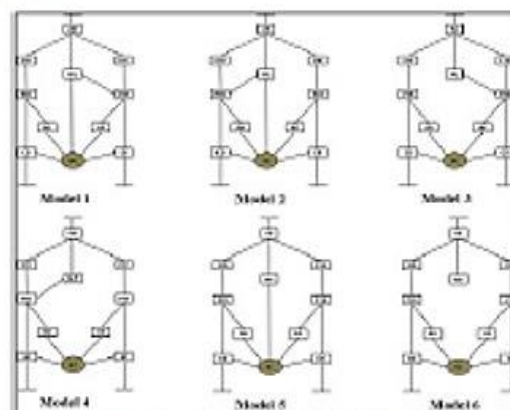
The left and right cloacal-bursa arteries derived respectively from the left and right internal pudenda arteries and directly contributed to the arterial blood provision of the cloacal bursa artery in all studied animals. The right cloacal-bursa artery in the right antimeres varied in number, with a single right cloacal-bursa artery (65%), and two (30%) or three (5%) arteries originating from the internal right pudendal artery. Similarly, one (75%), two (20%) or three (5%) cloacal-bursa left arteries, derived from a common origin, have been reported on the left antimeres.

Three distinct directions of the arterial pathways have been registered. In the first case, a cloacal-bursa artery in the two antimeres branches, dorsally and laterally positioned to the dorsal and caudal region of the cloacal bursa in all the specimens (Figures 1E and 1F) were found. In the second case, the right cloacal-bursa artery covered the cranial-dorsal surface of the cloacal bursa in five specimens (25%) at the right antimeres (Figure 1E) and in three (15%) at the left antimeres (Figure 1F). In the third case, it passed the cranial-ventral region of the cloacal bursa at the right antimeres in three specimens (15%) and at the left antimeres in two specimens (10%) (Figure 1F).

Variations were reported between two and nine branches emitted by the right cloacal-bursa arteries, with two branches in four specimens (20%), three branches in two specimens (10%), four branches in five specimens (25%), five branches in four specimens (20%), six branches in two specimens (10%), seven branches in two specimens (10%) and nine branches in one specimen (5%). The left cloacal-bursa arteries emitted between one and seven branches towards the left antimeres, or rather, one branch in one specimen (5%), two branches in four specimens (20%), three branches in two specimens (10%), four branches in seven specimens (35%), five branches in two specimens (10%), six in two specimens (10%) and seven branches in two specimens (10%) (Table 1).



**Figure 1.** Arterial vascularization of the cloacal bursa of the Rhea. 1A: note, from the ventral side, the terminal branches of the abdominal aorta (1), sciatic arteries (\*), caudal mesenteric artery (2) and right internal iliac artery (3) and left internal iliac artery (3'). 2B: Note, from the dorsal side of the cloacal bursa, (CB), the caudal mesenteric artery (2) with emission of rays (2' and 2''), and right (4) and left (4') internal pudenda arteries. 1C: note, from the left lateral side, the cloacal bursa (CB) placed dorsally to the cloaca (C), anastomosis of the caudal mesenteric artery (2) with a branch of the right internal pudenda artery (arrow head), and also the left internal pudenda artery (4'). 1D: note from the left lateral view, the caudal mesenteric artery anastomosed into the left internal pudenda artery (4') and the right internal pudenda artery (4). 1E: note from the right lateral view, the right internal pudenda artery (4) giving rise to the right cranial-dorsal cloacal bursa arteries (5), right dorsal-lateral cloacal bursa artery (6), right cloacal artery (7), the later emitting two branches (7' and 7'') towards the cloacal bursa (CB). 1F: note, from the left lateral view, the left internal pudenda artery (4'), emitting the left cranial-dorsal cloacal bursa artery (5'), left dorsal-lateral cloacal bursa artery (6'), left cranial-ventral cloacal bursa artery (7'), left cloacal artery (8'), and the right internal pudenda artery (4). Bar: 1 cm.



**Figure 2.** Vascularization models of the cloacal bursa identified in the Rhea from the caudal mesenteric artery. Abdominal aorta artery (AA), right internal iliac artery (IIE), left internal iliac artery (IIE'), right internal pudenda artery (PIE), left internal pudenda artery (PIE'), right cloacal bursa artery (BD), left cloacal bursa artery (BE), right cloacal artery (CD), left cloacal artery (CE) and caudal mesenteric artery (MC).

**Table 1.** Absolute (N) and relative (%) frequency of branches emitted by the cloacal-bursa and cloacal arteries from the right and left antimeres to supply the rhea's cloacal bursa.

| Branches | Cloacal-bursa artery |     |    |     | Cloacal artery |       |    |       |
|----------|----------------------|-----|----|-----|----------------|-------|----|-------|
|          | D                    |     | E  |     | D              |       | E  |       |
|          | N                    | %   | N  | %   | N              | %     | N  | %     |
| 1        | -                    | -   | 1  | 5   | 7              | 41.18 | 4  | 21.05 |
| 2        | 4                    | 20  | 4  | 20  | 5              | 29.41 | 9  | 47.38 |
| 3        | 2                    | 10  | 2  | 10  | 3              | 17.65 | 4  | 21.05 |
| 4        | 5                    | 25  | 7  | 35  | 2              | 11.76 | 1  | 5.26  |
| 5        | 4                    | 20  | 2  | 10  | -              | -     | 1  | 5.26  |
| 6        | 2                    | 10  | 2  | 10  | -              | -     | -  | -     |
| 7        | 2                    | 10  | 2  | 10  | -              | -     | -  | -     |
| 8        | -                    | -   | -  | -   | -              | -     | -  | -     |
| 9        | 1                    | 5   | -  | -   | -              | -     | -  | -     |
| Total    | 20                   | 100 | 20 | 100 | 17             | 100   | 19 | 100   |

**Cloacal arteries**

The right and left cloacal arteries originated from the right and left internal pudenda arteries respectively, and they branched to the ventral-lateral region of the cloacal bursa throughout their pathway towards the cloaca (Figures 1E and 1F). Further, the right cloacal artery supplied blood to the organ in the seventeen specimens studied (85%), whereas the left one did so in nineteen specimens (95%). It should be underscored that in animals with no participation of the right cloacal artery in the irrigation of the cloacal bursa, the organ was replaced by two right cloacal-bursa arteries, compensating the lack of the right cloacal artery.

The right cloacal artery, throughout the pathway towards the cloaca, gave rise to one branch in seven specimens (41.18%), two in five specimens (29.41%), three in three specimens (17.65%) or four branches in two specimens (11.76%), whereas the left cloacal artery gave rise to one branch in four specimens (21.05%), two in nine specimens (47.38%), three in four specimens (21.05%), four in one specimen (5.26%) and five in one specimen (5.26%) (Table 1).

**Caudal mesenteric artery**

The caudal mesenteric artery contributed directly or indirectly towards the arterial blood supply of the cloacal bursa in seventeen specimens studied (85%). It contributed directly when it provided small branches to the cloacal bursa when anastomosed or not with the right and left internal pudenda arteries and indirectly when anastomosed with the right and left internal pudenda arteries.

The caudal mesenteric artery anastomosed with the right internal pudenda artery in seven specimens (35%) (Figure 1C and Figure 2) and with the left internal pudenda artery in eight specimens (40%) (Figure 1D and Figure 2). When associated

with the right internal pudenda artery, the caudal mesenteric artery branched towards the cloacal bursa in three specimens (15%) and two in one specimen (5%); when associated to the left internal pudenda artery, it branched in one specimen (5%) and in two branches in two specimens (10%). On the other hand, the caudal mesenteric artery also gave rise to direct branches towards the cloacal bursa in two specimens (10%), with one branch (5%) or three branches (5%) (Figure 1B and Figure 2).

**DISCUSSION**

The cloacal bursa of the rhea is a distinct structure from the cloaca, with specific irrigation, as reported in ducks (SCALA et al., 1989), hens (SANTANA et al., 1999), pigeons (ABBATE et al., 2007) and ostriches (HONORATO et al., 2009).

The irrigation of the cloacal bursa in the rhea occurs from the terminal vessels of the abdomen aorta, especially from the branches of the right and left internal iliac arteries. These arteries gave rise to the right and left internal pudenda arteries from which originated the cloacal-bursa arteries and the right and left cloacal arteries in all studied animals, or rather, vessels which irrigate the cloacal bursa. Present results corroborate with the studies on the *Gallus gallus domesticus*, strains Peterson (SANTANA et al., 1999), NPK (SILVA et al., 2001), Label Rouge (SILVA et al., 2003), Lhoman White LSI (LIMA et al., 2008) and Master Gris Cou Plumé (ROSA et al., 2014).

Besides the internal iliac arteries, the caudal mesenteric artery, originating from the abdomen artery, also irrigated the cloacal bursa of the rhea, similar to reports on the different strains of *Gallus gallus domesticus* (SANTANA et al., 1999;

SANTANA et al., 2000; SANTANA et al., 2003) and the ostrich (HONORATO et al., 2009).

Scala et al. (1989) and Silva et al. (1997) respectively studied the vascularization of the cloacal bursa in ducks and Ross hens and reported the right and left internal pudenda arteries which irrigated the cloacal bursa and give rise to branches that discharged on the parenchyma of the cloacal bursa. On the other hand, Santana et al. (1999), Silva et al. (2001), Silva et al. (2003) and Rosa et al. (2014) studied different strains of hens, respectively Peterson, NPK, Label Rouge and Master Gris Cou Plumé, and described that, besides the right and left internal pudenda arteries, the cloacal-bursa arteries and right and left cloacal arteries also irrigated the cloacal bursa, as reported by the *Nomina Anatomica Aviarum* (BAUMEL et al., 1993), with a similar standard as registered in rheas.

The right internal pudenda artery in the rhea irrigated the cloacal bursa in all the specimens and emitted one to three right cloacal-bursa arteries, predominantly one cloacal-bursa artery. Results are similar to those described by Santana et al. (1999) in Peterson hens and by Silva et al. (2003) in Label Rouge hens. These authors verified the existence of one to two right cloacal-bursa arteries rising from the right internal pudenda artery, with one very common artery. Similarly, studies by Santana et al. (2000) in matrixes of the Avian Farms strain and by Silva et al. (2001) in chickens of the same strain registered one to four right cloacal-bursa arteries.

The left internal pudenda artery also provided blood to the cloacal bursa in all analyzed specimens, providing frequently one, two or three left cloacal-bursa arteries. The above is similar to reports by Santana et al. (1999) in Peterson hens and by Silva et al. (2003) in Label Rouge hens. The same authors reported one to two left cloacal-bursa arteries; a single artery was, however, commonest. It must be underscored that, in spite of the occurrence of only one cloacal-bursa artery in the right and left antimeres in the most of studied rhea, the blood supply of the cloacal bursa was not jeopardized since it dorsally and laterally crossed the cloacal bursa till it reached the caudal-dorsal region, branching throughout the pathway. In fact, the organ received the necessary amount of blood for its physiological functions.

Scala et al. (1989) reported that branches from the right and left internal pudenda arteries in ducks (*Anas platyrhynchos*) penetrate the lateral margins and the ventral surface of the cloacal bursa, similar to the rhea, where the participation of the right and left cloacal arteries, the branches of the internal pudendal arteries, were reported. Such

anatomical behavior may be related to the synoptic relationship of the vessel with the organ. The above is due to the fact that the cloacal arteries in all the specimens pass ventrally and laterally to the cloacal bursa till they reach the cloaca.

According to Santana et al. (1999), Silva et al. (2001), Santana et al. (2003) and Lima et al. (2008), the caudal quadrants of the cloacal bursas were abundantly supplied by vessels, which provided a greater blood amount than that reported for cranial quadrants. This fact has been observed in the rhea especially through the cloacal-bursa arteries. On the other hand, Santana et al. (2000) studied Avian Farms hen strains and observed that most of the arterial branches that supplied the cloacal bursa tended towards the cranial quadrants of the cloacal bursa and thus differed from that reported for the rhea.

Median caudal artery supplied the cloacal bursa in studies on different strains of *Gallus gallus domesticus*, such as Ross (SILVA et al., 1997), Peterson (SANTANA et al., 1999), Avian Farms (SANTANA et al., 2000), Hubbard (SANTANA et al., 2003), Hybro PG (GOMES et al., 2009) and Cobb Slow (SINOTTI et al., 2012). The above were different from reports on the rhea since its artery did not irrigate the cloacal bursa. Maybe the lack of such an artery in the blood supply of the cloacal bursa in the rhea is related to its synopy. In fact, its localization does not favor the emission of branches to the organ.

In current analysis the caudal mesenteric artery provided arterial blood to the cloacal bursa associated to the right and left internal pudenda arteries respectively in seven and eight specimens through anastomoses. These results were also given by Santana et al. (1999) in their study on Peterson hens and by Santana et al. (2003) on Hubbard strain matrixes. They reported anastomosis between the caudal mesenteric arteries and the right and left internal pudenda arteries with lesser frequency. On the other hand, Honorato et al. (2009) in their studies on the arteries of the cloacal bursa of ostriches reported the association of caudal mesenteric artery with the direct cloacal-bursa artery or with the left cloacal bursa, which was not reported in the rhea. Possibly the anastomoses produced alternative and collateral pathways or shortcuts that permitted a better maintenance of the blood circulation or they were a supply source when the most direct way was blocked and thus avoided the necrosis of the tissues of the cloacal bursa.

## CONCLUSIONS

The vessels that irrigate the cloacal bursa in the rhea are represented by cloacal-bursa arteries and by right and left cloacal arteries coming from the right and left internal pudenda arteries.

The caudal mesenteric artery participates in other arteries. Since the vessels that irrigate the cloacal bursa have branching and anastomosis

patterns in the rhea, several individual variations occur. They are specific to the species and differentiate commonly reported standards for other fowls.

Knowledge on the vascularization of the cloacal bursa may be employed in anatomical and pathological examinations, sanitary inspection and in the biology of the species.

**RESUMO:** A bolsa cloacal é o órgão das aves responsável pela maturação e transferência de linfócitos para outros tecidos. Apesar da importância deste órgão nos mecanismos imunológicos das aves, são escassas as informações a respeito de sua morfologia em espécies silvestres, fato que ensejou descrever a vascularização arterial do mesmo em emas. Foram utilizadas 20 emas jovens (machos e fêmeas) obtidas no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS/UFERSA), as quais vieram a óbito por causas naturais. Os animais foram dissecados e a aorta torácica canulada e perfundida com Látex Neoprene 650 corado com pigmento vermelho. Verificou-se que a irrigação da bolsa cloacal é originada a partir de ramos terminais da artéria aorta abdominal, tais como, as artérias ilíacas internas, direita e esquerda e a artéria mesentérica caudal. Das artérias ilíacas internas, direita e esquerda, originaram-se as artérias pudendas internas, direita e esquerda, que por sua vez deram origem às artérias bursocloacais e cloacais, direita e esquerda em todos os animais estudados. A artéria mesentérica caudal contribuiu com o aporte sanguíneo arterial da bolsa cloacal em quase todos os animais estudados, por meio de anastomoses com a artéria pudenda interna direita ou com a artéria pudenda interna esquerda, mas também emitiu ramos diretamente à bolsa cloacal. A bolsa cloacal de emas é irrigada pelas artérias bursocloacais e cloacais direita e esquerda e ainda, pela artéria mesentérica caudal, podendo apresentar pequenas variações quanto ao número e disposição de anastomoses e ramos emitidos, peculiares à espécie, o que as diferenciam do padrão comumente reportado para outras aves.

**PALAVRAS-CHAVE:** Artéria bursocloacal. Artéria cloacal. Artéria mesentérica caudal. Aves. Ratinos. Sistema imunológico.

## REFERENCES

- ALMEIDA, M. A. Influência dos sistemas artificial e natural de incubação e criação de emas (*Rhea americana*) nos índices produtivos de criadores do Estado de São Paulo. 2003. 75 f. Master's Dissertation in Animal Reproduction, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, 2003.
- ABBATE, F.; PFARRER, C.; JONES, C. J. P.; CIRIACO, E.; GERMANÀ, G.; LEISER, R. Age-dependent changes in the pigeon Bursa of Fabricius vasculature: a comparative study using light microscopy and scanning electron microscopy of vessel casts. *Journal of Anatomy*, Malden, v. 211, n. 3, p. 387-398, 2007. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7580.2007.00763.x>
- ACKERMANN, G. A. Electron microscopy of the bursa of Fabricius of the embryonic chick with particular reference of the lympho-epithelial nodules. *Journal of Cell Biology*, Columbus, v. 13, n. 1, p. 127-146, 1962. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.13.1.127>
- BAUMEI, J. J. Functional morphology of the tail apparatus of the pigeon (*Columba livia*). *Advanced in anatomy, embryology and cell biology*, Heidelberg, v. 110, n. 1, p. 115-117, 1988.
- BAUMEI, J. J.; KING, A. S.; BREAZILE, J. E.; EVANS, H. E.; BERGE, J. C. V. *Handbook of avian anatomy: Nomina Anatomica Avium*. 2 Ed. Cambridge: Nuttall Ornithological Club, 1993. 779 p.
- FORTES, E. A. M.; SOUSA, A. F.; ALMEIDA, E. C. S.; CONDE JUNIOR, A. M.; MOURA, W. L. Morfologia das células do sangue periférico em emas (*Rhea americana*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 215-221, 2009.

- FRAZIER, J. A. The ultrastructure of the lymphoid follicles of the chick bursa of Fabricius. *Acta Anatomica*, Atlanta, v. 88, n. 3, p. 385-397, 1974. <http://dx.doi.org/10.1159/000144247>
- GOMES, A. R. A.; SILVA, F. O. C.; MIRANDA, R. L.; RESENDE, G. G. N. Artérias da bolsa cloacal de galinhas (*Gallus gallus*) da linhagem Hybro PG. *Biotemas*, Florianópolis, v. 22, n. 4, p. 153-157, 2009.
- HONORATO, A. G. O.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; ORTEGA, J. F.; PEREIRA, C. C. H. Artérias da bolsa cloacal de aves (Struthio camelus). *Veterinária Notícias*, Uberlândia, v. 15, n. 2, p. 27-32, 2009.
- LIMA, E. M. M.; SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; DRUMMOND, S. S.; ARAÚJO, C. L.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S. Suprimento arterial para a bolsa cloacal em aves (*Gallus gallus Linnaeus*, 1758) da linhagem Lhoman White LSL. *Biotemas*, Florianópolis, v. 21, n. 1, p. 95-100, 2008. <http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2008v21n1p95>
- ONYEANUSI, B.; EZEOKOLI, C. D.; ONYEANUSI, J. C.; EMA, A. N. The anatomy of the cloacal bursa (Bursa of Fabricius) in the helmeted guinea fowl (*Nanida meleagris galeata*). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, Malden, v. 22, n. 3, p. 212-221, 1993.
- PARIZZI, R. C.; MIGLINO, M. A.; MAIA, M. O.; SOLZA, J. A.; SANTOS, J. M.; OLIVEIRA, M. F.; SANTOS, T. C. Morfologia do ovário da ema (*Rhea americana*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 27, n. 3, p. 89-94, 2007.
- PEREIRA, A. V.; ROMANELLI, P. F.; SCRIBONI, A. B.; ORLANDINI, F. P. Rendimentos do abate e composição da carne de ema (*Rhea americana*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 3, p. 632-638, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000300023>
- PINTEA, V.; CONSTANTINESCU, G. U.; RADU, C. Vascular and nervous supply of the bursa of Fabricius in the hen. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, Hungria, v. 17, n. 3, p. 263-268, 1967.
- RODRIGUES, M. N.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, R. S. B.; TIVANE, C.; ALBUQUERQUE, J. F. G.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. Macroscopia e topografia do aparelho digestório de emas (*Rhea americana americana*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 7, p. 681-686, 2012a.
- RODRIGUES, M. N.; TIVANE, C. N.; CARVALHO, R. C.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, R. S. B.; AMBROSIO, C. E.; OLIVEIRA, M. F.; MIGLINO, M. A. Gross morphology of rhea oropharyngeal cavity. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 1, p. 53-59, 2012b.
- ROSA, M. C. B.; GUIMARÃES, G. C.; NARCISO, T. P.; BASTOS, P. M.; NASCIMENTO, L. G.; SANTANA, M. I. S.; LIMA, E. M. M. Vascularização da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (Linhagem Master Gris Cou Plumé). *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 484-490, 2014.
- SANTANA, M. I. S.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; BOMBONATO, P. P.; MARÇAL, A. V. Irrigação da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (matrizes de corte Hubbard). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 199-204, 2003.
- SANTANA, M. I. S.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P. Irrigação da bolsa cloacal, em aves reprodutoras, da linhagem Peterson (*Gallus gallus domesticus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 59-65, 1999.
- SANTANA, M. I. S.; CARNEIRO E SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P. Vascularização arterial da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (Matrizes de corte Avian Farms). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 115-120, 2000.

SANTOS, T. C.; SOUSA, J. A.; OLIVEIRA, M. F.; SANTOS, J. M.; PARIZZI, R. C.; MIGLINO, M. A. Morfologia dos órgãos genitais masculinos e da cloaca da ema (*Rhea americana americana*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 31, n. 5, p. 430-440, 2011.

SCALA, G.; CAPUTO, G.; PAINO, G.; PELAGALLI, G. V. The vascularization of the bursa cloacalis (of Fabricius) in the duck. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, Malden, v. 18, n. 1, p. 66-75, 1989.

SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S.; LIMA, E. M. M. Irrigação da bolsa cloacal em aves (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) da linhagem NPK. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, Umuarama, v. 5, n. 1, p. 17-24, 2001.

SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; DRUMMOND, S. S.; MACHADO, G. V.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S.; LIMA, E. M. M. Suprimento arterial para a bolsa cloacal de galinhas (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) da linhagem Label Rouge. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 13-18, 2003.

SILVA, F. O. C.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; BOMBONATO, P. P.; SANTANA, M. I. S.; GONÇALVES, P. O.; MARÇAL, A. V. Vascularização arterial da bolsa cloacal em *Gallus gallus domesticus* (Linhagem Ross). *Revista da FZVA*, Porto Alegre, v. 4, n. 1, p. 81-92, 1997.

SINOTTI, J. F.; MARTINS, A. B.; BIRCK, A. J.; FILADELPHO, A. L. Vascularização arterial da bolsa cloacal em (*Gallus gallus domesticus*) da linhagem Coob Slow. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, Garça, v. 19, n. 2, p. 1-10, 2012.

ZAMOJSKA, D. Anatomical studies on the vascularization of the bursa of Fabricius and Uropigial gland in the hens (*Gallus domesticus*). Part II. Blood vessels of the bursa of Fabricius (Bursa of Fabricii). *Zoologica Polonica*, Wrocław, v. 24, n. 1, p. 455-476, 1975.

## ANEXO B – ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA (QUALIS A2)

**Email do Outlook**

Pesquisar Email e Pessoas

Novo | Responder | Excluir | Arquivar | Lixo eletrônico | Limpar

**Pastas**

| Pasta           | Conteúdo |
|-----------------|----------|
| Caixa de Entrar | 7377     |
| Lixo Eletrônico | 40       |
| Rascunhos       | 57       |
| Itens Enviados  |          |
| Itens Excluídos | 46       |
| Arquivo Morto   |          |

**Pesquisa Veterinária Brasileira - Manuscript ID PVB-5247**

**Pesquisa Veterinária Brasileira** <onbehalfof+emilson.queiroz+embrapa.br@manuscriptcentral.com>

qui 26/01/2017 18:48

Para: radan\_elvis@hotmail.com

Cc: radan\_elvis@hotmail.com; felipe.camara@unp.br; francedelys@yahoo.com.br; herson-costa@hotmail.com; ferdinando\_vinicios@hotmail.com; carlos.moura@ufersa.edu.br; moacir@ufersa.edu.br

26-Jan-2017

Dear Mr. Oliveira:

Your manuscript entitled "MORFOLOGIA DA BOLSA CLOACAL DE EMAS, Rhea americana americana LINNAEUS, 1758" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Pesquisa Veterinária Brasileira.

Your manuscript ID is PVB-5247.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Pesquisa Veterinária Brasileira.

Sincerely,  
Pesquisa Veterinária Brasileira Editorial Office

## ANEXO C – AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA (ICMBio)



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                          |                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Número:</b> 48847-1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Data da Emissão:</b> 04/05/2015 09:03 | <b>Data para Revalidação*:</b> 02/06/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. |                                          |                                           |

#### Dados do titular

|                                                                                      |                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Nome: Radan Elvis Matias de Oliveira                                                 | CPF: 076.974.554-71      |
| Título do Projeto: A BOLSA CLOACAL DE EMAS (Rhea americana americana LINNAEUS, 1758) |                          |
| Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO                        | CNPJ: 24.529.265/0001-40 |

#### Cronograma de atividades

| # | Descrição da atividade                                              | Início (mês/ano) | Fim (mês/ano) |
|---|---------------------------------------------------------------------|------------------|---------------|
| 1 | Revisão de literatura                                               | 06/2015          | 11/2015       |
| 2 | Coleta de material para macroscópica e microscopia de luz           | 09/2015          | 12/2015       |
| 3 | Processamento do material microscopia de luz                        | 12/2015          | 02/2016       |
| 4 | Análise e documentação do material processado (microscopia de luz)  | 02/2016          | 05/2016       |
| 5 | Processamento do material microscopia de varredura e de transmissão | 05/2016          | 06/2016       |
| 6 | Análise do material processado (luz, varredura e transmissão)       | 06/2016          | 08/2016       |
| 7 | Redação e submissão de artigos científicos                          | 08/2016          | 11/2016       |
| 8 | Redação da dissertação de mestrado                                  | 08/2016          | 03/2017       |
| 9 | Defesa da dissertação                                               | 03/2017          | 03/2017       |

#### Observações e ressalvas

|   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.                                                                      |
| 2 | Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso. |
| 3 | Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.                                                                                                                                                                     |
| 4 | A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 5 | O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.                                                                                                                                                                |
| 6 | O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.                                                                                                                        |
| 7 | Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/gen">www.mma.gov.br/gen</a> .                                                                                                               |
| 8 | Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

#### Equipe

| # | Nome                           | Função      | CPF            | Doc. Identidade | Nacionalidade |
|---|--------------------------------|-------------|----------------|-----------------|---------------|
| 1 | GLEIDSON BENEVIDES DE OLIVEIRA | Colaborador | 013.586.734-70 | 2329578 SSP-RN  | Brasileira    |
| 2 | Felipe Venceslau Câmara        | Colaborador | 068.566.584-43 | 2149423 SSP-RN  | Brasileira    |

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

| # | Município | UF | Descrição do local                            | Tipo               |
|---|-----------|----|-----------------------------------------------|--------------------|
| 1 | MOSSORÓ   | RN | Centro de Multiplicação de Animais Silvestres | Fora de UC Federal |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 42753324**



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                          |                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Número:</b> 48847-1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Data da Emissão:</b> 04/05/2015 09:03 | <b>Data para Revalidação*:</b> 02/06/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. |                                          |                                           |

#### Dados do titular

|                                                                                      |                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Nome: Radan Elvis Matias de Oliveira                                                 | CPF: 076.974.554-71      |
| Título do Projeto: A BOLSA CLOACAL DE EMAS (Rhea americana americana LINNAEUS, 1758) |                          |
| Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO                       | CNPJ: 24.529.265/0001-40 |

#### Atividades X Táxons

| # | Atividade                                        | Táxons         |
|---|--------------------------------------------------|----------------|
| 1 | Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ | Rhea americana |

#### Material e métodos

|   |                                 |                                                                                 |
|---|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Amostras biológicas (Aves)      | Animal encontrado morto ou partes (carcaca)osso,pele, Fragmento de tecido,órgão |
| 2 | Método de captura/coleta (Aves) | Outros métodos de captura/coleta(Manual)                                        |
| 3 | Método de marcação (Aves)       | Colar                                                                           |

#### Destino do material biológico coletado

| # | Nome local destino                       | Tipo Destino         |
|---|------------------------------------------|----------------------|
| 1 | UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO | criadouro científico |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 42753324**



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                          |                                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <b>Número:</b> 48847-1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Data da Emissão:</b> 04/05/2015 09:03 | <b>Data para Revalidação*:</b> 02/06/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. |                                          |                                           |

#### Dados do titular

|                                                                                      |                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Nome: Radan Elvis Matias de Oliveira                                                 | CPF: 076.974.554-71      |
| Título do Projeto: A BOLSA CLOACAL DE EMAS (Rhea americana americana LINNAEUS, 1758) |                          |
| Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO                        | CNPJ: 24.529.265/0001-40 |

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

| Taxon <sup>2</sup> | Qtde. | Tipo de amostra | Qtde. | Data |
|--------------------|-------|-----------------|-------|------|
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |
|                    |       |                 |       |      |

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 42753324**



Página 3/3

## ANEXO D – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS -CEUA



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

*Mossoró, 30 de outubro de 2015.*

**CERTIFICADO**

*Certificamos que o projeto intitulado "Morfologia da bolsa cloacal de emas", protocolo n. 23091.006434/2015-31 sob a responsabilidade de Moacir Franco de Oliveira – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da lei 11794 de 8 de outubro de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido –UFERSA em reunião de 15/10/2015*

|                            |                                                                  |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------|
| <i>Vigência do projeto</i> | <i>Setembro de 2015 a março de 2017</i>                          |
| <i>Espécie/Inlagem</i>     | <i>Rhea americana</i>                                            |
| <i>N. de Animais</i>       | <i>32 (sendo 12 vivos e 20 que vieram a óbito)</i>               |
| <i>Peso/idade</i>          | <i>jovens</i>                                                    |
| <i>Sexo</i>                | <i>6 macho e 6 fêmeas</i><br><i>5 machos e 15 fêmeas (óbito)</i> |
| <i>Origem</i>              | <i>CEMAS</i>                                                     |

**Marcelo Barbosa Bezerra**  
**Presidente CEUA-UFERSA**

## ANEXO E – TESTE DE PROFICIÊNCIA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
SECRETARIA DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Francisco Mota, 572 – C. Postal 137 – Bairro Pres. Costa e Silva – Mossoró – RN – CEP: 59.625-900 – Tel.: (84)3317-1813 – E-mail: sec@ufersa.edu.br

|                               |                                   |        |    |     |     |     |                 |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------|----|-----|-----|-----|-----------------|
|                               | 29. Pedro Augusto Cordeiro Borges | 8,5    | 10 | 5,2 | 8   | 7,9 | Classificado    |
| José Domingues Fontenele-Neto | 30. Acácia Maria Pinto            | 5,5    | 7  | 6,5 | 7,5 | 6,6 | Suplente        |
|                               | 31. Stéferson Lucas Mendes Lima   | 7      | 8  | 10  | 8,5 | 8,4 | Classificado    |
| Moacir Franco de Oliveira     | Grazielly Dantas da Costa         | 5      | 6  | 4,3 | 7   | 5,6 | Suplente        |
|                               | José Roberto de Moura Rolim Filho | 6,5    | 9  | 2,1 | 6,2 | 6,0 | Classificado    |
|                               | Radan Elvis Matias de Oliveira    | 8      | 8  | 10  | 8,7 | 8,7 | Classificado    |
| Patrícia de Oliveira Lima     | Eduardo Duarte de Almeida         | Faltou | -  | -   | -   | -   | Desclassificado |
|                               | Ísis Thamara do Nascimento Souza  | 6      | 9  | 9,4 | 7,5 | 8,0 | Classificada    |
|                               | João Artur de Lima Neto           | 4,5    | -  | -   | -   | -   | Desclassificado |
|                               | Maria Izabel Batista Pereira      | 5      | 8  | 10  | 6   | 7,3 | Suplente        |
|                               | Salenilda Soares Firmino          | 5,5    | 8  | 8,6 | 8,2 | 7,6 | Classificada    |
| Raimundo Alves Barreto Júnior | Jucélio da Silva Gameleira        | 7      | 7  | 10  | 7,5 | 7,9 | Classificada    |
| Sidnei M. Sakamoto            | Rebeca Jéssica Falcão Câmara      | 9,5    | 9  | 10  | 8   | 9,1 | Classificado    |
| Sílvia Maria Mendes Ahid      | Bruna Laura de França Fernandes   | 7      | 10 | 10  | 5,5 | 8,1 | Classificado    |
| Valéria Veras de Paula        | Luã Barbalho de Macedo            | 7      | 8  | 10  | 7,5 | 8,1 | Classificado    |

Mossoró, 19 de dezembro de 2014

Prof. Rui Sales Júnior  
Pró-reitor de Pesquisa e Pós-Graduação

Jean Berg Alves da Silva  
Coordenador do PPGCA