



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA**

**Erivaldo Alves Antonio**

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA RETINA E  
ACUIDADE VISUAL DE TRÊS ESPÉCIES DE  
MORCEGOS DO GÊNERO *Artibeus*  
(CHIROPTERA: PHYLLOSTOMIDAE)**

**Recife**

**2017**

**Erivaldo Alves Antonio**

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA RETINA E  
ACUIDADE VISUAL DE TRÊS ESPÉCIES DE  
MORCEGOS DO GÊNERO *Artibeus*  
(CHIROPTERA: PHYLLOSTOMIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Área de Concentração: Morfotecnologia.

Orientador: **Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira**

Coorientadora: **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Katharine Raquel Pereira dos Santos**

**Recife**

**2017**

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Antonio, Erivaldo Alves**

**Análise histomorfométrica da retina e acuidade visual de três espécies de morcegos do gênero *Artibeus* (CHIROPTERA: Phyllostomidae) / Erivaldo Alves Antonio - Recife: O Autor, 2017.**

**88 folhas: il., fig., tab.**

**Orientador: Jeymesson Raphael Cardoso Vieira**

**Coorientadora: Katharine Raquel Pereira dos Santos**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.**

**Centro de Biociências. Morfotecnologia, 2017.**

**Inclui referências e anexos**

- 1. Morcegos 2. Retina 3. Acuidade visual I. Vieira, Jeymesson Raphael Cardoso (orientador) II. Santos, Katharine Raquel Pereira dos (coorientadora) III. Título**

**599.4**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CB-2017-250**

ERIVALDO ALVES ANTONIO

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA RETINA E ACUIDADE VISUAL DE TRÊS  
ESPÉCIES DE MORCEGOS DO GÊNERO *Artibeus* (CHIROPTERA:  
PHYLLOSTOMIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Aprovada em: 03/03/2017.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Pinto de Medeiros (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Moutinho Lagos de Melo (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco



## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

### **REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

### **VICE-REITOR**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

### **PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

## **CENTRO DE BIOCÊNCIAS**

### **DIRETOR**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Eduarda Larrazábal

### **VICE-DIRETOR**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Oliane Maria Correia Magalhães

**Recife**

**2017**



**pósMorfotec**  
Programa de Pós-Graduação  
em Morfotecologia

## **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA**

### **COORDENADOR**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sônia Pereira Leite

### **VICE-COORDENADOR**

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

### **CORPO DOCENTE**

Prof. Dr. Antonio Carlos de Freitas

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Pinto de Medeiros

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Sampaio de Andrade  
Lima

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Kenia Valenca Correia

Prof. Dr. Claudio Gabriel Rodrigues

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luciana Maria Silva de  
Seixas Maia

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliete Cavalcante da Silva

Prof. Dr. Luiz Lucio Soares da Silva

Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paloma Lys de Medeiros

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ivone Antônia de Souza

Prof. Dr. Ricardo Yara

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosa Valeria da Silva  
Amorim

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso  
Vieira

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sônia Pereira Leite

**Recife**

**2017**

Aos meus pais e ao meu irmão, por sempre estarem ao meu lado apoiando-me nas minhas decisões. Sem vocês nada disso seria possível.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que é a fonte inesgotável da fé para minha existência. O qual em momentos difíceis e de fraqueza eu tenho buscado nele a sabedoria, fé e força para continuar trilhando a vida em todos os aspectos.

Aos meus pais, Edivaldo Sebastião e Marinalva Alves que sempre me apoiaram e são os meus pilares de vida. Devo tudo a vocês pelo fato de sempre estarem presente e terem feito tudo por mim, vocês são essenciais e a base para minha formação como pessoa.

A meu irmão, Erinaldo Alves que sempre me ajudou em diversas formas, me apoiando e estimulando a não desistir dos meus objetivos de vida. A todos meus familiares, que me estimularam a conquistar meus sonhos e objetivos, em especial a minha querida avó paterna Maria Alaide (*in memoriam*) que sempre se orgulhou de mim e acreditou no meu potencial e que faz muita falta para mim.

Ao meu orientador Jeymesson Vieira, pela oportunidade, confiança e apoio durante a realização desse trabalho e durante todo o mestrado. Além de ser uma grande referência para mim, o considero como um verdadeiro amigo.

A minha querida coorientadora Katharine Santos, que é uma das minhas maiores referências como profissional e pessoa nesse mundo acadêmico a qual me acolheu como um diamante bruto a ser polido para a pesquisa desde a graduação. Além disso, ela é uma verdadeira amiga e sempre esteve presente e disposta a ajudar quando precisei. A sua orientação foi essencial para a minha formação.

Ao professor Francisco Amanajás, pela orientação na realização da morfometria e pela ajuda na estatística do presente trabalho. Além disso, admiro a sua extrema competência e inteligência do qual o tenho como uma grande referência.

Aos meus queridos amigos da primeira turma do mestrado em Morfotecnologia, que me proporcionaram momentos especiais que jamais serão esquecidos e fizeram desse mestrado uma etapa mais leve e descontraída. Em especial a quatro pessoas: Jéssica Andrade, Maria Eduarda, Gibbely Cavalcante e Emerson Xavier que junto comigo formamos “Os Chegados”, que de primeiro instante a afinidade foi tão natural e especial que logo se formou uma amizade verdadeira e tenho certeza que durará para sempre, independente dos diferentes caminhos que cada um tomar. Muito obrigado pela amizade de vocês.

Aos amigos e companheiros de pesquisa do Laboratório de Biotecnologia e Fármacos da UFPE/CAV: Nivaldo Bernardo, Ketsia Sabrina, Juliana Arandas, Fabricya Roberta e Eveline Alves que sempre me apoiaram e me proporcionaram momentos especiais tanto em laboratório quanto em campo, além da amizade e todos os momentos felizes compartilhados fora do mundo acadêmico. Sou muito grato em ter vocês como amigos/irmãos.

Aos meus amigos de coleta e laboratório: Diego Vinícius, Francileni Gomes, Camila Ingrid, Ruthellen Kássia, Camila Priscila e Dhara Beltrão. Obrigado pela ajuda e descontração durante as coletas.

Aos meus amigos/irmãos Ítalo Bruno, Rafael Danyllo e Paloma da Silva por sempre estarem me apoiando a prosseguir em busca dos meus sonhos.

A todos que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia – PPGM, em especial aos professores pelos conhecimentos compartilhados e construídos ao longo de todo o mestrado.

A Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro Acadêmico de Vitória – CAV, lugar do qual me orgulho muito em fazer parte desde a graduação e por possibilitar a realização dessa pesquisa.

A toda equipe administrativa e gestora, bem como aos seguranças da Reserva Biológica de Saltinho – Pernambuco, pela permissão das coletas dos morcegos em suas propriedades.

Aos amigos e colegas da turma 2009.2 – 2013.1 de Ciências Biológicas/Licenciatura UFPE/CAV.

Aos morcegos que ao longo de todo o tempo de pesquisa, constituíram meu objeto de estudo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFPE (PROPESQ/UFPE) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos, que de alguma forma colaboraram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

Muito obrigado!

## RESUMO

Os morcegos do gênero *Artibeus* Leach, 1821 (Phyllostomidae, Stenodermatinae) consistem de 10 espécies predominantemente frugívoras. Os olhos desses animais possuem uma retina delgada e são adaptados para operar em baixos níveis de luz, o que resulta em uma pobre acuidade visual. Assim, este estudo realizou uma análise histomorfométrica da retina e determinou os valores de acuidade visual de três espécies de morcegos do gênero *Artibeus*, incluindo *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus*. Para isso, os morcegos foram eutanasiados e os olhos foram enucleados, as retinas foram hemidissecadas, fixadas e cortadas em série com 4 µm de espessura, coradas por Hematoxilina e Eosina e analisadas através de microscopia de luz. A acuidade visual foi determinada pela análise da densidade de células ganglionares a partir do mapa topográfico de distribuição dessas células na retina. Adicionalmente, foi realizada mensurações das espessuras das camadas da retina e os resultados foram submetidos à análise estatística através do teste *t* de *Student*. Para todas as três espécies estudadas foram identificadas as 10 camadas da retina descritas para mamíferos com algumas diferenças significativas entre as espessuras dessa estrutura. Além disso, as retinas dessas três espécies são avasculares e não apresentaram *tapetum lucidum* em nenhum quadrante da retina. Adicionalmente, verificou-se que a espessura da retina na região central foi significativamente maior ( $p < 0,001$ ) em todos os parâmetros mensurados, com exceção da camada plexiforme externa (OPL) que foi significativamente maior na região periférica ( $p < 0,001$ ). As retinas das três espécies exibiram uma especialização retiniana em forma de faixa visual horizontal apresentando a maior concentração de células ganglionares na região inferotemporal. Adicionalmente, a espécie *A. lituratus* apresentou um padrão exclusivo com uma faixa visual extra e uma área circular de alta densidade celular no quadrante superonasal. Assim, a espécie *A. lituratus* exibiu a maior acuidade visual (1,9 ciclos/grau) em comparação com as outras duas, enquanto *A. obscurus* exibiu a menor acuidade visual (1,5 ciclos/grau) e *A. planirostris* mostrou um valor intermediário entre essas duas espécies (1,7 ciclos/grau). Todas as características da retina destes morcegos estão relacionadas com os hábitos alimentares, padrões de ecolocalização e tamanho corpóreo de cada espécie. Portanto, pode-se concluir que os morcegos do gênero *Artibeus* têm uma elevada acuidade visual em comparação com outros morcegos ecolocalizadores. Adicionalmente, a espécie *A. lituratus* exibe uma acuidade visual mais desenvolvida e refinada entre as três espécies do gênero *Artibeus* estudadas.

**Palavras-chave:** Quirópteros. Frugívoros. Globo ocular. Túnica nervosa. Capacidade visual.

## ABSTRACT

Bats of the Genus *Artibeus* Leach, 1821 (Phyllostomidae, Stenodermatinae) consists of 10 species predominantly frugivorous. The eyes of these animals have a thin retina and they are adapted to operate in low light levels, which results in a poor visual acuity. Thus, this study performed a histomorphometric analysis of the retina and determined the visual acuity values of three bat species of the Genus *Artibeus*, including *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* and *Artibeus obscurus*. For this, the bats were euthanized and the eyes were enucleated, the retinas were hemidisected, fixed and cut in series with 4  $\mu\text{m}$  thickness, stained with Hematoxylin and Eosin and it was analyzed by light microscopy. Visual acuity was determined by the density of retinal ganglion cells from the topographic map of the distribution of these cells on the retina. In addition, measurements of the retinal layers thickness were performed and the results were submitted to statistical analysis using the Student's t-test. For all three species studied the 10 retinal layers described for mammals were identified with some significant differences between the thicknesses of this structure. Furthermore, the retinas of these three species are avascular and did not present *tapetum lucidum* in any retinal quadrant. Moreover, it was observed that the thickness of the retina in the central region was significantly higher ( $p < 0.001$ ) in all measured parameters, except for the outer plexiform layer (OPL) which was significantly higher in the peripheral region ( $p < 0.001$ ). The retinas of the three species exhibited a retinal specialization as a horizontal visual streak with a higher concentration of retinal ganglion cells in the inferotemporal region. In addition, the species *A. lituratus* exhibited an exclusive pattern with an extra visual streak and a circular area of high cellular density at the superonasal quadrant. Thus, *A. lituratus* showed the highest visual acuity (1.9 cycles/degree) compared to the other two, while *A. obscurus* exhibited the lowest visual acuity (1.5 cycles/degree) and *A. planirostris* showed an intermediate value between these two species (1.7 cycles/degree). All these characteristics of the retina are related to the eating habits, echolocation patterns and body size of each bat species. Therefore, it can be concluded that bats of the Genus *Artibeus* have a high visual acuity compared to other echolocating bats. In addition, *A. lituratus* exhibits a more developed and refined visual acuity among the three species studied.

**Key-words:** Chiropter. Frugivorous. Eyeball. Nervous tunic. Visual capability.

# LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Classificação filogenética da ordem Chiroptera. (a) Nova classificação filogenética: Subordem Yinpterochiroptera e subordem Yangochiroptera (b) Classificação filogenética tradicional: Subordem Megachiroptera e subordem Microchiroptera. ....21

**Figura 2.** Árvore consenso de máxima parcimônia para as relações filogenéticas atuais do gênero *Artibeus* baseada no haplótipo do citocromo b (cyt b). Quadro em destaque verde: 9 espécies do gênero dos grandes e verdadeiros *Artibeus*. Quadro em destaque azul: única espécie do subgênero *Koopmania*, ainda considerada como táxon válido. Quadro em destaque vermelho: Proximidade filogenética entre as espécies *A. planirostris*, *A. obscurus* e *A. lituratus*. ....26

**Figura 3.** Morcego da espécie *Artibeus lituratus*. Fonte: <http://morcegosdobrasil.blogspot.com.br/2011/06/artibeus-lituratus.html>.....27

**Figura 4.** Morcego da espécie *Artibeus planirostris*. Fonte: [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/593762?lg=en](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/593762?lg=en).....28

**Figura 5.** Morcego da espécie *Artibeus obscurus*. Fonte: <http://morcegosdobrasil.blogspot.com.br/2011/06/artibeus-obscurus.html>.....29

**Figura 6.** Representação esquemática da anatomia do globo ocular de humanos. Fonte: <http://retinabrasil.org.br/site/o-olho-humano>.....30

**Figura 7.** Desenho esquemático das camadas de neurônios da retina. As setas representam a incidência e a direção da luz até alcançar os fotorreceptores .....35

**Figura 8.** Desenho esquemático da ultraestrutura dos cones e bastonetes. ....37

**Figura 9.** A frequência espacial é a medida do número de ciclos formados por grau de ângulo visual. Cada ciclo é formado por uma barra preta e uma branca e a unidade de medida resultante é de (ciclos/grau). Fonte: <http://webvision.med.utah.edu> .....45

**Figura 10.** Mapa da Reserva Biológica (REBIO) de Saltinho (08° 44'13" e 08°43'09" - Latitude Sul, 35°10'11" e 35°11'02" - Longitude Oeste) – Pernambuco, Brasil. Fonte: Google Maps: <https://www.google.com.br/maps>.....48

**Figura 11.** Olho esquerdo de *A. lituratus*. CA = Comprimento Axial do olho. Barra de escala = 1 mm. .49

**Figura 12.** Olho direito hemidissecado de *A. obscurus*. R = Retina; Barra de escala = 1 mm. ....49

**Figura 13.** Olhos hemidissecadas para determinação da área retiniana. *A. lituratus* (A), *A. planirostris* (B) e *A. obscurus* (C). Círculo branco = Cabeça do nervo óptico; Barra de escala = 1 mm. ....50

**Figura 14.** Grade milimétrica da retina das três espécies de morcegos com área de 100  $\mu\text{m}^2$  feita pelo programa imageJ. *A. lituratus* (A), *A. planirostris* (B) e *A. obscurus* (C). V = Quadrante ventral; N = Quadrante nasal; Ponto preto = Cabeça do nervo óptico; Barra de escala = 1 mm. ....52

**Figura 15.** Mapa topográfico da retina representando a distribuição de células ganglionares na camada de células ganglionares da retina de *A. lituratus* (A), *A. planirostris* (B) e *A. obscurus* (C) (retinas dos olhos

direitos). As células ganglionares apresentaram uma densidade máxima de aproximadamente 11300/mm<sup>2</sup>, 10800/mm<sup>2</sup> e 10700/mm<sup>2</sup> para as espécies *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*, respectivamente. Para as três espécies, a área de maior densidade celular foi verificada na região central da retina inferiormente a cabeça do nervo óptico e a maior concentração de CGR está localizada na região inferotemporal da retina (área marrom). As retinas de todas as três espécies exibiram uma faixa visual. Além disso, a retina da espécie *A. lituratus* apresenta uma faixa visual extra acima do nervo óptico e uma área circular com uma grande densidade de CGR presente no quadrante nasal. V = ventral; N = nasal; Ponto branco = Cabeça do nervo óptico; Barra de escala = 1 mm. ....55

**Figura 16.** Fotomicrografias da região central da retina de *A. obscurus* (A) da região intermediária entre a retina central e periférica de *A. lituratus* (B) e da região periférica de *A. planirostris* (C). Ch: Coroide; V: Vênula; Ar: Arteríola; RD: Deslocamento da retina. RPE: Epitélio pigmentar da retina; PS: Segmentos externos e internos dos fotorreceptores; ELM: Membrana limitante externa; ONL: Camada nuclear externa; OPL: Camada plexiforme externa; INL: Camada nuclear interna; IPL: Camada plexiforme interna; GCL: Camada de células ganglionares; NFL: Camada de fibras nervosas; ILM: Membrana limitante interna; Cabeças de seta: Observar uma alta densidade (A), uma densidade moderada (B) e uma baixa densidade (C) de Células Ganglionares. Coloração: H.E. Barra de escala: 100 µm. ....60

# LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Base de dados para a acuidade visual de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*. .....56

**Tabela 2.** Espessuras das camadas centrais e periféricas das retinas de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*. .....59

# LISTA DE SÍMBOLOS

%	Por cento
'	Apóstrofo representando minutos
”	Aspas representando segundos
<	Menor que
=	Sinal de igual
±	Mais ou menos
°	Grau
cm	Centímetro
g	Gramma
kg	Kilograma
m	Metro
mg	Miligrama
mm	Milímetro
mm <sup>2</sup>	Milímetro quadrado
nm	Nanômetro
µm	Micrômetro
µm <sup>2</sup>	Micrômetro quadrado
π	letra grega Pi

# LISTA DE ABREVIATURAS

A	Arteriola
ANOVA	Análise de Variância
C	Coroide
CA	Comprimento Axial
CAV	Centro Acadêmico de Vitória
CEUA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CGR	Célula Ganglionar da Retina
D	Maior densidade de células ganglionares da retina
DE	Diâmetro do epitélio
DP	Desvio Padrão
Fn	Frequência Espacial
GCL	Camada de Células Ganglionares
H	Horas
H.E.	Hematoxilina – Eosina
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
INL	Camada Nuclear Interna
IPL	Camada Plexiforme Interna
Min	Minutos
NBF	Formalina a 10% neutra tamponada
NFL	Camada de Fibras Nervosas
ONL	Camada Nuclear Externa
OPL	Camada Plexiforme Externa
PND	Distância Nodal Posterior
PS	Segmentos Externos e Internos dos Fotorreceptores
REBIO	Reserva Biológica
RMF	Fator de Ampliação da Retina
RPE	Epitélio pigmentar da Retina
SISBIO	Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade
SPSS	<i>Statistical Package of the Social Sciences</i>
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
V	Vênula

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	20
<b>2.1 Ordem Chiroptera</b> .....	20
<b>2.2 Ecolocalização</b> .....	22
<b>2.3 Família phyllostomidae, subfamília stenodermatinae e o gênero <i>Artibeus</i></b> .....	23
<b>2.4 <i>Artibeus lituratus</i></b> .....	26
<b>2.5 <i>Artibeus planirostris</i></b> .....	27
<b>2.6 <i>Artibeus obscurus</i></b> .....	28
<b>2.7 Olho</b> .....	29
<b>2.8 Morfologia da retina</b> .....	33
<b>2.9 Fotorreceptores</b> .....	35
<b>2.10 Células Horizontais, Neurônios Bipolares e Células Amácrinas</b> .....	39
<b>2.11 Células Ganglionares</b> .....	40
<b>2.12 Especialização retiniana: <i>areae centralis</i>, faixa visual e fóvea</b> .....	41
<b>2.13 Sistema visual dos morcegos</b> .....	42
<b>2.14 Acuidade visual</b> .....	44
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	47
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	47
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	47
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	48
<b>4.1 Captura dos morcegos</b> .....	48
<b>4.2 Enucleação dos olhos</b> .....	49
<b>4.3 Análise histológica: processamento e preparação do tecido</b> .....	50
<b>4.4 Topografia das células ganglionares e análise histomorfométrica da retina</b> ....	50
<b>4.5 Estimativa de acuidade visual</b> .....	52
<b>4.6 Análise estatística</b> .....	53
<b>5 RESULTADOS</b> .....	54
<b>5.1 Comprimento axial do olho e área retiniana</b> .....	54
<b>5.2 Distribuição das células ganglionares na retina</b> .....	54
<b>5.3 Acuidade visual</b> .....	55
<b>5.4 Histomorfometria retiniana</b> .....	56
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	61

<b>6.1 Distribuição de células ganglionares na retina e acuidade visual</b> .....	61
<b>6.2 Histomorfometria retiniana</b> .....	65
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69
<b>ANEXOS</b> .....	81
<b>ANEXO A</b> .....	82
<b>ANEXO B</b> .....	86

## 1 INTRODUÇÃO

A maioria dos morcegos possui um sofisticado sistema de ecolocalização que permite explorar o ambiente durante o período de atividade noturna (ALTRINGHAM, 2011). Porém, esses animais também usam a olfação e principalmente a visão para obtenção dos recursos alimentares e deslocamento noturno (KOAY et al., 2002; RYDELL; EKLÖF, 2003; ALTRINGHAM, 2011). Além disso, morcegos que possuem um sofisticado sistema de ecolocalização tendem a exibir um sistema visual menos desenvolvido, enquanto aqueles que apresentam uma boa capacidade visual tendem a apresentar uma menor dependência da ecolocalização (NEUWEILER 2000; WINTER et al., 2003; JONES; TEELING 2006; MÜLLER et al., 2009).

Os morcegos usam a visão para encontrar abrigos (RUCZYNSKI et al. 2011), durante a migração e nas atividades de *homing* (capacidade dos morcegos retornarem aos seus abrigos) (GRIFFIN, 1970; WILLIAMS; WILLIAMS, 1970), navegação diurna (LAYNE, 1967), captura de presas (BELL; FENTON, 1986; EKLÖF; JONES, 2003; RYDELL; EKLÖF, 2003), comportamento de evasão e fuga de predadores e obstáculos (CHASE; SUTHERS, 1969; GOULD 1977; CHASE 1981; KOAY et al., 2002; EKLÖF; JONES 2003; ORBACH; FENTON 2010), reconhecimento visual e percepção de formas (SUTHERS et al., 1969). Adicionalmente, existe uma relação entre os picos de atividade noturna e estratégias alimentares com as habilidades visuais dos morcegos (CHASE, 1981; EKLÖF et al., 2014; GUTIERREZ et al., 2014).

Os olhos dos morcegos são adaptados às condições noturnas em que eles têm grandes superfícies de córnea e cristalino em relação ao tamanho do olho (SUTHERS; WALLIS, 1970). As retinas dos morcegos ecolocalizadores são delgadas e apresentam 10 camadas (NEUWEILER, 2000). Os morcegos apresentam uma visão dicromática e algumas espécies são capazes de enxergar na região ultravioleta do espectro (WANG et al., 2004; MÜLLER et al., 2007; MÜLLER et al., 2009; ZHAO et al., 2009; BOONMAN et al., 2014). Geralmente, de acordo com o hábito de cada espécie, especialmente estratégia alimentar e local onde essas espécies vivem, a densidade e distribuição de neurônios na retina podem variar e apresentar especializações retinianas em relação ao nicho ecológico de cada espécie (HUGHES, 1977; COLLIN, 2008).

Os olhos desses animais são moldados para operar em baixos níveis de luz, o que resulta em uma pobre acuidade visual em comparação aos mamíferos diurnos

(SUTHERS; WALLIS, 1970; PETTIGREW et al. 1988; HEFFNER et al. 2001). A medição da acuidade visual é usada para estimar e acessar a habilidade de um animal em perceber detalhes visuais. Em geral, frugívoros e nectarívoros têm olhos maiores com melhor poder de capacidade visual em comparação com espécies insetívoras (JOLICOEUR; BARON, 1980; BLACKWOOD et al., 2010).

Dentro da ordem Chiroptera, a visão é um sentido cujo grau de importância varia entre as espécies. Entretanto, as informações referentes ao sistema visual desses animais são escassas. No Brasil, onde existem centenas de espécies de morcegos, as pouquíssimas informações referentes à visão ou a morfofisiologia do globo ocular desses animais compreendem menos de 5% das espécies encontrados no país. Portanto, entender o papel do sistema visual dos morcegos, principalmente associado ao hábito alimentar está diretamente relacionado à manutenção da vida desse grupo e também tenta buscar respostas a respeito do comportamento e história evolutiva da visão desses animais.

Os morcegos do gênero *Artibeus* Leach, 1821 (Phyllostomidae, Stenodermatinae) consiste de 10 espécies restritas à região Neotropical. Dentre estas, as espécies *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus* destacam-se por serem facilmente encontradas em quase todo o Brasil e serem alvos constantes de estudos morfométricos e moleculares (LIM et al., 2004; GARDNER, 2008; REDONDO et al., 2008; REIS et al., 2011). Além disso, essas espécies são predominantemente frugívoras e desempenham um papel importantíssimo na regeneração florestal atuando como dispersores de sementes (MIKICH, 2002; PASSOS; PASSAMANI, 2003; OPREA et al., 2007; MARTINS et al., 2014).

Assim, este estudo objetivou realizar uma análise histomorfométrica da retina e determinar os valores de acuidade visual de três morcegos do gênero *Artibeus*, incluindo *A. planirostris*, *A. lituratus* e *A. obscurus*. Para isso, três hipóteses foram testadas: (1) A maior concentração de neurônios está localizada na retina central, em geral, como uma faixa visual para as três espécies. (2) Embora os morcegos apresentem uma baixa acuidade visual, estas três espécies possuem uma maior acuidade visual quando comparadas com outras espécies ecolocalizadoras de diferentes hábitos alimentares e (3) mesmo estas três espécies pertencendo ao mesmo gênero, elas devem apresentar diferentes valores de acuidade visual quando comparados entre si.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

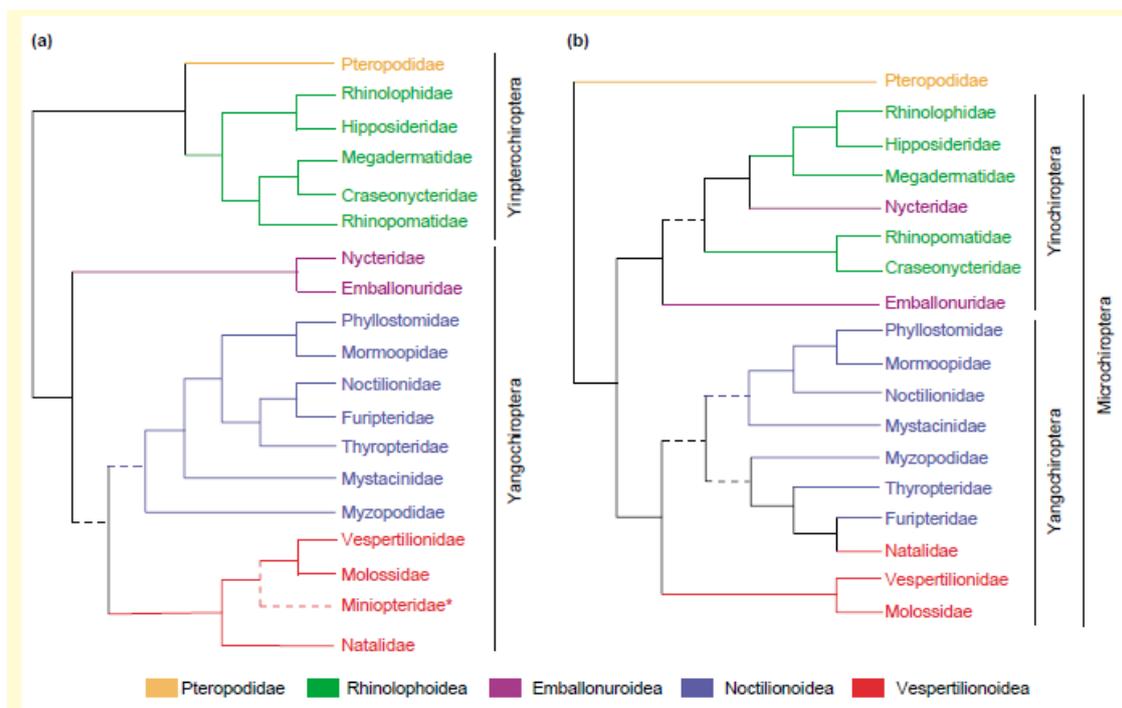
### 2.1 Ordem Chiroptera

Os morcegos pertencem à ordem Chiroptera constituindo um dos grupos de mamíferos mais diversificados no mundo tanto em número de espécie quanto em diversidade ecológica. Os morcegos representam a segunda maior ordem de mamíferos, compreendendo 18 famílias, 202 gêneros e aproximadamente 1.116 espécies (GARDNER, 2008). Esses animais estão amplamente distribuídos nas áreas tropicais e temperadas, com exceção das regiões polares (SIMMONS, 2005). A palavra Chiroptera é derivada do grego “*cheir*” (mão) e “*pteron*” (asa), o que significa que dentro da classe Mammalia esses animais são os únicos a apresentarem adaptações morfológicas para a realização do voo verdadeiro (PERACCHI et al., 2011). Além disso, os morcegos apresentam uma musculatura altamente desenvolvida na região peitoral e nos ombros, costelas achatadas, ossos leves e tubulares os quais possibilitam o voo, e também são os únicos mamíferos que possuem um joelho com uma articulação que permite movimentar os membros posteriores não só para dentro, mas igualmente para fora, adaptação necessária para esses animais permanecerem em posição invertida, além de vértebras cervicais flexíveis, que permite que a cabeça permaneça levantada durante o voo e durante o repouso (NOWAK, 1994; FENTON, 2001; REIS et al., 2007).

Os quirópteros apresentam-se tradicionalmente subdivididos em duas subordens: A subordem Megachiroptera, conhecidos também como raposas voadoras, compreende uma única família (Pteropodidae) e são encontrados exclusivamente no velho mundo. Em geral, as raposas voadoras apresentam um grande porte, algumas espécies possuem envergadura ultrapassando 1 metro, possuem uma visão bem desenvolvida e não apresentam um sistema de ecolocalização laringal, com exceção das espécies do gênero (*Rousettus* spp.). Além disso, esses morcegos são basicamente frugívoros (NOWAK, 1999; HALL; RICHARDS, 2000; SIMMONS, 2005). Por outro lado, a grande maioria dos morcegos pertence à subordem Microchiroptera. Os morcegos dessa subordem estão amplamente distribuídos por todo o globo terrestre e geralmente são menores que as raposas voadoras. Os microquirópteros estão agrupados em 17 famílias (Rhinolophidae, Hipposideridae, Megadermatidae, Rhinopomatidae, Craseonycteridae, Emballonuridae, Nycteridae, Myzopodidae, Mystacinidae, Phyllostomidae, Mormoopidae, Noctilionidae, Furipteridae, Thyropteridae, Natalidae, Molossidae,

Vespertilionidae) e possuem um complexo sistema de ecolocalização que permite explorar o ambiente durante o período de atividade noturna, além de possuir uma ampla variação de hábitos alimentares (GOULD, 1977; SIMMONS, 2005; REIS et al., 2007; GARDNER, 2008; ALTRINGHAM, 2011).

Porém, foi estabelecida uma nova classificação filogenética na qual a ordem Chiroptera é dividida na subordem Yinpterochiroptera a qual contém as famílias (Pteropodidae, Rhinolophidae, Hipposideridae, Megadermatidae, Craseonycteridae e Rhinopomatidae) e na subordem Yangochiroptera a qual agrupa todas as outras 12 famílias (Figura 1). Essa classificação está baseada na sequência molecular do DNA nuclear e mitocondrial de morcegos pertencentes a todas as famílias de quirópteros (TEELING et al. 2000; JONES; TEELING 2006; VAN DER BUSSCHE; HOOFFER, 2004 TEELING 2009).



**Figura 1.** Classificação filogenética da ordem Chiroptera. (a) Nova classificação filogenética: Subordem Yinpterochiroptera e subordem Yangochiroptera (b) Classificação filogenética tradicional: Subordem Megachiroptera e subordem Microchiroptera (JONES; TEELING, 2006).

No Brasil, relata-se a ocorrência de 9 famílias, 65 gêneros e 174 espécies de morcegos sendo estes encontrados em todos os biomas brasileiros (REIS et al., 2011). Essas famílias consistem nas seguintes: Emballonuridae (16 espécies), Phyllostomidae (90 espécies), Mormoopidae (4 espécies), Noctilionidae (2 espécies), Furpteridae (1

espécie), Thyropteridae (4 espécies), Natalidae (1 espécie), Molossidae (28 espécies), e Vespertilionidae (28 espécies) (PERACCHI et al., 2011; PAGLIA et al., 2012).

Os quirópteros executam um papel importantíssimo para a manutenção do equilíbrio ecológico ao qual está diretamente relacionado ao hábito alimentar de cada espécie. Os morcegos frugívoros são excelentes dispersores de sementes, enquanto os nectarívoros atuam como polinizadores de flores, e ambos desempenham funções como moduladores da flora (FLEMING, 1988; FENTON et al., 1992; SAZIMA et al., 1982; GARCIA et al., 2000). As espécies insetívoras controlam populações de insetos, assim com espécies carnívoras que se alimentam principalmente de pequenos vertebrados mantendo o equilíbrio populacional de suas presas (REIS et al., 2007; PERACCHI et al., 2011). Além disso, os morcegos hematófagos se alimentam exclusivamente de sangue de outros vertebrados, o qual apresenta uma importância médica-sanitária, sendo este um importante vetor do vírus rábico (UIEDA et al., 1996; GOODWIN; GREENHALL, 1961). Dentre outros hábitos alimentares destacam-se: Onívoros, piscívoros, folívoros e granívoros (GARDNER, 1977; REIS et al., 2007). Adicionalmente, os morcegos são excelentes indicadores dos níveis de perturbação ambiental relacionados ao desequilíbrio ecológico de uma determinada área (FENTON et al., 1992; GARCIA; REZENDE; AGUIAR, 2000; JONES et al., 2009).

## **2.2 Ecolocalização**

Os morcegos destacam-se por apresentar hábitos noturnos. Portanto, esses animais fazem uso de todos os sentidos básicos para a realização de suas atividades. Além disso, todos os morcegos microquirópteros e as raposas voadoras do gênero (*Rousettus* spp.) se comunicam e voam orientados por meio de sons de alta frequência. Esse complexo sistema é conhecido como ecolocalização ou localização através dos ecos (GRIFFIN, 1970; NEUWEILER, 2000; ALTRINGHAM 2010). Esses animais emitem ultrassons, que são produzidos pela laringe e direcionados pela boca ou pelo nariz, e ao encontrarem com um obstáculo, presa ou objeto, retornam em formas de ecos e são captados pelas orelhas, especificamente, na região do trago ou antítrego, possibilitando assim sua orientação e informando a qual distância estes, relativamente, se encontra (REIS et al., 2007). A ecolocalização é de extrema importância para morcegos que vivem em florestas fechadas, os quais, a quantidade de obstáculos são muitos e o deslocamento é dificultado por voarem durante o período noturno

(HEFFNER et al., 2001; KOAY et al., 2002). Adicionalmente, a ecolocalização é usada como sinais para acasalamento, alarmes e agressão. O sistema de ecolocalização é bastante complexo e a frequência emitida difere entre as espécies, até mesmo pode variar de acordo com a atividade que um determinado indivíduo está executando (GOULD, 1977; NEUWEILER, 2000; PERACCHI et al., 2011). O desenvolvimento do sistema de ecolocalização é um dos principais responsáveis pela maior diversidade de espécies desse grupo, especialmente, os morcegos microquirópteros. Esse sistema de ecolocalização permitiu que esses mamíferos explorassem diversos tipos de alimentos, abrigos, habitat em diferentes biomas do planeta e conseguissem escapar facilmente de predadores (WILLIAMS; WILLIAMS, 1970; DENZINGER; SCHNITZLER, 2014). Em contrapartida, as raposas voadoras que se orientam, basicamente, pela visão, fazem uso de poucos tipos de abrigos e sua alimentação baseia-se quase que exclusivamente em origem vegetal, assim, sendo um grupo menos diverso em comparação com os morcegos ecolocalizadores (HALL; RICHARDS, 2000; JONES; TEELING, 2006).

### **2.3 Família Phyllostomidae, Subfamília Stenodermatinae e o Gênero *Artibeus***

A família Phyllostomidae é a mais diversificada na região Neotropical, com distribuição com registros que se estendem do sudoeste dos Estados Unidos até o norte da Argentina. Essa família forma um grupo monofilético sendo subdividida em 11 subfamílias: Phyllostominae, Carollinae, Desmondotinae, Glossophaginae, Stenodermatinae, Macrochinae, Micronycterinae, Lonchorhininae, Lonchophyllinae, Glyphonycterinae e Rhinophyllinae, com aproximadamente 160 espécies distribuídas em 57 gêneros. No Brasil, são encontrados 92 espécies da família Phyllostomidae, sendo dentre as famílias da Ordem Chiroptera a mais diversa no país. Essa atual divisão leva em consideração tanto aspectos morfológicos quanto de sítios de restrição e de cromossomos sexuais. Os morcegos pertencentes a essa família apresentam a mais diversificada estratégias alimentares dentre todos os quirópteros (frugivoria, insetivoria, carnivoria, nectarivoria, onivoria, granivoria, folivoria e hematofagia (KOOPTMAN, 1982; NOWAK, 1999; SIMMONS, 2005; REIS et al., 2011; PERACCHI et al., 2011; PAGLIA et al., 2012).

A principal característica, morfológica que distingue os membros da família Phyllostomidae é a presença de um apêndice nasal em forma de folha ou ponta de lança na extremidade do focinho, com exceção dos morcegos da família Desmondotinae os

quais apresentam uma folha nasal reduzida em forma de ferradura. (REIS et al., 2011; PERACCHI et al., 2011; PAGLIA et al., 2012).

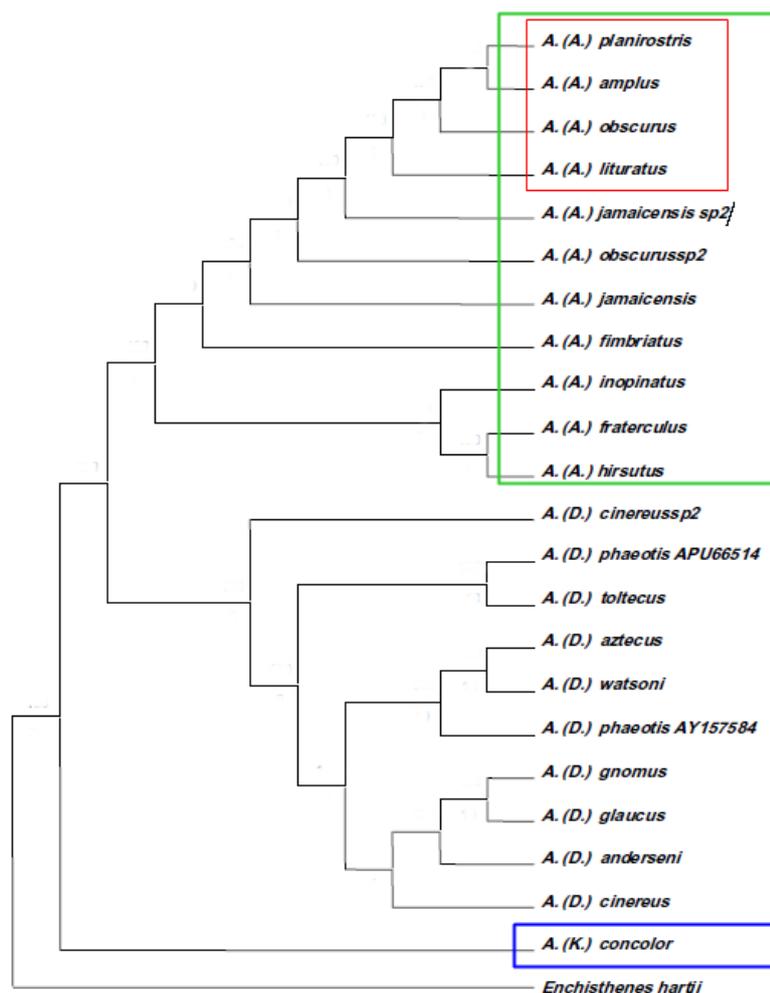
A subfamília Stenodermatinae é mais numerosa com 17 gêneros conhecidos e 67 espécies descritas, das quais 33 espécies são encontradas no Brasil distribuídas em 12 gêneros (SIMMONS, 2005; REIS et al., 2007). Os morcegos dessa subfamília apresentam tamanhos que variam de pequenos a grande, como no caso dos grandes *Artibeus* que podem chegar a medir 75 mm de antebraço. Os estenodermatíneos apresentam focinho curto, não apresentam cauda, o uropatágio não é muito desenvolvida ou até mesmo inexistente e em geral possuem listras faciais claras (VIZOTTO; TADDEI, 1973; REIS et al., 2007). Os morcegos dessa subfamília são predominantemente frugívoros e executam um papel importantíssimo como dispersores de sementes na região Neotropical. Porém, esses animais podem complementar sua dieta com recursos florais, insetos e folhas (GALETTI; MORELLATO, 1994; MIKICH, 2002; PASSOS; PASSAMANI, 2003; REIS et al., 2007).

O gênero *Artibeus* Leach, 1821, é um dos 17 gêneros que pertence à subfamília Stenodermatinae. A classificação sistemática do gênero *Artibeus* é bastante complexa e motivo de muitas contradições. Segundo Simmons (2005) esse gênero é composto por 18 espécies. Porém, esse gênero atualmente é composto por dois subgêneros: *Artibeus* e o *Koopmania*. Anteriormente, *Demanura* também era considerado como um subgênero do gênero *Artibeus*, mas, com base em estudos moleculares, *Dermanura* tornou-se um gênero válido e foi desmembrado do gênero *Artibeus*. Portanto, atualmente 10 espécies são consideradas pertencentes ao gênero *Artibeus*, sendo 9 descritas para o subgênero *Artibeus* (Figura 2), considerados como os grandes e verdadeiros morcegos do grupo, e apenas uma espécie pertence ao subgênero *Koopmania*, porém, o status desse segundo subgênero permanece inconclusivo, o qual ainda é considerado como um subgênero válido (REDONDO et al. 2008). Assim, as espécies desse gênero encontradas no Brasil são: *Artibeus concolor*, do subgênero *Koopmania* e *Artibeus fimbriatus*, *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus*, pertencentes ao subgênero *Artibeus* (OWEN, 1987; LIM et al., 2004; REDONDO et al., 2008; SOLARI et al., 2009; REIS, et al., 2011).

Os morcegos pertencentes a esse gênero têm como característica diagnóstica a presença de um incisivo superior interno bífido. O tamanho corpóreo desses animais varia de médio a grande porte, não possuem cauda e sua membrana interfemural é visivelmente dividida até a altura de mais da metade da tíbia, possuem pelos curtos e

aveludados com coloração amarronzada, acinzentado ou enegrecidos com a presença de pelos prateados. Adicionalmente, quatro listas faciais são bem visíveis em algumas espécies, em outras aparecem com menos nitidez ou estão ausentes (VIZOTTO; TADDEI, 1973; MARQUES-AGUIAR, 1994; SIMMONS, 2005; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010). Além disso, esses morcegos são predominantemente frugívoros, podendo complementar sua alimentação com outros recursos em caso de escassez da principal fonte alimentar (GALETTI; MORELLATO, 1994; MIKICH, 2002; PASSOS; PASSAMANI, 2003; PASSOS; GRACIOLLI, 2004; OPREA et al., 2007; GARDNER, 2008).

Outra discordância recente em relação a esse gênero foi que a espécie *A. planirostris* não era considerada uma espécie válida, ao qual, principalmente no Brasil, esses morcegos eram descritos primeiramente como uma subespécie e depois como um sinônimo júnior e uma variante geográfica de *Artibeus jamaicensis* (HANDLEY, 1987; HANDLEY 1989). Porém, atualmente *A. planirostris* é considerada uma espécie válida e distinta de *A. jamaicensis*. A distinção entre as duas espécies foi comprovada a partir da análise de dados moleculares (LIM, 1997; LIM et al., 2004; HOLLIS, 2005; REDONDO et al. 2008; REIS, et al., 2011). Além disso, três espécies que são amplamente distribuídas no Brasil possuem uma proximidade filogenética muito expressiva, são elas: *A. planirostris*, *A. obscurus* e *A. lituratus*, as quais muitas vezes devido às limitações a filogenia do gênero vem mudando ao longo dos anos. Todavia, dados morfométricos (GUERRERO et al., 2003) e também dados moleculares (LIM et al., 2004), mesmo com algumas poucas divergências, mostraram que essas três espécies junto com *Artibeus amplus* possuem um grau de parentesco muito próximo (Figura 2). Mesmo com estudos recentes sobre a filogenia do gênero, o grupo necessita de uma revisão constante, abrangendo comparações morfométricas, moleculares e geográficas.



**Figura 2.** Árvore consenso de máxima parcimônia para as relações filogenéticas atuais do gênero *Artibeus* baseada no haplótipo do citocromo b (cyt b). Quadro em destaque verde: 9 espécies do gênero dos grandes e verdadeiros *Artibeus*. Quadro em destaque vermelho: Proximidade filogenética entre as espécies *A. planirostris*, *A. obscurus* e *A. lituratus*. Quadro em destaque azul: única espécie do subgênero *Koopmania*, ainda considerada como táxon válido. Adaptado de REDONDO et al. (2008).

## 2.4 *Artibeus lituratus*

A espécie *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) possui uma distribuição desde o México até o norte da Argentina. No Brasil, essa espécie foi registrada em quase todos os estados e distribuída em todos os biomas nacional, inclusive, frequentemente encontrados em ambientes urbanos (RUI et al., 1999; PASSOS; PASSAMANI, 2003; PASSOS; GRACIOLLI, 2004; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010; PERACCHI et al., 2011). Esses morcegos são considerados de grande porte em comparação com os morcegos ecolocalizadores, com comprimento total entre 8,6 e 12 cm, antebraço medindo em média 7,5 cm e com aproximadamente 75 g de peso. Apresentam uma coloração marrom achocolatado, com variações geográficas para o acinzentado e listras brancas faciais bem evidentes. Além disso, eles possuem olhos salientes, folha nasal

larga e orelhas relativamente curtas (Figura 3) (VIZOTTO; TADDEI, 1973; MARQUES-AGUIAR, 1994; GUERRERO et al., 2003; REIS et al., 2007; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010; PERACCHI et al., 2011). Abrigam-se principalmente em copas de árvores e sua principal dieta, cerca de 88% é a base de frutas de variadas espécies vegetal, o qual o torna um importante dispersor de sementes, pela dispersão de sementes em suas fezes ou pelo consumo da polpa da fruta e descarte das sementes (ZORTÉA; CHIARELLO, 1994; MIKICH, 2002; PASSOS; PASSAMANI, 2003; OPREA et al., 2007; MARTINS; TORRES; DOS ANJOS; 2014).



**Figura 3.** Morcego da espécie *Artibeus lituratus*. Fonte: <http://morcegosdobrasil.blogspot.com.br/2011/06/artibeus-lituratus.html>. Acesso em: 20/01/2017.

### ***2.5 Artibeus planirostris***

A espécie *Artibeus planirostris* (Spix, 1823) é considerada uma espécie válida (LIM, 1997; LIM et al., 2004). A distribuição dessa espécie abrange desde o sudeste da Colômbia, a porção sul do Rio Orinoco (Venezuela) e leste dos Andes até o norte da Argentina. No Brasil, essa espécie é encontrada em quase todos os biomas em 21 estados e no Distrito Federal, principalmente em regiões florestais, fragmento de matas, ambientes xeromórficos, assim como em áreas urbanizadas e exceto na região dos Pampas no Rio Grande do Sul. *A. planirostris* é considerada de tamanho médio a grande, com aproximadamente de 7,5 a 11 cm de comprimento do corpo, com um antebraço acima de 6,2 cm e um peso entre 49 a 60 g. Apresenta uma coloração acinzentada com listas faciais quase imperceptíveis, orelhas pequenas com pontas arredondadas, o uropatágio contém poucos pelos e não possuem cauda (Figura 4) (LIM, 1997; GUERRERO et al., 2003; HOLLIS, 2005; FEIJÓ; NUNES, 2010; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010; REIS et al., 2011). Essa espécie é predominantemente frugívora,

acrescentando em sua dieta insetos e recursos florais como pólen e néctar. As sementes encontradas nas fezes desses quirópteros são principalmente de espécies pioneiras, importante para regeneração de áreas degradadas (OLIVEIRA; LEMES, 2010; MARTINS; TORRES; DOS ANJOS; 2014).



**Figura 4.** Morcego da espécie *Artibeus planirostris*. Fonte: [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/593762?lg=en](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/593762?lg=en). Acesso em: 20/01/2017.

## 2.6 *Artibeus obscurus*

A espécie *Artibeus obscurus* (Schinz, 1821) é endêmica na América do Sul com registro no Brasil, Venezuela, Colômbia, Guianas, Equador, Peru e Bolívia. No Brasil, essa espécie é largamente distribuída principalmente na região amazônica, mas sem ocorrência no extremo sul do país. O tamanho corpóreo médio entre machos e fêmeas dessa espécie é aproximadamente 7,9 cm, o qual é considerado uma espécie de tamanho médio para o gênero *Artibeus*. Além disso, o antebraço é peludo com um tamanho que varia entre 5,4 e 6,5 cm e o peso entre 28 e 52,2 g para ambos os sexos, porém, as fêmeas mostraram as maiores médias para os parâmetros analisados. Essa espécie possui uma pelagem enegrecida e listras faciais imperceptíveis ou ausentes, folha nasal larga e poucas verrugas no queixo (Figura 5) (TADDEI et al., 1998; GUERRERO et al., 2003; HAYNES; LEE JR, 2004; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010; REIS et al., 2011; BORDIGNON; DOS SANTOS, 2012). Assim como as outras espécies do gênero, seus hábitos alimentares são frugívoros. Esta espécie está associada a ambientes florestais e úmidos, abrigando-se em folhagem e cascas de troncos, além de existirem relatos para áreas urbanas e serem descritas como uma espécie que possuem uma alta capacidade

adaptativa (TADDEI et al., 1998; HAYNES; LEE JR, 2004; PERACCHI et al., 2011; FERREIRA et al., 2014).



**Figura 5.** Morcego da espécie *Artibeus obscurus*. Fonte: <http://morcegosdobrasil.blogspot.com.br/2011/06/artibeus-obscurus.html>. Acesso em: 20/01/2017.

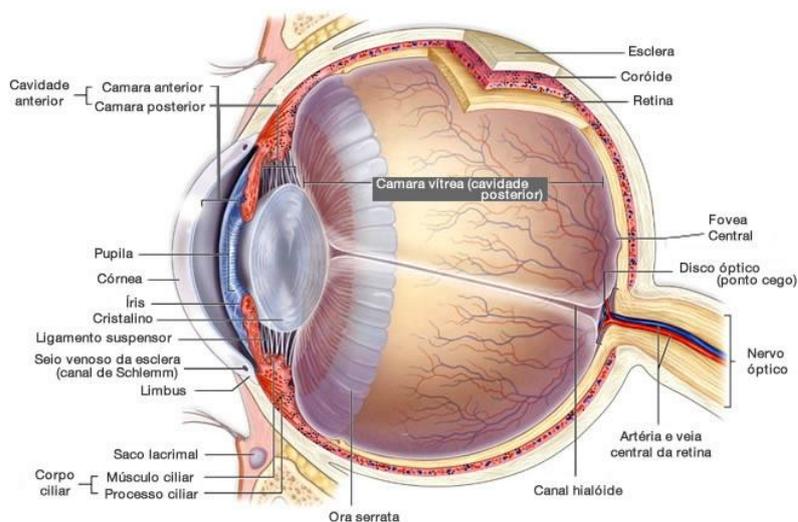
## 2.7 Olho

A visão é de grande importância para todos os animais, pois, é um sentido amplamente encontrado em um enorme número de animais tanto vertebrados quanto invertebrados, o que reflete a importância adaptativa do sistema visual para a sobrevivência e adaptação ambiental ao nicho ecológico de cada espécie (HUGHES, 1977). O percurso visual envolve uma série de processos sofisticados que se estendem dos olhos ao córtex visual no cérebro e este caminho é altamente variável entre as espécies. Os olhos caracterizam-se por ser um órgão fotossensível que permite detectar, localizar e analisar a luz e transformar essa percepção em impulsos elétricos. Assim, esse órgão fotossensível consegue fazer uma análise minuciosa quanto à forma dos objetos, sua cor e a intensidade de luz refletida (KOLB et al., 2001; RODRIGUES, 2010; WÄSSLE, 2004; BALASUBRAMANIAN, V.; STERLING).

Nos vertebrados, os olhos são estruturas basicamente esféricas, localizadas na órbita do crânio e que na maioria dos animais desse grupo esses órgãos estão encobertos pelas pálpebras na região anterior. Entre os olhos e a parede óssea da órbita, encontra-se a gordura periorbital, tecido conjuntivo, ligamentos, músculos extrínsecos e tecidos glandulares, com destaque para a glândula lacrimal (CUNNINGHAM, 2010; LEITE et al., 2013).

Os olhos dos mamíferos são constituídos por três túnicas ou camadas dispostas concêntrica: a camada externa (túnica fibrosa), a camada média (túnica vascular)

e a camada interna (túnica nervosa), uma lente e um sistema de câmaras. É possível ainda dividir o olho em dois segmentos: anterior e posterior, sendo o cristalino o marco anatômico para essa divisão. Assim, o segmento anterior é o espaço delimitado anteriormente pela córnea e posteriormente pelo cristalino e o segmento posterior é delimitado anteriormente pelo cristalino e posteriormente pela esclera, envolvendo o corpo vítreo, retina, coróide e nervo óptico (Figura 6) (CUNNINGHAM, 2010; DYCE et al., 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; LEITE et al., 2013).



**Figura 6.** Representação esquemática da anatomia do globo ocular de humanos. Fonte: <http://retinabrasil.org.br/site/o-olho-humano>. Acesso em: 25/01/2017.

A camada externa é formada pela esclera e pela córnea. A esclera representa a área opaca e esbranquiçada da túnica fibrosa que está no interior da órbita craniana, formada por tecido conjuntivo denso não-modelado. A esclera é quase destituída de vasos sanguíneos e sua principal função é de proteção do conteúdo intraocular e local de inserção dos músculos extras oculares responsáveis pela movimentação do globo ocular. Na região posterior do olho, a esclera se prolonga e reveste externamente o nervo óptico, sendo denominada por alguns autores como dura-máter. A córnea é a parte anterior e transparente da túnica fibrosa. A córnea possui cinco camadas sendo formada por um tecido conjuntivo denso modelado, avascular e altamente innervado. A transparência e curvatura da córnea são importantes para o mecanismo de refração e foco da luz na retina. A região de transição entre a córnea e a esclera é denominada de transição esclerocorneal ou limbo. Na região do limbo encontra-se uma rede trabecular onde é o local de drenagem do humor aquoso (CUNNINGHAM, 2010; DYCE et al., 2010).

A camada média ou túnica vascular é constituída pela coróide, corpo ciliar e pela íris. A coróide estende-se da região posterior até o corpo ciliar e está localizada entre a esclera e a retina. Ela é constituída de tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos, fibras e células altamente pigmentadas com melanina, dando a coloração intensamente escura dessa camada. A principal função da coróide é nutrir a retina e absorver a luz que perpassa pela retina para que esta não seja refletida. O corpo ciliar é um espessamento da coróide constituído por células pigmentares, fibras, vasos sanguíneos e nervos. Além disso, ele possui uma musculatura lisa, o músculo ciliar, importante no mecanismo de acomodação visual do cristalino. Na sua face voltada para o cristalino, existem umas extensões ou prolongamentos digitiformes que são contornos irregulares formando saliências ou papilas chamadas de processos ciliares. Estes são os locais de ligações do corpo ciliar, que através das fibras das zônulas ou ligamento suspensor, distende ou relaxa o cristalino no processo de acomodação visual (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002; GUYTON e HALL, 2006). Além disso, os processos ciliares são revestidos por um epitélio cúbico com apenas duas camadas de células que são responsáveis pela constante produção do humor aquoso. Por fim, na região anterior do olho encontra-se a íris. Essa estrutura é um prolongamento da coróide que cobre a parte anterior do cristalino e apresenta em seu centro uma abertura chamada de pupila. A íris é constituída de tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado, com abundantes fibroblastos, melanócitos e por uma musculatura lisa (DYCE et al., 2010; LEITE et al., 2013). A principal função da íris é controlar a passagem de luz para dentro do olho pela constante modificação do diâmetro pupilar. Segundo Guyton; Hall (2006) a abertura pupilar apresenta o diâmetro inversamente a quantidade de luz disponível. Essa abertura pupilar é controlada pelos músculos esfíncter e dilatador os quais são responsáveis pela constrição e dilatação da pupila respectivamente.

A camada interna ou retina reveste internamente a câmara posterior do globo ocular. A retina é composta por duas partes, uma parte sensorial composta por nove camadas e outra não-sensorial composta pelo epitélio pigmentar da retina. Ela converte a energia luminosa em energia química para gerar o sinal elétrico que é conduzido até o cérebro através do nervo óptico (AMMERMÜLLER; KOLB, 1996; KOLB, 2001; MASLAND, 2001).

Além desses envoltórios, o olho apresenta o cristalino ou lente, uma estrutura biconvexa transparente que é mantida em posição graças a um ligamento circular, a zônula ciliar, que se insere sobre um espessamento da camada média o corpo ciliar. O

crystalino está situado entre a íris e o corpo vítreo. Essa lente é formada por três partes: A cápsula do cristalino, um epitélio subcapsular encontrado apenas na região anterior do cristalino e pelas fibras. A principal função do cristalino é focalizar a luz e objetos próximos e distantes sobre a retina, o que se faz pela mudança da sua curvatura, graças à ação da musculatura lisa do corpo ciliar que exerce tensão ou relaxamento nas fibras da zônula e controla a curvatura do cristalino (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002; CUNNINGHAM, 2010).

O olho também apresenta três compartimentos, à câmara anterior, situada entre a córnea e a íris e câmara posterior que está localizada entre a íris e o cristalino. As câmaras anterior e posterior se comunicam entre si através da abertura da pupila. A função destas duas câmaras é abrigar o humor aquoso o qual exercer pressão hidrostática no segmento anterior para manter o formato globoso do olho e também nutrir à córnea e o cristalino. O humor aquoso é constantemente produzido pelo epitélio que reveste o corpo ciliar na câmara posterior e em seguida percorre pela pupila em direção a câmara anterior onde é drenado na região do limbo, área conhecida como canal de Schlemm. A composição do humor aquoso é semelhante à da linfa (glicose, oxigênio, aminoácidos, ácido hialurônico despolimerizado, porém com menos albumina e não contém fibrinogênio o qual impede sua coagulação) e índice de refração bem próximo ao da água (SCHIMIDT-NIELSEN, 2002; CUNNINGHAM, 2010; DYCE et al., 2010).

O terceiro compartimento é chamado câmara vítrea ou câmara postrema, situado atrás do cristalino e circundado pela retina. Ela é composta pelo corpo vítreo, uma substância transparente constituída de 99% de água, fibrilas de colágeno e ácido hialurônico, os quais dão uma consistência gelatinosa a essa estrutura. Sua principal função é manter a pressão ocular, fornecendo suporte físico ao cristalino e mantendo a retina junto à coroide, além de servir como amortecimento para impactos externos. (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; SCHIMIDT-NIELSEN, 2002; GUYTON e HALL, 2006).

Nos olhos de alguns animais existe uma estrutura chamada de *tapetum lucidum*. Essa estrutura é uma membrana posicionada logo após a retina e funciona como um sistema refletor biológico providenciando uma segunda chance as células retinianas serem estimulada pela luz que entra no globo ocular. Essa estrutura é facilmente identificada em alguns animais, como no caso dos felinos, sendo uma camada

responsável pelo brilho olhos desses animais quando refletidos na luz durante a noite (OLLIVIER et al., 2004).

Portanto, o olho, como estrutura, é todo moldado e adaptado para promover uma passagem adequada da luz até a retina, além de existir uma conformação estrutural da coroide e outros vasos para a nutrição contínua da retina. Assim, a luz passa através dos seguintes meios até atingir a retina: Primeiramente, ela é refratada pela córnea, atravessa o humor aquoso, a pupila regula a entrada de luz para dentro do olho e em seguida é focada pelo cristalino, atravessa todo o corpo vítreo e finalmente alcança a retina. Porém, a luz precisa atravessar toda a retina até atingir a camada de células fotorreceptoras as quais são sensíveis à luz (KOLB et al., 2001; RODRIGUES, 2010; WÄSSLE, 2004).

## 2.8 Morfologia da Retina

Para desencadear a percepção visual, primeiramente a luz ou informações visuais são projetadas na retina e assim o processamento visual se inicia com a interação entre os fótons de luz e as células fotorreceptoras. Essas células são responsáveis pela captação e transdução da energia luminosa em impulso nervo (MASLAND, 2001). A partir daí, o sinal é transmitido por uma série de camadas na retina até as vias periféricas de transmissão (nervos ópticos, quiasma, tratos ópticos, corpos geniculados laterais e radiações ópticas) até o local de recepção e decodificação desses sinais, então transformados em “percepção” visual no córtex occipital. Porém, não se pode dizer que o processo da visão aí termine. Outras partes (córtices parietais e temporais) se atribui a interação dessa percepção com outras informações, de modo que daí resulte uma verdadeira compreensão daquilo que se vê ou daquilo que é chamado de visão (KOLB et al., 2001; RODRIGUES, 2010; WÄSSLE, 2004).

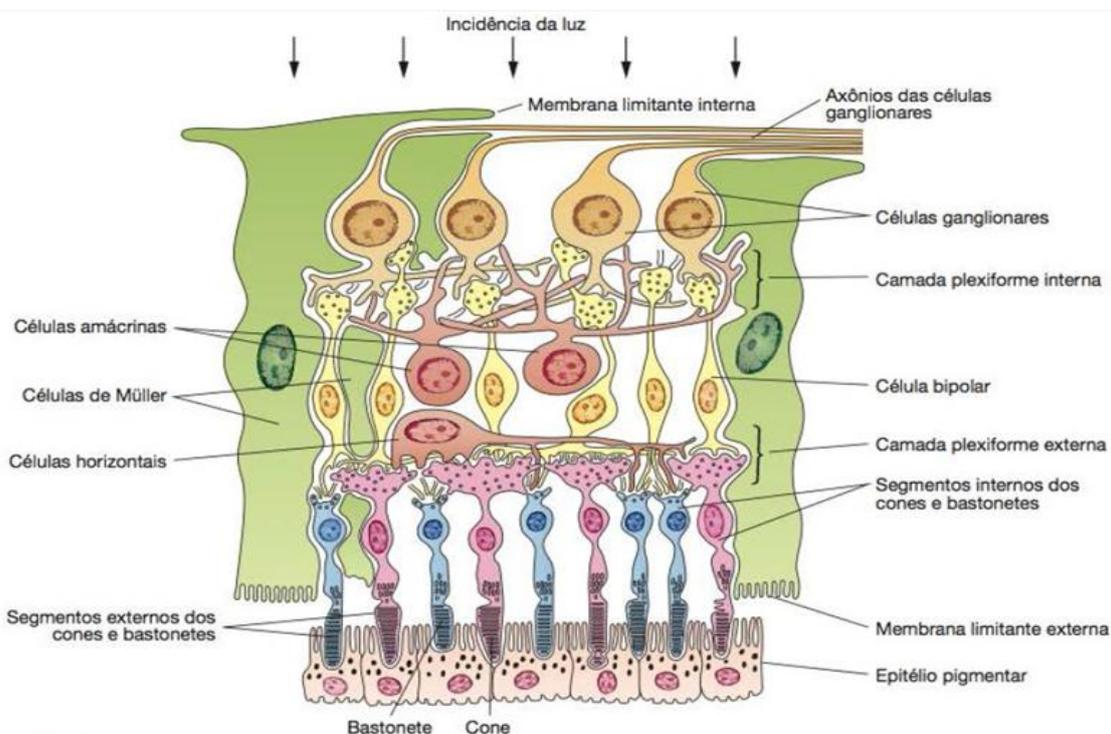
Nos vertebrados, a retina é um tecido neural com origem embrionária a partir de uma evaginação do diencéfalo. A retina reveste internamente a câmara posterior do globo ocular até a região da *ora serrata* (Figura 6) (CUNNINGHAM, 2010; DYCE et al., 2010; LEITE et al., 2013). Topograficamente, a retina divide-se numa porção periférica, com predominância de fotorreceptores conhecidos como bastonetes e numa porção central, o qual existe uma abundância tanto de bastonetes quanto uma predominância de cones (DACHEUX; RAVIOLA, 1994; BALASUBRAMANIAN; STERLING, 2009).

A retina, como muitas outras estruturas do sistema nervoso central, contém uma enorme diversidade de tipos de neurônios. As retinas de mamíferos contêm aproximadamente 55 tipos morfológicos de células neuronais, cada uma, com funções distintas (BROOKS et al., 1999; MASLAND, 2001). O complexo circuito celular organizado em camadas é formado por pelo menos seis tipos celulares: Fotorreceptores (bastonetes e cones), células bipolares, horizontais, amácrinas, ganglionares e células de Müller (KOLB et al., 2001). A retina é classicamente descrita como uma estrutura de dez camadas (Figura 7), as quais são do exterior para o interior do olho são: Epitélio pigmentar da retina, um componente não neural, constituído de uma única camada de células cúbicas sendo fortemente aderida a membrana basal e apresentando na região apical prolongamentos que envolvem as extremidades dos fotorreceptores, os quais são responsáveis por fagocitar e reciclar as porções apicais dos segmentos externos dessas células, além desse epitélio servir como um transportador metabólico entre o sangue e os fotorreceptores e ser responsável por absorver o excedente de luz que ultrapassa a retina. A próxima camada é formada pelos segmentos internos e externos porção externa dos bastonetes e dos cones, especializados na captação e transdução da energia luminosa. Em sequência, encontra-se a membrana limitante externa, que são expansões das células da glia de sustentação (células de Müller) circundando os segmentos internos dos fotorreceptores. Seguindo, está a camada nuclear externa, onde contém os corpos celulares de bastonetes e cones.

Logo, encontra-se a camada plexiforme externa, local de sinapse os axônios dos fotorreceptores e os dendritos das células bipolares e horizontais. Em seguida, está presente a camada nuclear interna, onde estão presentes os corpos celulares das células bipolares, horizontais, amácrinas e de Müller. A próxima camada é a camada plexiforme interna, local onde ocorrem sinapses entre os neurônios bipolares e células amácrinas com as células ganglionares. Em sequência está a camada de células ganglionares, constituída pelos núcleos destes neurônios. Logo após, está a camada de fibras nervosas, que é composta por feixes de axônios amielínicos das células ganglionares dispostas paralelamente à superfície da retina, que convergem num único ponto, o disco óptico, para formar o nervo óptico. Por fim, está a membrana limitante interna, formada pelos prolongamentos das células de Müller e sua membrana basal que separa a retina do corpo vítreo. As células de Müller atuam sustentando, nutrindo e isolando os neurônios da retina, bem como interferindo na comunicação entre as camadas plexiforme externa e plexiforme interna. (DACHEUX; RAVIOLA, 1994;

AMMERMÜLLER; KOLB, 1996; KOLB et al., 2001; CUNNINGHAM, 2010; DYCE et al., 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; LEITE et al., 2013).

Assim, o circuito principal conduz do fotorreceptor para a célula bipolar, depois para a célula ganglionar e por fim, ao nervo óptico que encaminha o impulso para a região do cérebro. As outras células são interneurônios que tem papel regulador desse circuito, células horizontais agem em nível de sinapse entre os fotorreceptores e os neurônios bipolares, células amácrinas a nível da sinapse entre os neurônios bipolares e as células ganglionares e as células interplexiformes (astrócitos, micróglias e células de Müller) sustentam e regulam as interações entre as duas sinapses (WÄSSLE, 2004).



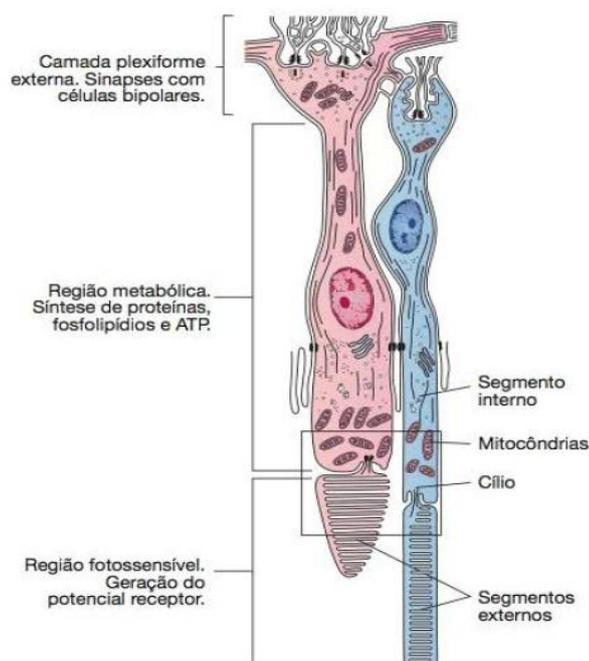
**Figura 7.** Desenho esquemático das camadas de neurônios da retina. As setas representam a incidência e a direção da luz até alcançar os fotorreceptores. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

## 2.9 Fotorreceptores

Na maioria dos vertebrados, são encontrados os dois tipos de fotorreceptores os bastonetes e os cones. Os bastonetes são mais sensíveis à luz de baixa intensidade e sob essa condição (visão escotópica) a visão depende quase que exclusivamente desses fotorreceptores. Pelo fato da retina periférica ser abundante em bastonetes, a visão periférica também depende dessas células. Por outro lado, os cones estão relacionados à

sensibilidade de alta intensidade luminosa (visão fotópica) e sendo responsável principalmente pela visão central, correspondendo à região central da retina, ao local de maior abundância e também relacionados à visão das cores (DACHEUX; RAVIOLA, 1994; BALASUBRAMANIAN; STERLING, 2009). Assim, animais noturnos geralmente apresentam retinas com predominância de bastonetes, enquanto animais diurnos possuem uma maior quantidade de cones (WÄSSLE, 2004).

Os fotorreceptores são neurônios que possuem quatro partes distintas: Um segmento externo contendo um pigmento (substância fotossensível), um segmento interno, um corpo celular e um terminal sináptico (MASLAND, 2001; KOLB et al., 2001). As estruturas gerais dos bastonetes e dos cones são similares (Figura 8). Os bastonetes são células finas, alongadas e formadas por duas porções distintas. O segmento externo é constituído por microvesículas achatadas, que formam discos empilhados como se fossem moedas. Esse segmento está separado do restante da célula por uma constrição e separa o segmento externo do segmento interno (um cílio). O segmento interno é rico em glicogênio e há muitas mitocôndrias localizadas perto da constrição. As proteínas dos bastonetes são sintetizadas no segmento interno e migram para o segmento externo, no qual participam da constituição da membrana dos discos, local onde se encontra moléculas do pigmento visual. Os discos migram, gradualmente, para a extremidade dos bastonetes, onde se despregam, e são fagocitados e digeridos pelas células do epitélio pigmentar da retina (KOLB et al., 2001; WÄSSLE, 2004). No corpo celular dos bastonetes, o núcleo é circundado por pequena quantidade de citoplasma e está situado a uma distância considerável do segmento interno. O corpo celular continua formando o axônio do bastonete, que se estende dentro da camada plexiforme externa terminando numa área chamada esférula do bastonete e estabelece sinapse com neurônios bipolares e células horizontais (AMMERMÜLLER; KOLB, 1996; DYCE et al., 2010; LEITE et al., 2013).



**Figura 8.** Desenho esquemático da ultraestrutura dos cones e bastonetes. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os cones possuem um segmento externo em formato cônico e mais espesso que os bastonetes. Essas células possuem todas as estruturas semelhantes aos bastonetes. Porém, no segmento externo os discos empilhados, se originam de invaginações da membrana celular. Os axônios dos cones são maiores do que os axônios dos bastonetes e terminam numa estrutura chamada de pedículo do cone na camada plexiforme externa. Além disso, essas células possibilitam uma grande acuidade visual. Nos cones, a formação de novos discos se restringe ao período de crescimento (KOLB et al., 2001; WÄSSLE, 2004).

Estudos radioautográficos estabeleceram que as proteínas sintetizadas nos segmentos internos dos bastonetes e cones são transportadas, através do cílio de ligação, para a base dos segmentos externos. Nos bastonetes eles se incorporam aos novos discos, que são formados por pregueamento da membrana plasmática na base do segmento externo. Nos cones, as proteínas se incorporam a todos os discos do segmento externo (DACHEUX; RAVIOLA, 1994; CUNNINGHAM, 2010; DYCE et al., 2010; LEITE et al., 2013).

Nesses discos membranosos dos segmentos externos dos fotorreceptores estão presentes os pigmentos visuais. O pigmento visual localizado nos bastonetes é a rodopsina com valor de absorção máxima próximo de 500 nm responsável pela visão escotópica (visão em baixos níveis de luminosidade) (BOWMAKER, 1998). Por outro

lado, os cones apresentam quatro formas básicas de pigmentos visuais chamadas de opsinas. Uma classe sensível ao comprimento de onda longa a média (L) possibilitando detectar as cores que vão do verde ao vermelho (490 – 570 nm), um pigmento sensível ao comprimento de onda média (M) que corresponde ao verde (480 – 535 nm), uma classe sensível ao comprimento de onda curta (S) correspondendo do azul ao violeta (410 – 490 nm) e outra classe S correspondendo ao ultravioleta (355 – 440). Alguns animais possuem outros tipos de cones (PEICHL, 2005; BOWMAKER, 2008). Os valores de absorção máxima dos pigmentos visuais de um animal refletem as características fóticas de seu ambiente, e em diversas espécies, a faixa espectral das rodopsinas e/ou opsinas pode estar extremamente ajustada ao nicho ecológico que ocupam (JACOBS; ROWE, 2004; BOWMAKER, 2008).

O pigmento visual é constituído por uma proteína, a opsina, ligada a e um aldeído que absorve a luz, o 11-*cis* retinal, o qual quando um fóton com um determinado comprimento de onda chega a nível dos fotorreceptores, ele altera a configuração do pigmento deflagra uma cascata de eventos que geralmente leva a hiperpolarização do potencial de membrana. O resultado dessa hiperpolarização é uma diminuição da transmissão sináptica com os neurônios bipolares. O fóton causa uma inibição da transmissão sináptica, isto é, uma mensagem negativa (WÄSSLE et al., 2001; MASLAND, 2001).

No caso dos bastonetes quando ocorre a hiperpolarização eles liberam glutamato nas fendas sinápticas. Enquanto os cones respondem aos estímulos luminosos com hiperpolarização graduada, com alta liberação de glutamato em condições de escuro e reduzido pela luminosidade. Quando estimulados, os fotorreceptores operam em rede, com interconexões entre bastonete e bastonete, entre cone e cone e de forma mais fraca entre cone e bastonete. O fluxo de energia elétrica resultante da estimulação luminosa se faz de forma multidirecional, envolvendo vias centrípeta, centrífuga, lateral e recíproca (KOLB et al., 2001; WÄSSLE, 2004). A transmissão dos sinais gerados nos fotorreceptores para os neurônios de segunda ordem se faz através de alterações sinápticas químicas. Glutamato e outros neurotransmissores alteram a condutância dos canais de íons, e por mecanismos cálcio-dependentes e cálcio independentes provocam alterações no potencial de membrana das células pós-sinápticas. Dois tipos de células horizontais e oito tipos de células bipolares de cones estão sempre envolvidos com cada pedículo de cone. Dessa forma, na primeira sinapse da retina, a informação luminosa é distribuída para múltiplas vias (WÄSSLE, 2004).

## 2.10 Células Horizontais, Neurônios Bipolares e Células Amácrinas

A maioria dos mamíferos possuem dois tipos de células horizontais e suas funções são promover feedback inibitório com a liberação do neurotransmissor ácido gama aminobutírico (GABA) e provocam retroalimentação negativa nos fotorreceptores (WÄSSLE et al., 2001; MASLAND, 2001). Essas células estão espalhadas na porção basal da camada nuclear interna da retina e são divididas em horizontais do tipo A e do tipo B. As células horizontais do tipo B apresentam dendritos que conectam cones e axônios que conectam bastonetes, já as células do tipo A não possuem axônios e possui apenas uma grande arborização dendrítica conectando apenas cones. As células horizontais são responsáveis por acentuar e controlar a percepção de regiões mais claras e escuras e ajustam a iluminação através de um campo de bastonete. (KOLB et al., 2001; MASLAND, 2001).

Atualmente existem 12 tipos de neurônios bipolares, onde uma é específica para bastonetes e onze recebem informações apenas de cones. Cada célula bipolar expressa distintos tipos de receptores, canais iônicos e sistemas de sinalização intercelular. As células bipolares são divididos em células bipolares ON e células bipolares OFF de acordo com a resposta a luz (WÄSSLE et al., 1981; WÄSSLE et al., 1991; WÄSSLE, 2004; BUTZ et al., 2015). Os axônios desses neurônios terminam em diferentes porções da camada plexiforme interna e essa diferença de células ON e OFF é resultado da presença de diferentes receptores glutamatérgicos nos dendritos das células bipolares. Desta forma, na retina o estímulo é segregado em vias paralelas, a via ON, que responde ao aumento do brilho, e a via OFF, que responde à diminuição do brilho permitindo a percepção e acentuando a sensibilidade de contraste (MASLAND, 2001; KOLB et al., 2001; BALASUBRAMANIAN; STERLING, 2009; RODRIGUES, 2010; BUTZ et al., 2015).

Foram identificadas 30 tipos de células amácrinas. Estas células estão localizadas principalmente na porção apical da camada nuclear interna da retina. Um tipo de células amácrinas faz parte da via direta para a visão dos bastonetes, isto é, o impulso vai do bastonete para as células bipolares, para as células amácrinas e para as células ganglionares. Outro tipo de células responde no início do sinal visual contínuo, outro tipo responde ao deslocamento visual, outra responde as mudanças rápidas do ambiente escuro para o ambiente claro. Essas células são sensíveis principalmente à

direção da luz. Por fim, essas células analisam os sinais visuais antes que eles saiam da retina (COLLIN, 1987; GUYTON e HALL, 2006; JEON et al., 2007; RODRIGUES, 2010).

## **2.11 Células Ganglionares**

Atualmente existem aproximadamente 20 de células ganglionares. Essas células possuem seus dendritos voltados para a camada plexiforme interna e seus axônios formam a camada de fibras nervosas da retina e formam o nervo óptico na região do disco óptico (BROOKS et al., 1999). As células ganglionares caracterizam-se por apresentar um tamanho variado, mas geralmente, com corpos celulares de grandes e arborização dendrítica ampla. As células ganglionares exibem uma grande arborização dendrítica e baixa densidade de corpos celulares na região periférica da retina e uma pequena arborização dendrítica, porém alta densidade de corpos celulares na região central da retina. As células ganglionares tem características de respostas de centro ON e centro OFF, o qual a fisiologia para o processo de iluminação descrita é centro ON/periferia OFF, em contraste quando o centro OFF/periferia ON (WÄSSLE et al., 1991; KOLB et al., 2001). Após a transdução pelos fotorreceptores e transferência do impulso pelos neurônios bipolares, pode-se estimular pelo menos uma célula ganglionar de qualquer um dos tipos existentes, sendo que, cada qual é responsável por um aspecto da informação contido no sinal luminoso e excitada especificamente por alterações desses sinais. Essas células são as únicas que transmitem sinais visuais por meio de potencial de ação, elas enviam seus sinais para o sistema nervo central através do nervo óptico. Em contraste, os outros neurônios da retina conduzem seus sinais visuais por condução eletrônica, com fluxo direto da corrente eletrônica (GUYTON e HALL, 2006). Uma única célula ganglionar pode ser estimulada por vários fotorreceptores ou apenas por alguns. Assim, cada tipo de célula ganglionar é especializada em analisar os aspectos do feixe de luz, comprimento de onda, brilho, contraste, tamanho e movimento (HUGHES, 1981; WÄSSLE, 2004; RODRIGUES, 2010). Estas características potencializam a densidade dos elementos de transdução, portanto estão relacionadas à acuidade visual (HUGHES, 1977).

## 2.12 Especialização Retiniana: *Areae Centrales*, Fóvea e Faixa Visual

Estudos sobre a distribuição topográfica e densidade de células ganglionares e também de fotorreceptores na retina de vertebrados mostram que essas células apresentam especializações definidas pelo seu padrão de organização e localização. Assim, estudos sobre a organização topográfica das células ganglionares permitem estipular a área de maior acuidade visual na retina, e de como elas se relacionam com regiões do campo visual de interesse para os hábitos de vida de cada espécie (HUGHES, 1977; PETTIGREW et al. 1988; PEICHL, 2005; COLLIN, 2008; MOORE et al., 2012; VEILLEUX; KIRK, 2014). Três especializações retinianas são comumente relatadas em animais, incluindo *areae centrales*, faixa visual e fóvea.

A *areae centrales* é uma região circular que contém alta densidade de células ganglionares, fotorreceptores ou ambos. Foi identificado em numerosas espécies de vertebrados, como gatos, cães e teleósteos (STONE, 1965; COLLIN, 2008). A *areae centrales* é onde existe uma região central com uma área de densidade máxima de células ganglionares na retina e suas áreas adjacentes apresentam uma diminuição concêntrica na densidade dessas células (WALLS, 1942; HUGHES, 1977; COLLIN, 1999; MOORE et al., 2012). As localizações das *areae centrales* também estão relacionadas à posição dos olhos em relação à cabeça e a um elevado grau de visão frontal e binocular. Além disso, ela é encontrada principalmente no quadrante temporal da retina. Porém, em alguns animais a *areae centrales* pode estar localizada em outro quadrante ou até mesmo a retina apresentar mais de uma *areae centrales* (COLLIN, 2008; VEILLEUX; KIRK, 2014).

A fóvea caracteriza-se por ser uma depressão do tecido neural que se origina pelo afastamento centrífugo das células ganglionares e os interneurônios na camada nuclear interna para a região perifoveal de modo que a luz incide diretamente sobre os fotorreceptores (KIRK, 2004; COLLIN, 2008; COLLIN, 1999). Dois tipos de fóveas foram identificados em animais, uma tem uma parede de interneurônios com inclinação íngreme e estão presentes em aves e em alguns peixes e a outra é rasa e são encontradas em macacos e nos humanos (KIRK, 2004; COLLIN, 2008).

A faixa visual ou do inglês “visual streak” é uma especialização retiniana normalmente em forma de uma faixa horizontal ou estria ao longo do meridiano da retina. Ela é normalmente descrita como uma região em com alta densidade de células ganglionares, porém, com uma baixa variação na densidade celular ao longo da faixa

visual (PETTIGREW et al. 1988; COLLIN, 2008; MOORE et al., 2012). Adicionalmente a faixa visual, uma total ou parcial *areae centrales* é geralmente encontrada na região final do quadrante temporal da retina dentro da faixa visual (COLLIN, 2008; MOORE et al., 2012). Esta região da faixa visual frequentemente está associada com um espessamento da retina nessa área.

A organização e distribuição de células ganglionares e de fotorreceptores na retina são responsáveis por determinar os hábitos comportamentais e alimentares aos habitat que os animais vivem. Estudos mostram que essa área de faixa visual possui uma maior sensibilidade a luz, uma maior percepção de movimentos e permite um maior poder de resolução espacial (WALLS, 1942; COLLIN, 1999). Segundo Hughes (1977) uma faixa visual é comumente observada em espécies terrestres que vivem em campo aberto, cujos campos visuais se concentram principalmente no horizonte. Assim, essa especialização retiniana permite um campo visual panorâmico e detecção de objetos no horizonte sem movimento ocular excessivo, que é bastante importante para a vigilância de predadores. Espécies de mata fechada ou arborícolas, geralmente apresentam uma *areae centrales*, favorecendo assim uma alta sensibilidade e maior acuidade visual nesta área (HUGHES, 1977; PETTIGREW et al. 1988; COLLIN, 1999). Além disso, estudos comparativos entre vertebrados mostram que a distribuição e variações topográficas de células neuronais na retina estão relacionadas à ecologia visual e até mesmo a filogenia das espécies (JACOBS; ROWE, 2004).

### **2.13 Sistema Visual dos Morcegos**

A capacidade de ecolocalização está diretamente relacionando com o sistema visual. Em termos funcionais, em curtas distâncias, a ecolocalização apresenta informações mais detalhadas da presa ou obstáculos do que a visão (SUTHERS; WALLIS, 1970; EKLÖF; JONES, 2003; RYDELL; EKLÖF, 2003). Em um experimento de voo realizado com a espécie *P. discolor* dentro de um túnel foi avaliado a importância dos dois sistemas de orientação durante a aproximação de um objeto, descobriu-se que a espécie preferiu usar informações visuais com uma distância superiores a 40 cm do objeto (JOERMANN et al., 1988). Isso leva à conclusão de que o uso da visão é mais importante para percepção de objeto em médias e longas distâncias. Portanto, os morcegos usam a visão para encontrar abrigos (RUCZYNSKI et al. 2011), durante a migração e nas atividades de *homing* (GRIFFIN, 1970; WILLIAMS;

WILLIAMS, 1970), navegação diurna (LAYNE, 1967), captura de presas (BELL; FENTON, 1986; EKLÖF; JONES, 2003; RYDELL; EKLÖF, 2003), comportamento de evasão e fuga de predadores e obstáculos (CHASE; SUTHERS, 1969; GOULD 1977; CHASE 1981; KOAY et al., 2002; EKLÖF; JONES 2003; ORBACH; FENTON 2010), reconhecimento visual e percepção de formas (SUTHERS et al., 1969). Além disso, morcegos que possuem um sofisticado sistema de ecolocalização tendem a exibir um sistema visual menos desenvolvido como no caso dos morcegos insetívoros, enquanto aqueles que apresentam uma boa capacidade visual tendem a apresentar uma menor dependência da ecolocalização, por exemplo, morcegos frugívoros e nectarívoros que fazem uso das diferenças no brilho e na composição espectral para encontrar diferentes itens alimentares (NEUWEILER 2000; WINTER et al., 2003; MÜLLER et al., 2009). Além disso, existe uma relação entre os picos de atividade noturna e estratégias alimentares com as habilidades visuais dos morcegos (CHASE, 1981; RYDELL; EKLÖF, 2003; EKLÖF et al., 2014; GUTIERREZ et al., 2014).

Os olhos dos morcegos são adaptados às condições noturnas em que eles têm grandes superfícies de córnea e cristalino em relação ao tamanho do olho (SUTHERS; WALLIS, 1970). A retina dos morcegos ecolocalizadores é delgada e apresentam as 10 camadas usualmente descritas para mamíferos (NEUWEILER, 2000). Além dessas características, alguns trabalhos mostram que os morcegos apresentam uma visão dicromática devido à presença de dois tipos de cones, os que possuem a opsina (S) e os que apresentam a opsina (L), os quais estão relacionados à sensibilidade para comprimentos de ondas curtos e comprimentos de ondas médio/longos, respectivamente. Adicionalmente a isso, algumas espécies são capazes de enxergar na região ultravioleta do espectro (WANG et al., 2004; MÜLLER et al., 2007; MÜLLER et al., 2009; ZHAO et al., 2009; BOONMAN et al., 2014). (HOPE; BHATNAGAR, 1979; MÜLLER et al., 2009)

Os olhos desses animais são moldados para operar em baixos níveis de luz, o que resulta em uma pobre acuidade visual em comparação a outros mamíferos diurnos (SUTHERS; WALLIS, 1970; PETTIGREW et al. 1988; HEFFNER et al. 2001). Em geral, frugívoros e nectarívoros têm olhos maiores com melhor poder de capacidade visual em comparação com espécies insetívoras (JOLICOEUR; BARON, 1980; BLACKWOOD et al., 2010). A medição da acuidade visual é usada para estimar e acessar a habilidade de um animal em perceber detalhes visuais. A capacidade de

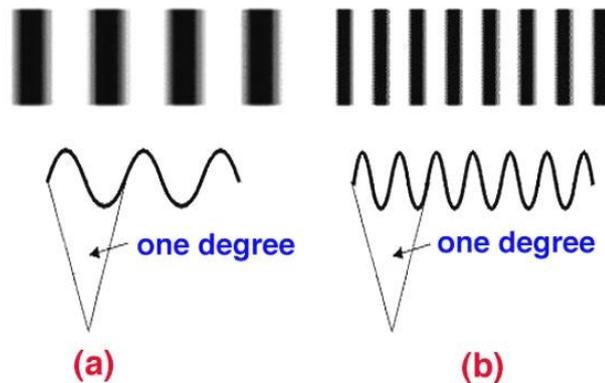
resolução espacial pode ser estimada tanto anatomicamente, pelo cálculo da densidade de células ganglionares da retina quanto por testes de resposta optomotor (PETTIGREW et al. 1988; HEFFNER et al. 2001; MÜLLER et al., 2007; ULLMANN et al., 2011). Geralmente, de acordo com o hábito de cada espécie, especialmente estratégia alimentar e local onde essas espécies vivem, a densidade e distribuição de neurônios podem variar na retina (HUGHES, 1977; COLLIN, 2008).

### **2.14 Acuidade Visual**

A acuidade visual é a capacidade de resolução espacial e desempenho funcional do sistema visual, ou seja, é o grau de aptidão do olho para identificar detalhes espaciais. Em outras palavras, é a capacidade de perceber a forma e o contorno dos objetos (OFRI, 2007). Em humanos, a acuidade visual pode ser examinada através da leitura da tabela de Snellen que envolve a visualização das letras em tamanho decrescente em um gráfico e, em seguida, essas letras, tamanho e forma são interpretadas no sistema nervoso central em conjunto com a elaboração verbal (BICAS, 2002). A acuidade visual dos seres humanos é geralmente expressa em dioptria ou em comparação com uma pessoa emétrepe, tal como 20/20 representa um olho emétrepe (visão normal, o qual forma as imagens de um objeto distante de maneira muito precisa na retina) e 20/40 representa miopia (visão para perto) (HOLLADAY, 1997; MESSIAS et al. 2010).

A acuidade visual é definida como o menor ângulo (mínimo ângulo de resolução) formado entre os detalhes de um objeto e sua imagem projetada na retina (SMITH; ATCHISON, 2007). A acuidade visual pode ser medida de diferentes maneiras, as principais notações utilizadas atualmente são: a decimal, a fração de Snellen, a frequência espacial e o logaritmo do ângulo visual (MESSIAS et al. 2010). Várias abordagens foram introduzidas para examinar a acuidade visual em animais, incluindo teste comportamental, estimativa através de parâmetros oculares e registro de potencial elétrico evocado a partir de neurônios retinianos e do córtex visual (PETTIGREW et al., 1988; OFRI, 2007). A acuidade visual dos animais pode ser expressa de duas maneiras, ciclos por grau ou minuto de arco (SMITH; ATCHISON, 2007). Quando a acuidade visual é expressa em ciclos por grau, 1 ciclo contém uma barra preta e uma barra branca (Figura 9). O número de ciclos dentro de 1 grau do

ângulo visual é o resultado da acuidade visual, cuja frequência espacial é variada até que as listras deixem de ser visíveis. Assim, quanto mais ciclos um animal pode ver em 1 grau de ângulo visual, maior a acuidade visual desse animal (BICAS, 2002; OFRI, 2007).



**Figura 9.** A frequência espacial é a medida do número de ciclos formados por grau de ângulo visual. Cada ciclo é formado por uma barra preta e uma branca e a unidade de medida resultante é de (ciclos/grau). Fonte: <http://webvision.med.utah.edu/>. Acesso em 25/01/2017.

A acuidade visual pode ser influenciada por fatores ópticos e neurais e também está altamente correlacionada à ecologia visual e comportamental de cada animal (HUGHES, 1977; PETTIGREW et al., 1988; OFRI, 2007; LISNEY; COLLIN, 2008). Fatores ópticos, como o nível de difração, iluminação e contraste da luz, o poder refrativo das córneas e do cristalino e o tamanho das pupilas, influenciam significativamente a acuidade visual alterando a quantidade de luz entregue na retina. A limitação neural da acuidade visual é determinada pela densidade de fotorreceptores e de células ganglionares, além do local de estimulação na retina (SMITH; ATCHISON, 2007; OFRI, 2007).

A determinação da acuidade visual através de parâmetros anatômicos oculares é também um método usado em muitas espécies de animais, inclusive para morcegos (HUGHES, 1977; PROVIS, 1979; RAPAPORT; STONE, 1984; BELL; FENTON; 1986; COLLIN; PETTIGREW, 1981; OYSTER et al., 1981; COLLIN, 1987; PETTIGREW et al., 1988; HEFFNER et al., 2001; MÜLLER et al., 2007; COLLIN, 2008; LISNEY; COLLIN, 2008; SHINOZAKI et al., 2010; ULLMANN et al., 2011; COIMBRA et al., 2012; LISNEY et al., 2012; SCHLAMP et al., 2013; HAUZMAN et al., 2014; HARAHUSH et al., 2014; COIMBRA et al., 2015; COIMBRA et al., 2017).

Medindo a distância focal do olho e a densidade máxima de células ganglionares na retina, é possível estimar o limite superior, ou limite de corte, da acuidade visual em

animais por meio do teorema de amostragem (PETTIGREW et al., 1988). Além disso, a estimativa da acuidade visual a partir do pico de densidade células ganglionares da retina em gatos mostraram resultados semelhantes à estimativa de teste comportamental e com testes do potencial evocado cortical (JACOBSON et al., 1976; HARRIS, 1978; STONE, 1978).

Portanto, a acuidade visual ou capacidade de resolução espacial é calculada seguindo os métodos de Williams; Coletta (1987) e Pettigrew et al. (1988). Primeiramente, a distância nodal posterior (PND) do olho deve ser estabelecida usando o método proposto por Pettigrew et al. (1988). Eles estabeleceram que o comprimento axial do olho deve ser multiplicado por 0,52. Este valor é uma constante relacionada à razão média entre PND em relação ao comprimento axial para olhos de espécies noturnas, incluindo microquirópteros. Em contraste, 0,67 é a constante relacionada à razão média entre PND em relação ao comprimento axial para olhos de espécies diurnas. Além disso, para estimar a acuidade visual a partir da maior densidade de células ganglionares da retina, o fator de ampliação da retina (RMF) precisa ser calculado primeiro. O RMF é a distância linear sobre a retina que subentende 1°. Assim, o RMF pode ser calculado de acordo com a seguinte fórmula (PETTIGREW et al., 1988):

$$\text{RMF} = \frac{2\pi * \text{PND}}{360}$$

Finalmente, o RMF deve ser usado para estimar o valor de acuidade visual. Portanto, a acuidade visual é o número máximo ou a maior densidade de células ganglionares da retina por grau linear (ciclos/grau). Assim, o valor de acuidade visual deve ser calculado através do limite Nyquist de resolução espacial seguindo a seguinte equação (WILLIAMS; COLETTA, 1987):

$$\text{Fn} = \frac{\text{RFM}}{2} \sqrt{\frac{2D}{\sqrt{3}}}$$

Onde, Fn é a maior frequência espacial que pode ser detectada em condições ótimas de luz e D representa a maior densidade de células ganglionares por milímetro quadrado (CGR/mm<sup>2</sup>). Assim, a acuidade visual é estabelecida em ciclos por grau (ciclos/grau)

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Realizar uma análise histomorfométrica da retina e determinar o valor de acuidade visual de três espécies de morcegos do gênero *Artibeus*: *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus*.

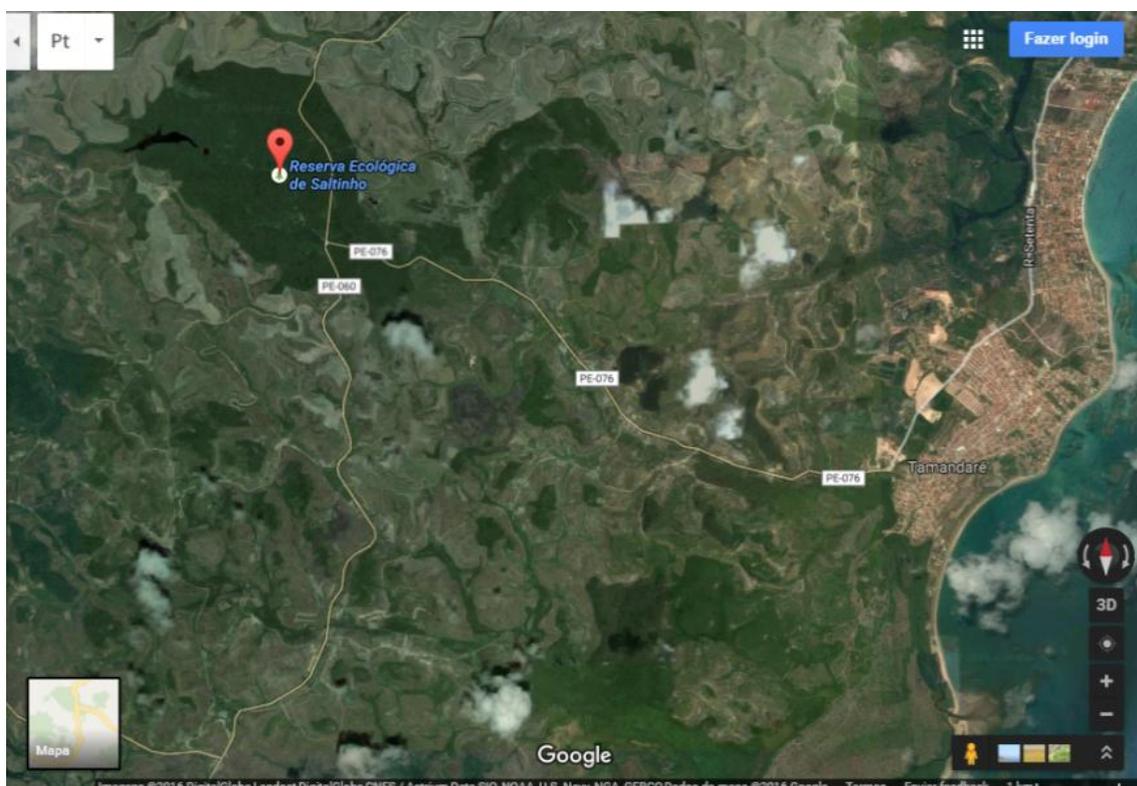
#### 3.2 Objetivos específicos

- 3.2.1 Mensurar a espessura total e de sete camadas retinianas: Segmentos externos e internos dos fotorreceptores; camada nuclear externa; camada plexiforme externa; camada nuclear interna; camada plexiforme interna; camada de células ganglionares e camada de fibras nervosas nas regiões centrais e periféricas da retina de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*.
- 3.2.2 Comparar os dados histomorfométricos obtidos das regiões centrais e periféricas da retina de cada espécie e entre os morcegos estudados.
- 3.2.3 Criar um mapa topográfico de distribuição e densidade de células ganglionares da retina das três espécies.
- 3.2.4 Estabelecer os valores de acuidade visual a partir da contagem de células ganglionares da retina.
- 3.2.5 Relacionar a acuidade visual das respectivas espécies aos seus hábitos alimentares e o sistema de ecolocalização.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Captura dos morcegos

No total, 7 morcegos machos adultos da espécie *A. lituratus*, 7 morcegos machos adultos da espécie *A. planirostris* e 5 morcegos machos adultos da espécie *A. obscurus* foram capturados aleatoriamente e usados nesse estudo. Os espécimes foram coletados em um fragmento de Mata Atlântica da Reserva Biológica (REBIO) de Saltinho – Pernambuco, Brasil (Figura 10).



**Figura 10.** Mapa da Reserva Biológica (REBIO) de Saltinho (08° 44'13" e 08°43'09" - Latitude Sul, 35°10'11" e 35°11'02" - Longitude Oeste) – Pernambuco, Brasil. Fonte: Google Maps: <https://www.google.com.br/maps>. Criado em: 15/01/2017.

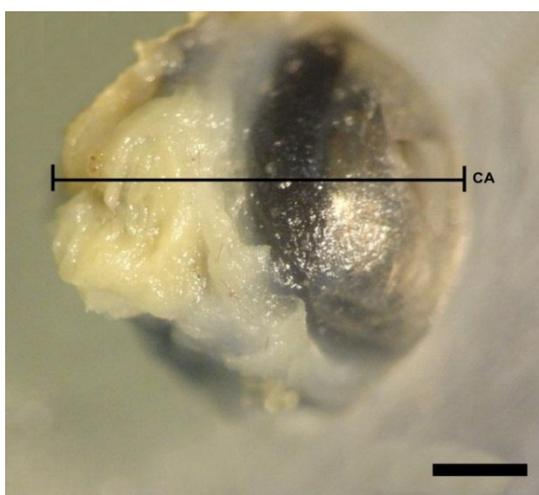
Todos os morcegos foram capturados por 10 redes de neblina (12 m de comprimento x 3 m de altura) durante duas noites por mês entre dezembro de 2014 e janeiro de 2015. Em cada dia de captura as redes eram estendidas às 17h00min e fechadas exatamente às 00h00min.

As coletas foram autorizadas pelo ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, com o seguinte número de registro no SISBIO – Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade: 26531-3 (Anexo 1). Além

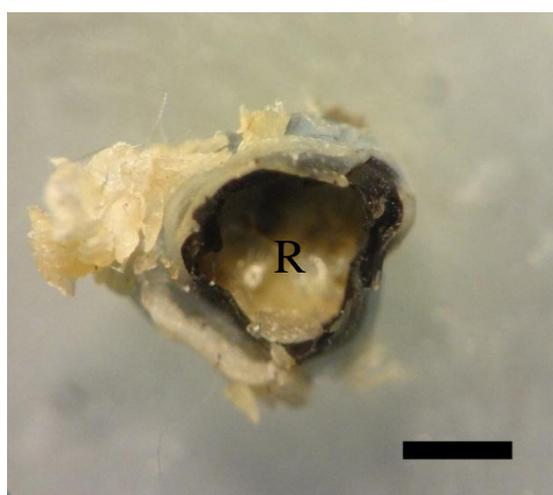
disso, o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEUA da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE com o seguinte número de protocolo: 23076.040931/2014-76 (Anexo 2).

#### 4.2 Enucleação dos olhos

Após cada captura, ainda no local de coleta, os animais foram anestesiados na região intraperitoneal com o fármaco pentobarbital sódico em uma concentração de  $40\text{mg/kg}^{-1}$ . Em sequência, os animais foram submetidos à eutanásia, para isso foi aplicada uma solução saturada de cloreto de potássio (MORAIS et al., 2013). Antes dos olhos terem sido enucleados uma incisão radial foi feita no polo dorsal da córnea usando um bisturi. Ambos os olhos foram extraídos da órbita por meio de incisões laterais na gordura periorbital usando um bisturi e uma tesoura microcirúrgica. Assim, os olhos foram separados dos músculos extrínsecos e da gordura periorbital, preservando também parte do nervo óptico (MOSHFEGHI et al., 2000; ULLMANN et al., 2011). Subsequentemente, o comprimento axial dos olhos (CA) foi medido utilizando um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm (Figura 11). Por fim, dois olhos direitos de cada espécie foram hemidissecados, a córnea e a íris foram cortadas e removidas, assim como o cristalino e o corpo vítreo. Além disso, foi feito um corte radial na região dorsal dos olhos para orientação e determinação dos quadrantes ocular (Figura 12) (ULLMANN et al., 2011).



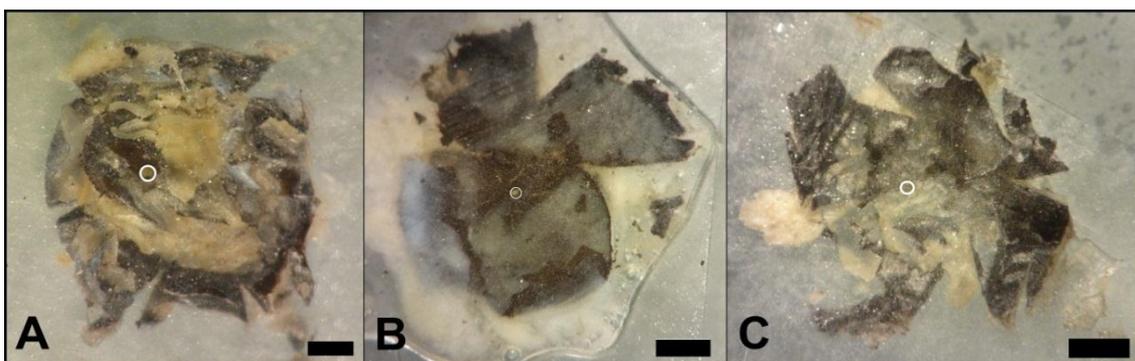
**Figura 11.** Olho esquerdo de *A. lituratus*. CA = Comprimento Axial do olho. Barra de escala = 1 mm.



**Figura 12.** Olho direito hemidissecado de *A. obscurus*. R = Retina; Barra de escala = 1 mm.

### 4.3 Análise histológica: processamento e preparação do tecido

Depois de enucleados, todos os olhos foram fixados, durante 24 horas, em formalina a 10% neutra tamponada (NBF) e, posteriormente, conservados em álcool a 70% e glicerinado a 5%. Na sequência, foram processados seguindo a técnica histológica de rotina. Esses órgãos foram impregnados em Paraplast e os blocos foram cortados no micrótomo em cortes seriados com espessura de 4  $\mu\text{m}$ . As secções sempre começaram a partir do eixo temporal até eixo nasal tanto nos olhos direitos quanto nos olhos esquerdos. As lâminas histológicas produzidas foram coradas por Hematoxilina – Eosina e analisadas em microscópio óptico (BEHMER et al., 2003). Além disso, a retina de dois olhos direitos de cada espécie foram hemidissecadas para a determinação da área retiniana (Figura 13).



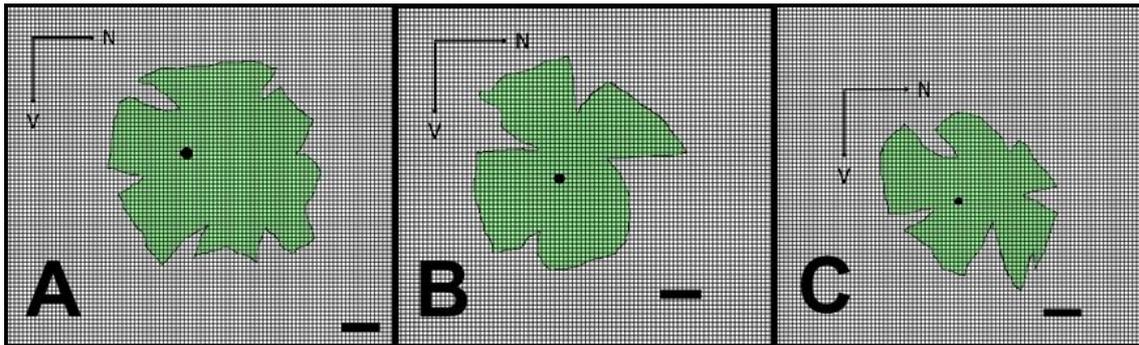
**Figura 13.** Olhos hemidissecadas para determinação da área retiniana. A. *lituratus* (A), *A. planirostris* (B) e *A. obscurus* (C). Círculo branco = Cabeça do nervo óptico; Barra de escala = 1 mm.

### 4.4 Topografia das células ganglionares e análise histomorfométrica da retina

Para contagem e mapeamento da topografia de células ganglionares da retina (CGR) foram realizadas várias fotomicrografias com aumento total de 400 x em cada quadrante na retina central e periférica apenas dos olhos direitos dos animais. As fotomicrografias foram obtidas através do programa de computador *ScopePhoto* por uma câmera de captura digital (Moticam 2300), de 3,0 megapixels, acoplada a um microscópio óptico (Nikon E-200). Portanto, um esquema de amostragem sistemático foi utilizado para mapear a distribuição e a densidade de CGR na camada de células ganglionares da retina (ULLMANN et al., 2011; LISNEY et al., 2012; COIMBRA et

al., 2012; COIMBRA et al., 2017). Em primeiro lugar, foi estabelecido que os campos de imagens entre 0 e 2000  $\mu\text{m}$  a partir da cabeça do nervo óptico foram considerados parte da retina central. Por outro lado, a retina periférica foi estabelecida como regiões superiores a 2000  $\mu\text{m}$  da cabeça do nervo óptico (SCHLAMP et al., 2013). As contagens de CGR foram realizadas utilizando uma distância estabelecida de 100 x 100  $\mu\text{m}$  nos cortes seriados da retina de cada olho. Para isso, 25 cortes foram fotografados a cada 100  $\mu\text{m}$  na região periférica e a cada 50  $\mu\text{m}$  na região central da retina, sempre começando do quadrante temporal para o quadrante nasal, adaptado de Ullmann et al. (2011) e Harahush et al. (2014). Todas as mensurações e contagens foram realizadas utilizando o software ImageJ versão 1.44 (*Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA*). Todas as CGR dentro da distância estabelecida para a contagem foram incluídas. Para distinguir as CGR de outros neurônios utilizou-se um critério citológico, onde, essas células estavam localizadas na camada ganglionar da retina e sempre exibiram um tamanho grande e irregular, um núcleo bem corado com um nucléolo proeminente e grânulos no citoplasma (HUGHES, 1981; COLLIN, 1988; COLLIN; PETTIGREW, 1988; COIMBRA et al., 2012). Por outro lado, as células amácrinas exibem uma forma pequena e circular com manchas escuras, enquanto que as células gliais são alongadas, pequenas e finas (COLLIN, 1988).

Finalmente, para calcular a acuidade visual e mapear o padrão topográfico de distribuição e densidade de CGR na retina das três espécies de *Artibeus* estudadas, as contagens de células foram convertidas de número total de CGR/100  $\mu\text{m}^2$  em número total de CGR/1  $\text{mm}^2$  (Figura 14). Assim, para criar os mapas topográficos, as regiões retinianas com densidade de CGR variando em até 2000 células foram agrupadas e ajustadas em blocos em um gráfico de contorno de isodensidade através do software ImageJ usando a cabeça do nervo óptico como referência inicial (ULLMANN et al., 2011; MOORE et al., 2014; GARZA-GISHOLT et al., 2015). Além disso, o mapa topográfico foi finalizado usando o Adobe Illustrator CS6 (Adobe Systems Incorporated). Por fim, para estimar o número total de CGR na retina, a média da densidade de CGR de cada contorno foi multiplicada pela sua área e assim, o resultado do número de células de cada área foi somado um com os outros estabelecendo o número total de CGR na retina das três espécies de morcegos (HARAHUSH et al., 2014).



**Figura 14.** Grade milimétrica da retina das três espécies de morcegos com área de  $100 \mu\text{m}^2$  feita pelo programa imageJ. *A. lituratus* (A), *A. planirostris* (B) e *A. obscurus* (C). V = Quadrante ventral; N = Quadrante nasal; Ponto preto = Cabeça do nervo óptico; Barra de escala = 1 mm.

Adicionalmente, as mensurações histomorfométricas foram realizadas através das fotomicrografias das secções transversais da retina (olhos esquerdos) em aumento total de 400 x. As fotomicrografias foram obtidas utilizando os mesmos dispositivos de captura de imagens para contagem de CGR. Portanto, a espessura total da retina e sete camadas retinianas foram medidas em micrômetro ( $\mu\text{m}$ ) usando o software ImageJ. As camadas retinianas medidas foram: (PS) Segmentos externos e internos dos fotorreceptores; (ONL) camada nuclear externa; (OPL) camada plexiforme externa; (INL) camada nuclear interna; (IPL) camada plexiforme interna; (GCL) camada de células ganglionares e (NFL) camada de fibras nervosas (CHAN et al., 2012). Assim, dez fotomicrografias foram consideradas para cada quadrante na retina central e periférica e os resultados foram comparados entre as três espécies.

#### 4.5 Estimativa de acuidade visual

A acuidade visual ou capacidade de resolução espacial foi calculada seguindo os métodos de Williams; Coletta (1987) e Pettigrew et al. (1988). Primeiramente, a distância nodal posterior (PND) do olho foi estabelecida usando o método proposto por Pettigrew et al. (1988). Eles estabeleceram que o comprimento axial do olho deve ser multiplicado por 0,52. Este valor é uma constante relacionada à razão média entre PND em relação ao comprimento axial para olhos de espécies noturnas, incluindo microquirópteros. Além disso, para estimar a acuidade visual a partir da maior densidade de células ganglionares da retina, o fator de ampliação da retina (RMF) precisa ser calculado primeiro. O RMF é a distância linear sobre a retina que subentende

1°. Assim, o RMF foi calculado de acordo com a seguinte fórmula (PETTIGREW et al.,1988):

$$\text{RMF} = \frac{2\pi \cdot \text{PND}}{360}$$

Finalmente, o RMF foi usado para estimar o valor de acuidade visual para as três espécies de *Artibeus*. Portanto, a acuidade visual é o número máximo ou a maior densidade de células ganglionares da retina por grau linear (ciclos/grau). Assim, o valor de acuidade visual foi calculado através do limite Nyquist de resolução espacial seguindo a seguinte equação (WILLIAMS; COLETTA, 1987):

$$\text{Fn} = \frac{\text{RFM}}{2} \sqrt{\frac{2D}{\sqrt{3}}}$$

Onde, Fn é a maior frequência espacial que pode ser detectada em condições ótimas de luz e D representa a maior densidade de CGR por milímetro quadrado (CGR/mm<sup>2</sup>). Assim, a acuidade visual foi calculada em ciclos por grau (ciclos/grau).

#### 4.6 Análise estatística

As médias dos valores obtidos em cada parâmetro analisado nas três espécies foram submetidas ao teste *t* de *Student* e análise de variância (ANOVA) usando o software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, SPSS Inc. Chicago, EUA) versão 15.0. Os resultados foram expressos como média ± DP (desvio padrão). Assim, os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

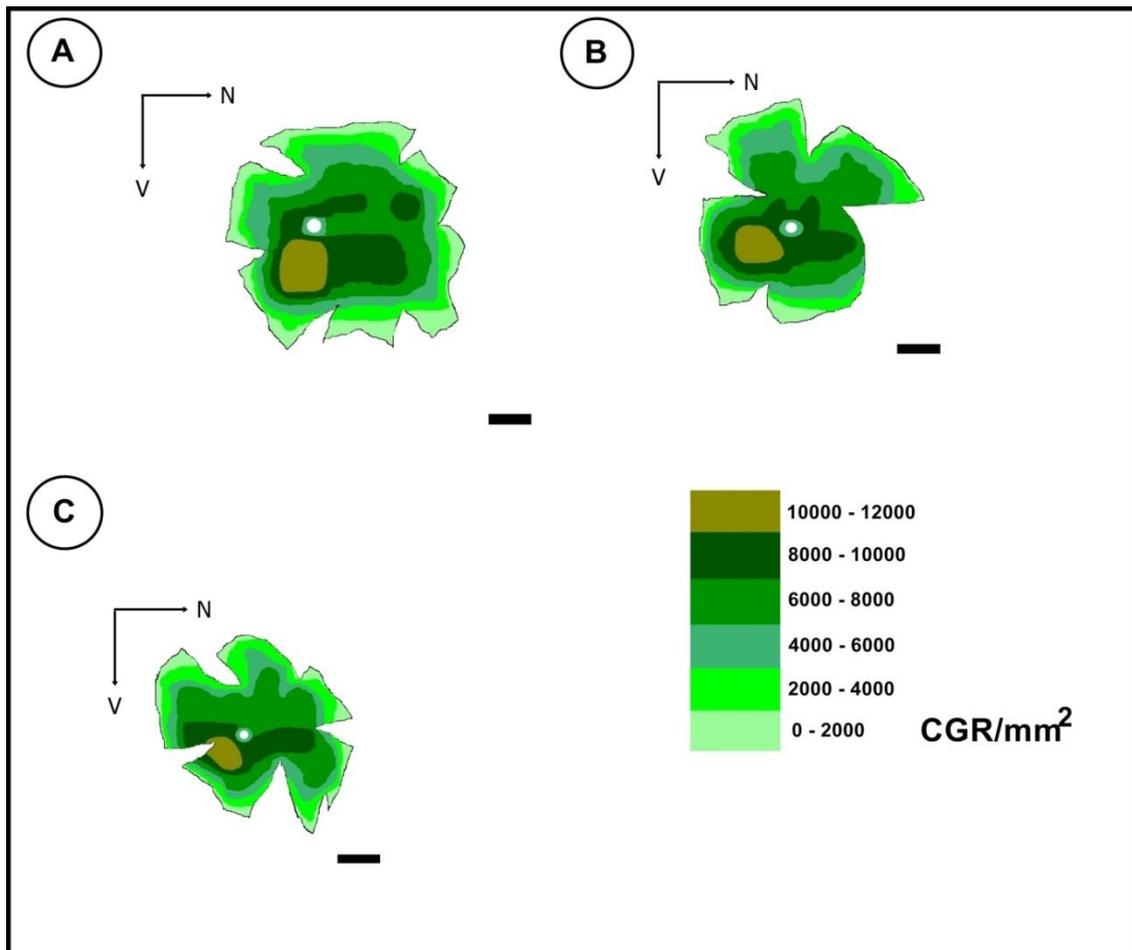
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Comprimento axial do olho e área retiniana

As mensurações anatômicas do globo ocular das três espécies de morcegos mostraram que *A. lituratus* possuem os maiores olhos, enquanto *A. obscurus* exibem os menores globos oculares dentre as três espécies. Os valores do comprimento axial dos olhos (média entre os olhos direitos e esquerdos) estão sendo mostrados na tabela 1. As retinas das três espécies são extensas e revestem a região interna do segmento posterior do globo ocular até a região da *ora serrata*. Assim, a área da retina da espécie *A. lituratus* é significativamente maior ( $p < 0,001$ ) entre essas três espécies com aproximadamente ( $18,96 \text{ mm}^2 \pm 0,21$ ), enquanto a área retiniana da espécie *A. planirostris* é ( $14,23 \text{ mm}^2 \pm 0,14$ ) e a retina de *A. obscurus* cobre cerca de ( $11,39 \text{ mm}^2 \pm 0,27$ ) da região posterior do globo ocular.

### 5.2 Distribuição das células ganglionares na retina

A densidade de células ganglionares foi significativamente maior ( $p < 0,001$ ) na região central da retina para as três espécies do gênero *Artibeus*, especialmente, na região logo abaixo do disco óptico. Assim, a maior concentração de CGR foi observada na região inferotemporal da retina para as três espécies estudadas (Figura 15). Além disso, o número total de CGR de cada espécie foi calculado e os resultados estão expressos na tabela 1. Nenhuma depressão foveal na retina foi identificada. Porém, a maior concentração de CGR encontrada na retina das três espécies é relativamente uma área circular sem depressão aparente caracterizando-se como uma *areae centrales*. Por outro lado, uma faixa visual horizontal foi verificada estendendo-se ao longo do eixo temporal-nasal na retina dos três morcegos. Assim, o pico de densidade de CGR está localizado dentro da faixa visual próximo a cabeça do nervo óptico. Adicionalmente, a espécie *A. lituratus* exibiu também uma estreita faixa visual, localizada logo acima da cabeça do nervo óptico, estendendo-se desde o quadrante temporal até o quadrante nasal. Além do mais, a retina dessa espécie apresentou uma área circular com uma alta densidade de CGR no quadrante superonasal. Similarmente, a espécie *A. planirostris* exibiu uma elevada concentração de CGR acima do disco óptico, contínuo com a faixa visual horizontal (Figura 15).



**Figura 15.** Mapa topográfico representando a distribuição de células ganglionares na retina de *A. lituratus* (A), *A. planirostris* (B) e *A. obscurus* (C) (retinas dos olhos direitos). As células ganglionares apresentaram uma densidade máxima de aproximadamente 11300/mm<sup>2</sup>, 10800/mm<sup>2</sup> e 10700/mm<sup>2</sup> para as espécies *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*, respectivamente. Para as três espécies, a área de maior densidade celular foi verificada inferiormente a cabeça do nervo óptico na região central da retina e a maior concentração de CGR está localizada na região inferotemporal (área marrom). As retinas de todas as três espécies exibiram especializações em forma de faixa visual. Além disso, a retina da espécie *A. lituratus* apresenta uma faixa visual acima do nervo óptico e uma área circular com uma grande densidade de CGR presente no quadrante nasal. V = ventral; N = nasal; Ponto branco = Cabeça do nervo óptico; Barra de escala = 1 mm.

### 5.3 Acuidade visual

Assumindo como base a maior densidade de CGR em um local específico da retina, a estimativa de resolução espacial ou acuidade visual foi estabelecida para as três espécies. Portanto, a densidade máxima de CGR foi encontrada na região inferotemporal na retina dos três morcegos. Assim, para estabelecer os valores de acuidade visual, o (RMF) foi primeiramente calculado de acordo com Pettigrew et al. (1988) onde, seu resultado junto com o número máximo de CGR por milímetro quadrado foram usados para calcular o limite superior de acuidade visual através do

limite Nyquist de resolução espacial seguindo a equação de Williams; Coletta (1987). Os valores de acuidade visual estão descritos na tabela 1. Assim, a espécie *A. lituratus* apresentou o maior valor de acuidade visual quando comparado com as outras duas. Por outro lado, *A. obscurus* apresentou a menor acuidade visual e a espécie *A. planirostris* mostrou um valor intermediário.

**Tabela 1.** Base de dados para a acuidade visual de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*.

Espécies	CA ± DP (mm)	Estimado PND (mm)	RMF (µm/grau)	Área retiniana ± DP (mm <sup>2</sup> )	Número total de CGR	Densidade máxima de CGR/mm <sup>2</sup>	Estimada acuidade visual (ciclos/grau)
<i>Artibeus lituratus</i>	3,72 ± 0,04	1,93	33,66	18,96 ± 0,21	106 215	11 300	1,9
<i>Artibeus planirostris</i>	3,55 ± 0,04	1,84	31,57	14,23 ± 0,14	82 800	10 800	1,7
<i>Artibeus obscurus</i>	2,97 ± 0,06	1,54	26,86	11,39 ± 0,27	65 025	10 700	1,5

PND foi calculado multiplicando o comprimento axial do olho por 0,52. CA = Comprimento Axial do olho; PND = Distância Nodal Superior; RMF = Fator de Ampliação da Retina; CGR = Células Ganglionares da Retina; DP = Desvio Padrão.

#### 5.4 Morfometria retiniana

Para todas as três espécies de *Artibeus* estudadas foram identificadas as 10 camadas da retina descritas para mamíferos (Figura 16). Além disso, as retinas dessas três espécies são avasculares e não apresentaram *tapetum lucidum* em nenhum quadrante retiniano.

Portanto, quando foram comparadas as espessuras de todos os parâmetros analisados entre a região central e a região periférica da retina, verificou-se que a espessura da região central da retina foi significativamente maior ( $p < 0,001$ ) em todos os parâmetros mensurados, com exceção da camada plexiforme externa (OPL) o qual sua espessura foi significativamente maior na região periférica ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

Além disso, a espessura total da retina e as espessuras da maioria das camadas mensuradas diferiram significativamente quando comparadas entre as espécies (Tabela 2). Portanto, a espécie *A. lituratus* apresentou a maior espessura total na região central da retina em comparação com as outras duas, enquanto *A. obscurus* apresentou a maior

espessura na região periférica da retina. O epitélio pigmentar da retina foi observado nas três espécies de morcegos, sendo formado por uma camada simples de células cúbicas preenchidas com grânulos de melanina. A camada de fotorreceptores apresentaram os dois tipos de células, bastonetes e cones. Essa camada apresenta uma dominância de bastonete, principalmente na região periférica da retina, onde seus segmentos externos mostram-se finos e longos. Por outro lado, os cones foram verificados em abundância na região central da retina apresentando seus segmentos externos, largos e curtos (Figura 16 - A) com progressiva diminuição ao decorrer para a região periférica (Figura 16 - C). A espessura da camada dos segmentos externos e internos dos fotorreceptores mostrou-se maior para a espécie *A. lituratus* na região central, enquanto na região periférica não houve diferença significativa entre a espessura dessa camada para as três espécies (Tabela 2). A membrana limitante externa, que é formada por expansões da membrana plasmática das células de Müller, mostrou-se bem evidente na retina dos três morcegos.

A camada nuclear externa é formada pelos núcleos dos fotorreceptores. Essa camada foi observada mais espessa tanto na região central quanto na região periférica para a espécie *A. lituratus*, sendo formada por aproximadamente 10 camadas de núcleos de fotorreceptores. Por outro lado, a espécie *A. planirostris* apresentou uma espessura intermediária com cerca de 9 camadas de núcleos de fotorreceptores e a espécie *A. obscurus* apresentou a menor espessura nessa área com aproximadamente 7 camadas de núcleos de fotorreceptores (Figura 16). Em contraste, a camada plexiforme externa mostrou-se significativamente mais espessa na região periférica da retina dos três *Artibeus*.

A camada nuclear interna é formada pelos núcleos das células horizontais, células bipolares, células amácrinas e núcleos das células de Müller. Porém, é necessária uma análise imunohistoquímica para a diferenciação dessas células. Contudo, a espécie *A. lituratus* exibiu a menor espessura para essa camada e *A. planirostris* mostrou a maior espessura dessa área retiniana. Em seguida, a camada plexiforme interna na região central e periférica da retina mostrou-se ligeiramente mais espessa para a espécie *A. obscurus* em comparação com as outras duas.

A camada de células ganglionares apresentou apenas uma camada de células com diferentes tamanhos celulares tanto na região central quanto na região periférica das três espécies de *Artibeus*. Assim, essas células exibiram um tamanho grande e irregular, um núcleo bem corado com um nucléolo proeminente e grânulos no

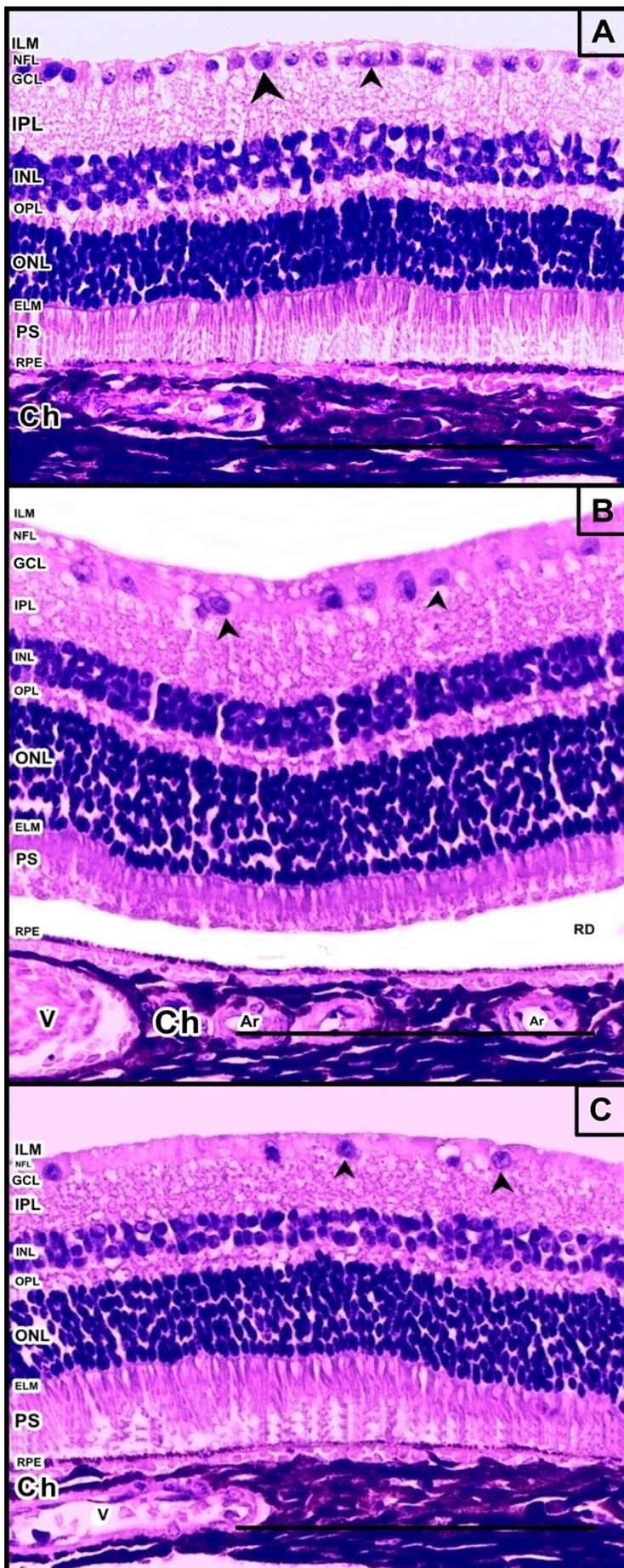
citoplasma (Figura 16). Porém, como foi observado no mapa topográfico de densidade e distribuição dessas células (Figura 15), a área com maior densidade de células ganglionares está localizada na região central da retina, mais especificamente no quadrante inferotemporal retiniano. Assim, uma alta densidade de células ganglionares foi verificada na região central da retina (Figura 16 – A), uma densidade moderada de células ganglionares foi verificada na transição entre as regiões centrais e periféricas da retina (Figura 16 – B) e uma baixa densidade foi observada na região periférica da retina das três espécies de morcegos estudados (Figura 16 – C).

Finalmente, a última camada mensurada foi à camada de fibras nervosas. Essa camada é formada pelos axônios das células ganglionares e que convergem e se unem para formar o nervo óptico na região do disco óptico (Figura 15). Essa camada mostrou-se significativamente mais espessa na região central da retina das três espécies de morcegos. Em comparação, a espécie *A. lituratus* exibiu a maior espessura dessa camada nessa área. Por outro lado, não houve diferenças significativas entre as espessuras dessa camada na região periférica quando comparada entre as três espécies (Tabela 2). Por fim, as retinas das três espécies exibiram uma membrana limitante interna bem definida (Figura 16).

**Tabela 2.** Espessuras das camadas centrais e periféricas das retinas de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*.

Parâmetros	<i>Artibeus lituratus</i>		<i>Artibeus planirostris</i>		<i>Artibeus obscurus</i>	
	Central	Periférica	Central	Periférica	Central	Periférica
<b>Espessura Total da retina*</b>	147,01 ± 1,46	131,13 ± 0,81	128,29 ± 0,66	124,79 ± 0,79	137,79 ± 2,15	132,18 ± 1,98
<b>PS</b>	36,07 ± 1,04	23,98 ± 1,31 (a) (b)	27,14 ± 0,73	23,69 ± 0,72 (a) (c)	26,51 ± 1,57	23,60 ± 1,05 (b) (c)
<b>ONL</b>	46,66 ± 2,14	40,32 ± 0,95	42,87 ± 0,75	36,09 ± 1,04	38,23 ± 2,2	33,62 ± 1,54
<b>OPL</b>	7,31 ± 0,41	8,39 ± 0,77	9,50 ± 0,17	15,95 ± 0,41	10,32 ± 1,08	13,59 ± 1,1
<b>INL</b>	20,95 ± 0,47	16,60 ± 0,93	22,81 ± 0,59	15,96 ± 0,41	22,25 ± 1,80	18,23 ± 1,51
<b>IPL</b>	24,07 ± 0,35 (d)	21,19 ± 0,96	24,12 ± 0,42 (d)	17,63 ± 0,75	25,57 ± 1,60	23,96 ± 1,30
<b>GCL</b>	8,99 ± 0,50 (e) (f)	7,28 ± 0,63 (g)	9,17 ± 0,44 (e) (h)	7,73 ± 0,71	8,95 ± 0,58 (f) (h)	7,33 ± 0,64 (g)
<b>NFL</b>	10,09 ± 0,61	5,92 ± 0,36 (i) (j)	8,45 ± 0,66	5,82 ± 0,33 (i) (k)	7,63 ± 0,70	5,84 ± 0,39 (j) (k)

Espessura das camadas da retina (em  $\mu\text{m} \pm \text{DP}$ ). PS, Segmentos externo e interno dos fotorreceptores; ONL, camada nuclear externa; OPL, camada plexiforme externa; INL, camada nuclear interna; IPL, camada plexiforme interna; GCL, camada de células ganglionares e NFL, camada de fibras nervosas. DP = Desvio padrão. Asterisco = A espessura total da retina foi medida sem contar o epitélio pigmentar da retina. Ao comparar letras iguais na mesma linha comprova-se que não houve diferença significativa entre os pares dos grupos correspondentes ao nível de 5% através de teste *t* de student. Valores de p: a = 0,195; b = 0,207; c = 0,678; d = 0,490; e = 0,062; f = 0,736; g = 0,758; h = 0,058; i = 0,139; j = 0,330; k = 0,809.



**Figura 16.** Fotomicrografia da retina de *A. obscurus* (A) de *A. lituratus* (B) e de *A. planirostris* (C). ILM: Membrana limitante interna; NFL: Camada de fibras nervosas; GCL: Camada de células ganglionares; IPL: Camada plexiforme interna; INL: Camada nuclear interna; OPL: Camada plexiforme externa; ONL: Camada nuclear externa; ELM: Membrana limitante externa; PS: Segmentos externos e internos dos fotorreceptores; RPE: Epitélio pigmentar da retina; RD: Deslocamento da retina; Ch: Coroide; V: Vênula; Ar: Arteríola; Cabeças de seta: Observar uma alta densidade de Células Ganglionares em (A), uma densidade moderada de Células Ganglionares em (B) e uma baixa densidade de Células Ganglionares em (C). Coloração: H.E. Barra de escala: 100  $\mu$ m.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Distribuição de células ganglionares na retina e acuidade visual

De acordo com o mapa topográfico de isodensidade de células ganglionares da retina das três espécies de morcegos *Artibeus*, foi possível verificar a presença de uma faixa visual horizontal com alta concentração de células ganglionares. Essa faixa visual horizontal estende-se ao longo do eixo temporonasal e cada espécie estudada tem uma forma e distribuição particular. A densidade máxima de CGR está localizada dentro da faixa visual próxima à cabeça do nervo óptico na região inferotemporal na retina de *A. lituratus*, *A. planirostris* e *A. obscurus*. Esta característica é um tipo de especialização retiniana encontrada nas três espécies de morcegos estudadas e segundo Hughes (1977) e Collin (1999) essas áreas de especializações retinianas são responsáveis pelo aumento da resolução espacial em relação à percepção visual do horizonte. Essa é a primeira vez que é descrita um tipo de especialização retiniana para esses morcegos.

Espécies que possuem uma faixa visual horizontal na retina geralmente vivem em habitats abertos, possuem uma capacidade de deslocamento diário grande e tendem a ter seus olhos localizados mais lateralmente em relação à cabeça (HUGHES, 1977; PROVIS, 1979; OYSTER et al., 1981). As faixas visuais horizontal permitem que os animais sejam capazes de escanear o ambiente constantemente, cujos campos de visão se concentram principalmente no horizonte e utilizam uma visão monocular com poucos movimentos oculares e da cabeça, o qual é uma característica particularmente útil para a detecção de predadores (SHINOZAKI et al., 2010; COIMBRA et al., 2017).

Essa especialização retiniana está diretamente relacionada ao comportamento dos morcegos estudados. Morrison (1980) estudou o comportamento de forrageamento da espécie *A. lituratus* e verificou que os morcegos dessa espécie costumam ficar nas árvores durante o dia e mudam de local constantemente dentro de uma área que varia de 0,5 a 2,5 hectares. Essa espécie muda o comportamento alimentar de acordo com o ciclo lunar. Nas noites em que as luas cheias ocorrem, os tempos de alimentação e aglomeração diminuem nas árvores, sendo que este comportamento é realizado a fim de evitar ser percebido por predadores como corujas. Adicionalmente, Gutierrez et al. (2014) realizaram testes comportamentais com a mesma espécie em relação a capacidade de se alimentar em diferentes luminosidades. Eles verificaram que a espécie *A. lituratus* leva um longo período de tempo para detectar seus alvos com uma alta intensidade de iluminação similar ao crepúsculo e isso pode estar relacionado a uma exposição exacerbada a predadores durante uma iluminação muito alta. Por outro lado, eles foram bastante eficientes na detecção dos alvos com uma iluminação similar a lua cheia. Além disso, os olhos desses três morcegos estão localizados mais lateralmente em relação à cabeça (GUERRERO et al., 2003; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010) e esses animais deslocam-se tanto em áreas abertas quanto em áreas de matas densas e fechadas durante o forrageamento (BERNARD; FENTON, 2003; MENEZES JR et al., 2008). Essas características comportamentais estão de acordo como os nossos achados referentes ao tipo de especialização retiniana encontrada para os morcegos do gênero

*Artibeus*, as quais estão relacionadas principalmente na detecção de predadores e recursos alimentares.

Em animais que apresentam uma faixa visual horizontal, a retina tende a apresentar uma área central de máxima densidade de células ganglionares no quadrante temporal, especialmente em animais que possuem os olhos localizados mais lateralmente (HUGHES, 1977). Essa área central foi encontrada no quadrante inferotemporal da retina dos os três morcegos estudados. Assim, todos os três *Artibeus* exibiram uma área circular dentro da faixa visual horizontal no quadrante temporal da retina caracterizado como *areae centrales*. Essa característica também foi encontrada em outros morcegos, incluindo algumas espécies de raposas voadoras, tais como, *Pteropus giganteus*, *Pteropus poliocephalus*, *Pteropus poliocephalus*, *Megaloglossus woermanni*, *Scotonycteris zenkeri*, *Casynictoris argynnis*, *Rousettus aegyptiacus*, *Epomophorus wahlbergi*, *Epomops franqueti*, *Eidolon helvum*, *Eidolon helvum e Hypsignathus monstrosus* e alguns morcegos ecolocalizadores como: *Rhinolophus rouxi*, *Rhinolophus ferrumequinum*, *Nyctophilus gouldi*, *Taphozous georgianus*, *Megaderma lyra*, *Dermanura cinerea*, *Macroderma gigas*, *Phyllostomus hastatus*, *Phyllostomus discolor* e *Artibeus jamaicensis* (PEDLER; TILLEY, 1969; PETTIGREW et al., 1988; NEUWEILER 2000; HEFFNER et al., 2001; HEFFNER et al., 2007; MÜLLER et al., 2007; HEFFNER et al., 2008; KIM et al., 2008; HOFFMANN et al., 2016; COIMBRA et al., 2017). As principais funções da *areae centrales* são fornecer uma visão de alta resolução, discriminação frontal e direcionada para o horizonte e um tipo de fixação binocular (RAPAPORT; STONE, 1984). Essa alta resolução espacial e discriminação frontal são particularmente importante para os morcegos do gênero *Artibeus*, os quais são animais frugívoros e precisam detectar frutas que estão aptas para o consumo e estão localizadas em um campo de visão logo a sua frente.

Na retina da espécie *A. lituratus* foi observada uma faixa visual horizontal extra logo acima da cabeça do nervo óptico, sendo esta conectada com a faixa visual principal. Além disso, essa mesma espécie apresenta outra área circular no quadrante nasal com uma alta densidade de CGR. De acordo com Shinozaki et al. (2010) áreas de alta densidade de células ganglionares fora da faixa visual horizontal pode melhorar o poder de resolução visual do animal e pode aumentar o campo de visão frontal para discriminar um objeto. Essas características morfológicas da retina de *A. lituratus* sugerem que esses morcegos possuem um campo de visão mais amplo entre essas três espécies dentro do gênero *Artibeus*.

A acuidade visual das três espécies de *Artibeus* foi considerada alta quando comparada com outros morcegos ecolocalizadores. Onde, *A. lituratus* exibiu a maior acuidade visual. No entanto, as outras duas espécies também apresentam uma boa capacidade de resolução espacial em comparação com outros morcegos de diferentes gêneros. Em contraste, a acuidade visual das raposas voadoras é bastante elevada e variam entre 2,2 ciclos/grau e 5,5 ciclos/grau (PEDLER; TILLEY, 1969; NEUWEILER, 2000; HEFFNER et al., 2008; MÜLLER et al., 2007; COIMBRA et al., 2017). Portanto, a capacidade visual dos morcegos está diretamente relacionada com o padrão alimentar de cada espécie. Assim, os morcegos que possuem uma maior

acuidade visual tendem a ser frugívoros, como as raposas voadoras e os morcegos ecolocalizadores, tais como as três espécies espécie estudadas, *A. jamaicensis* (1,1 ciclos/grau) (HEFFNER et al., 2001), *D. cinerea* (1,35 ciclos/grau) e *T. georgianus* (1,3 ciclos/grau) (PETTIGREW et al., 1988). Além disso, os morcegos carnívoros de grande porte como *M. gigas* (1,9 ciclos/grau) e *M. lyra* (1,5 ciclos/grau) apresentam uma acuidade visual alta dentre os morcegos ecolocalizadores (PETTIGREW et al., 1988). Adicionalmente, espécies onívoras como *P. hastatus* (1,2 ciclos/grau) (HEFFNER et al., 2007) e *P. discolor* (1,7 ciclos/grau) (HOFFMANN et al., 2016) também apresentam uma elevada acuidade visual. Em contraste, espécies insetívoras tendem a apresentar uma menor acuidade visual entre os morcegos ecolocalizadores, por exemplo, as espécies *R. rouxi* (0,35 ciclos/grau) e *Eptesicus nilssonii* (0,6 ciclos/grau) e em especial os morcegos insetívoros da família Vespertilionidae, incluindo *Myotis brandtii*, *Myotis lucifugus*, *Myotis mystacinus* e *Myotis daubentonii* (0,3 ciclos/grau) (RYDELL; EKLOF, 2003; EKLÖF J; JONES 2003; FELLER et al., 2009; EKLÖF et al., 2014). Complementarmente, segundo Suthers (1966) e Suthers et al. (1969) morcegos frugívoros apresentam melhores adaptações morfológicas para visão em baixos níveis de luz comparados com espécies de morcegos estritamente insetívoros.

Adicionalmente, outra espécie do gênero *Artibeus*, *A. jamaicensis* foi estudada por Heffner et al. (2001) e eles descobriram que a densidade de máxima de células ganglionares na retina desta espécie é de 9325/mm<sup>2</sup> e possui uma acuidade visual estimada de 1,1 ciclos/grau. Essa espécie apresentou uma acuidade visual menor do que as três espécies estudadas nesse trabalho as quais pertencem ao mesmo gênero. Além disso, as espécies *A. jamaicensis* e *A. planirostris* foram incluídas nos mesmo táxons como espécies sinônimas por um longo período. No entanto, devido à distribuição geográfica, características morfológicas e dados moleculares, foi possível separar essas espécies em duas espécies distintas dentro do gênero *Artibeus* (LIM et al., 2004; REDONDO et al., 2008). Dessa forma, a diferença existente entre a acuidade visual dessas duas espécies é mais um dado morfológico que este estudo apresenta para reforçar a divergência entre essas duas espécies.

Outro importante fato é que os morcegos, mesmo pertencentes ao gênero *Artibeus* e com hábitos alimentares semelhantes, apresentaram diferentes valores de acuidade visual. Segundo Blackwood et al. (2010) e Eklöf et al. (2014) essa característica pode está relacionado com o tamanho do corpóreo dos animais que pertencem ao mesmo gênero e conseqüentemente, com o tamanho dos olhos. Portanto, a espécie *A. lituratus* exibe um comprimento total variando de 8,6-12 cm e massa corporal em média de 75 g (GUERRERO et al., 2003; ARAÚJO; LANGGUTH, 2010) e apresentou a maior acuidade visual, enquanto a espécie *A. planirostris* tem um comprimento total variando de 7,5-11 cm e massa corporal entre 40-69 g (VIZOTTO; TADDEI, 1973; HOLLIS, 2005) e possui uma acuidade visual intermediária entre os três morcegos e a espécies *A. obscurus* exibe um comprimento médio de aproximadamente 7,9 cm e massa corporal entre 28-52,2 g (MARQUES-AGUIAR, 1994; HAYNES; LEE JR, 2004) e apresentou a menor acuidade visual entre as três espécies. Assim, a acuidade visual tende a ser maior para as espécies que apresentam maior tamanho corpóreo, pelo menos entre os morcegos do mesmo gênero. No entanto,

de acordo com Eklöf et al. (2014) não é necessariamente uma regra ou um padrão distintivo.

Segundo Veilleux; Kirk (2014) a evolução da acuidade visual em certos grupos de mamíferos está relacionada com o aumento da dependência da visão em comportamentos ecológicos básicos, incluindo técnicas de forrageamento, comportamento migratório, localização de abrigos e detecção e prevenção de predadores. Porém, para as espécies de morcegos ecolocalizadores foge ao padrão geral encontrado para mamíferos, o qual segundo Jones; Teeling (2006) e Teeling (2009) a ecolocalização é um sentido que foi adquirido mais recentemente dentre os morcegos e que os morcegos mais ancestrais na escala evolutiva dependem mais da visão. Portanto, pode-se inferir que o padrão organizacional das células ganglionares na retina e as diferenças de acuidade visual dentro do gênero *Artibeus*, podem estar relacionadas à filogenia desse gênero. Assim, segundo Redondo et al. (2008) a espécie *A. lituratus* é considerada uma espécie mais basal em comparação com as outras duas, e apresentou um maior número de neurônios assim como uma maior acuidade visual. Assim, sugerimos que os morcegos do gênero *Artibeus* que estão na escala evolutiva mais basal dentro da árvore filogenética desse gênero apresentam uma maior dependência da visão e possui uma maior acuidade visual as quais são características mais primitivas. Por outro lado, a redução do número de neurônios na retina e redução da acuidade visual são características mais derivadas nos morcegos que apareceram mais recente dentro do gênero, como no caso de *A. planirostris* e *A. obscurus* baseada na sistemática mais atual para o grupo. Porém, faz-se necessário uma averiguação comparativa das estratégias comportamentais em relação ao sistema visual de mais morcegos desse gênero para uma confirmação mais precisa.

Além disso, Jones; Teeling (2006) e Teeling (2009) determinaram que o sistema visual dos morcegos está diretamente relacionadas ao processo evolutivo de ecolocalização. Portanto, morcegos que possuem um sofisticado sistema de ecolocalização tendem a exibir um sistema visual menos desenvolvido como no caso dos morcegos insetívoros, enquanto aqueles que apresentam uma boa capacidade visual tendem a apresentar uma menor dependência da ecolocalização, por exemplo, morcegos frugívoros e nectarívoros que fazem uso das diferenças no brilho e na composição espectral para encontrar diferentes itens alimentares (PEDLER; TILLEY, 1969; PETTIGREW et al., 1988; NEUWEILER, 2000; HEFFNER et al., 2001; WINTER et al., 2003; KIM et al., 2008; MÜLLER et al., 2009; EKLÖF et al., 2014; COIMBRA et al., 2017).

Foi demonstrado que estas espécies ecolocalizadoras usam tanto a visão quanto a ecolocalização para localização de objetos e para desviar dos obstáculos (ROTHER; SCHMIDT, 1982; JOERMANN et al., 1988). Em um experimento de voo realizado por Joermann et al. (1988) com a espécie *P. discolor* dentro de um túnel, foi possível avaliar a importância dos dois sistemas de orientação durante a aproximação de um objeto. Eles verificaram que essa espécie preferiu usar informações visuais a partir de distâncias superiores a 40 cm do objeto. Boonman et al. (2013) sugerem que os morcegos ecolocalizadores constantemente integram informações adquiridas pelas duas

modalidades sensoriais, ecolocalização e visão, e que durante a evolução, a ecolocalização foi sendo refinada para detectar alvos cada vez menores em associação com o uso da visão. Isso sugere que o uso da visão é mais importante para percepção de objeto em médias e longas distâncias. Essa característica leva a inferir que os morcegos frugívoros como estes pertencentes ao gênero *Artibeus* detectam os frutos primeiramente com a visão, pois estão em uma distância considerável que a ecolocalização não é funcional. A capacidade visual está ligada ao sistema de ecolocalização e também a guilda alimentar que cada morcego pertence. Assim, essas características de ecolocalização e visão se aplicam aos morcegos frugívoros do gênero *Artibeus*, o qual foi observado por Gutierrez et al. (2014) onde a espécie *A. lituratus* usa a visão associada a ecolocalização para a localização de recursos alimentares.

De acordo com Denzinger; Schnitzler (2014) as espécies de morcegos com adaptações semelhantes são atribuídas às mesmas guildas. Assim, os morcegos que exploram os mesmos tipos de recursos ambientais, tendem a compartilhar adaptações morfológicas independentemente da sua filogenia. Isso pode ser observado no caso dos morcegos de diferentes gêneros e até mesmo de diferentes famílias que compartilham valores de acuidade visuais parecidos e que exploram os mesmos recursos alimentares. Caso esse que aconteceu com os morcegos do gênero *Artibeus* desse estudo que apresentam acuidade visual semelhante a outros morcegos frugívoros.

## 6.2 Morfometria retiniana

As retinas das três espécies de *Artibeus* são avasculares e essa característica está de acordo com Neuweiller (2000) que diz que morcegos ecolocalizadores geralmente apresentam retinas avasculares e a nutrição dessa túnica provém exclusivamente do suprimento sanguíneo da coroide e em parte pelo corpo vítreo. Além disso, as retinas das três espécies estudadas não apresentaram *tapetum lucidum* corroborando Moritz et al. (2013) o qual concluíram que microquirópteros não apresentam essa membrana refletora e que não é uma característica indispensável e exclusiva para os olhos de animais noturnos. Adicionalmente, Ollivier et al. (2004) estudaram a existência *tapetum lucidum* em diferentes animais e concluíram que apenas as raposas voadoras apresentam essa membrana dentre todos os morcegos. Pode-se sugerir que a presença ou ausência dessa membrana esteja relacionada à capacidade do morcego usar a ecolocalização. Assim, as raposas voadoras que não tem a capacidade de ecolocalização e possuem uma alta dependência da visão para executar suas tarefas e apresentam *tapetum lucidum*. Por outro lado, morcegos ecolocalizadores que utiliza a visão e ecolocalização não possuem *tapetum lucidum*.

A área retiniana mostrou-se significativamente maior para a espécie *A. lituratus* e menor para a espécie *A. obscurus*, sendo respectivamente relacionados ao comprimento axial dos olhos de cada espécie. Esses dados morfométricos corroboram Blackwood et al. (2010) o qual dizem que a área retiniana é diretamente proporcional ao tamanho do olho e ao seu comprimento axial. Em relação à espessura total das retinas, observou-se que a retina da espécie *A. lituratus* é mais espessa em comparação com as

outras duas. Porém, as espessuras das retinas das três espécies se enquadram nos padrões de morcegos ecolocalizadores, onde, a espessura da retina dos morcegos ecolocalizadores de acordo com Neuweiller (2000) varia entre 100 e 150  $\mu\text{m}$ . Em contraste, a espécie de morcego insetívora de grande porte *Rhinopoma hardwickii*, foi estudada por Ghassemi; Gholami (2015) e apresentou uma espessura de 210  $\mu\text{m}$  o que não se enquadra nos padrões de espessura retiniana de morcegos ecolocalizadores. Para as três espécies estudadas a região central da retina mostrou-se mais espessa. Isso é devido ao fato dessa área ser mais importante para a visão. Além disso, é na área central da retina que apresenta a maior densidade de células ganglionares e apresenta uma adaptação retiniana em forma de faixa visual horizontal o qual resulta no maior espessamento da retina e conseqüentemente exibe uma maior acuidade visual nessa área (PETTIGREW et al., 1988; COLLIN, 2008; MOORE et al., 2012).

Os grânulos de melanina observados no epitélio pigmentar da retina são importantes para a absorção de luz que ultrapassam a retina (KOLB et al., 2001; OLLIVIER et al., 2004). A camada dos segmentos externos e internos dos fotorreceptores, assim como a camada dos seus núcleos mostrou-se rico em bastonetes principalmente na região periférica da retina. Isso evidencia a importância dessas células para a atividade noturna desses animais (visão escotópica). Por outro lado, verificou-se uma maior abundância de cones na região central da retina resultando numa maior acuidade visual nessa área e uma capacidade para percepções de cores por esses morcegos.

Essa distribuição de fotorreceptores na retina dos três morcegos estudados foi também observada em outros morcegos nos estudos de Müller et al. (2007) e Feller et al. (2009). Além disso, o número de camadas de núcleos dos fotorreceptores presentes na camada nuclear externa foi maior para *A. lituratus* e menor para *A. obscurus*. Ghassemi; Gholami (2015) observaram que a espécie insetívora *R. hardwickii* apresenta oito camadas de núcleos de fotorreceptores. Isso evidencia ainda mais que espécies insetívoras tendem a apresentar um número menor de fotorreceptores na retina em comparação com as espécies frugívoras, como foi observado para os morcegos do gênero *Artibeus*. Além disso, esses dados reforçam a ideia de proporções entre fotorreceptores e células ganglionares sugeridas por Collin (2008) e Hauzman et al. (2014) onde, a área da retina que apresentar a maior densidade de células ganglionares também irá apresentar uma maior densidade de cones. Por essa razão que foi evidenciado a maior concentração de cones na região central da retina. Porém, para determinar o cone sensível a um específico comprimento de onda são necessários testes imunohistoquímicos ou testes eletrorretinográficos. Os morcegos ecolocalizadores e as raposas voadoras possuem dois tipos de pigmentos visuais relacionados à percepção de cores, as opsinas de cone (S-) e opsinas de cone (L-) que estão relacionados à sensibilidade ao comprimento de onda curto e ao comprimento de onda médio-longo, respectivamente. Portanto, os morcegos são classificados como mamíferos dicromáticos (HOPE; BHATNAGAR, 1979; MÜLLER et al. 2007; FELLER et al. 2009). Além disso, a espécie nectarívora *G. soricina* apresenta sensibilidade ao UV com picos de sensibilidade em 365 nm e apresenta cones que coexpressam as opsinas L e S (WINTER et al. 2003, MÜLLER et al. 2009).

A camada plexiforme externa foi à única que apresentou uma menor espessura na região central. Essa característica infere que os axônios dos fotorreceptores são mais curtos nessa região devido essa área ser mais sensível a luz (MASLAND, 2001; KOLB et al., 2001). A camada nuclear interna apresentou-se mais espessa na região central da retina das espécies *A. planirostris* e *A. obscurus*. Isso pode refletir numa maior concentração de células horizontais, neurônios bipolares, células amácrinas e os núcleos das células de Müller que estão na região central da retina. Os neurônios bipolares são responsáveis por conduzir a energia elétrica do fotorreceptor para as células ganglionares e as outras células, horizontais e amácrinas, são responsáveis por controlar, interligar e inibir o impulso nervo entre os fotorreceptores, células bipolares e células ganglionares (WÄSSLE et al., 1981; KOLB et al., 2001; MASLAND, 2001; WÄSSLE, 2004; JEON et al., 2007; BUTZ et al., 2015).

Seguindo, a camada plexiforme interna mostrou-se bem mais espessa do que a camada plexiforme externa com pouca variação entre as espécies de *Artibeus* estudadas. Essa camada é local onde ocorrem sinapses entre os neurônios bipolares e células ganglionares intermediadas pelas células amácrinas (RODRIGUES, 2010). Logo, a camada de células ganglionares apresentou uma densidade de células diferente entre as três espécies ao qual *A. lituratus* exibiu um maior número de células ganglionares e uma maior faixa visual horizontal. Essa camada foi significativamente mais espessa na região central do que na região periférica da retina das três espécies. Porém, a espessura dessa camada manteve-se constante na região central quando comparada entre as espécies e não diferiu significativamente. Além disso, as células ganglionares apresentaram corpos celulares com diferentes tamanhos. Isso sugere que existam diferentes tipos de células ganglionares na retina dos morcegos. Essa diferenciação no tamanho de células ganglionares também foram evidenciadas por Pettigrew et al. (1988) Dacheux; Raviola (1994) e Brooks et al. (1999). Por fim, a espessura da camada de fibras nervosas, formadas pelos axônios das células ganglionares, foi significativamente maior na região central da retina dos três morcegos. Segundo Brooks et al. (1999) isso é devido ao fato que todos os axônios convergirem para região central da retina e formar o nervo óptico. Como consequência do maior número de células ganglionares na retina da espécie *A. lituratus*, a camada de fibras nervosas apresentou-se mais espessa na região central dessa espécie e menor para a espécie *A. obscurus* que possui o menor número dessas células na retina. Por outro lado, não houve diferença significativa da espessura dessa camada na região periférica entre as espécies, devido à baixa densidade de células ganglionares nessa região.

Esses dados histomorfométricos corroboram as informações sugeridas por Jolicoeur; Baron (1980), que alegaram que os morcegos frugívoros e nectarívoros possuem olhos maiores e apresentam maior poder de resolução visual e bulbos olfatórios expandidos em comparação com espécies insetívoras. Além disso, essas características visuais estão diretamente associadas ao sistema de ecolocalização de cada espécie. Assim, essa capacidade de intercalar a ecolocalização e o sistema visual estão relacionadas aos hábitos alimentares de cada espécie de morcego (RYDELL; EKLÖF, 2003; BOONMAN et al., 2013; DENZINGER; SCHNITZLER, 2014). Tais

evidências observadas na retina sugerem que a visão desempenha um papel muito importante para as espécies do gênero *Artibeus*. No entanto, os morcegos podem mostrar valores de capacidade visual diferentes, mesmo pertencendo à mesma guilda alimentar, característica essa observada entre as espécies estudadas. Em relação aos morcegos frugívoros que apresentam uma boa acuidade visual e possuem cones S e L na retina, Veilleux; Kirk (2014) concluíram que essas características visuais tornam esses animais capazes de melhorar o sucesso de forrageamento, alimentando-se de frutas específicas e aumentando o sucesso na localização de abrigos e de chances para detectar predadores.

## **7 CONCLUSÕES**

Baseados em nossos resultados pode-se inferir que os morcegos do gênero *Artibeus* têm uma elevada acuidade visual em comparação com outros morcegos ecolocalizadores descritos na literatura. Além disso, podemos concluir que a espécie *A. lituratus* exibe uma acuidade visual mais desenvolvida pelo fato dessa espécie possuir um maior número de células ganglionares na retina em comparação com as outras duas espécies do gênero *Artibeus* estudadas. Adicionalmente, sugerimos que *A. lituratus* apresenta uma acuidade visual mais desenvolvida devido essa espécie ser uma espécie mais basal em relação às outras duas dentro da filogenia do gênero *Artibeus*.

## REFERÊNCIAS

- ALTRINGHAM, J. D. Echolocation and other senses. In: \_\_\_\_\_. **Bats: From Conservation to Ecology**. United Kingdom: Oxford University Press, 2010. p. 61-96.
- AMMERMÜLLER, J.; KOLB, H. Functional architecture of the turtle retina. **Progress in retinal and eye research**, v. 15, n. 2, p. 393-433, 1996.
- ARAÚJO, P.; LANGGUTH, A. Caracteres distintivos das quatro espécies de grandes *Artibeus* (Phyllostomidae) de Paraíba e Pernambuco, Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 2, p. 715-722, 2010.
- BALASUBRAMANIAN, V.; STERLING, P. Receptive fields and functional architecture in the retina. **The Journal of physiology**, v. 587, n. 12, p. 2753-2767, 2009.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. 2. ed. Barueri – SP: Editora Manole, 2003. 331 p.
- BELL, G. P.; FENTON, M. B. Visual acuity, sensitivity and binocularity in a gleaning insectivorous bat, *Macrotus californicus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Animal Behaviour**, v. 34, n. 2, p. 409-414, 1986.
- BERNARD, E.; FENTON, M. B. Bat Mobility and Roosts in a Fragmented Landscape in Central Amazonia, Brazil 1. **Biotropica**, v. 35, n. 2, p. 262-277, 2003.
- BICAS, H. E. A. Visual acuity: Measurements and notations. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 65, n. 3, p. 375-384, 2002.
- BLACKWOOD, S. E.; PLUMMER, C. E.; CRUMLEY, W.; MACKAY, E. O.; BROOKS, D. E.; BARRIE, K. P. Ocular parameters in a captive colony of fruit bats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. s1, p. 72-79, 2010.
- BOONMAN, A.; BAR-ON, Y.; CVIKEL, N.; YOVEL, Y. It's not black or white - on the range of vision and echolocation in echolocating bats. **Frontiers in Physiology**, v. 4, n. 248, p. 158-168, 2014.
- BORDIGNON, M. O.; DOS SANTOS, T. M. R.. Ampliação na distribuição de *Artibeus obscurus* (Schinz, 1821) no Centro-Oeste do Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 2, p. 728-731, 2012.
- BOWMAKER, J. K. Evolution of colour vision in vertebrates. **Eye**, v. 12, n.1, p. 541-547, 1998.
- BOWMAKER, J. K. Evolution of vertebrate visual pigments. **Vision research**, v. 48, n. 20, p. 2022-2041, 2008.

BROOKS, D. E.; KOMAROMY, A. M.; KALLBERG, M. E. Comparative retinal ganglion cell and optic nerve morphology. **Veterinary Ophthalmology**, v. 2, n. 1, p. 3-11, 1999.

BUTZ, E.; PEICHL, L.; MÜLLER, B. Cone bipolar cells in the retina of the microbat *Carollia perspicillata*. **Journal of Comparative Neurology**, v. 523, n. 6, p. 963-981, 2015.

CHAN, T. F.; CHIU, K.; LOK, C. K. M.; HO, W. L.; SO, K. F.; CHANG, R. C. C. Morphometric analyses of retinal sections. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, v. e3377, n. 60, p. 1-6, 2012.

CHASE, J. Visually guided escape responses of microchiropteran bats. **Animal Behaviour**, v. 29, n. 1, p. 708-713, 1981.

CHASE, J.; SUTHERS, R. A. Visual obstacle avoidance by echolocating bats **Animal Behaviour**, v. 17, n. 1, p. 201-207, 1969.

COIMBRA, J. P. KASWERA-KYAMAKYA, C.; GILISSEN, E.; MANGER, P. R.; COLLIN, S.P. The retina of Ansorge's cusimanse (*Crossarchus ansorgei*): number, topography and convergence of photoreceptors and ganglion cells in relation to ecology and behavior. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 86, n. 2, p. 79-93, 2015.

COIMBRA, J. P.; NOLAN, P. M.; COLLIN, S. P.; HART, N. Retinal ganglion cell topography and spatial resolving power in penguins. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 80, n. 4, p. 254-268, 2012.

COIMBRA, J. P.; PETTIGREW, J. D.; KASWERA-KYAMAKYA, C.; GILISSEN, E.; COLLIN, S. P.; MANGER, P. R. Retinal ganglion cell topography and spatial resolving power in African megachiropterans: Influence of roosting microhabitat and foraging. **Journal of Comparative Neurology**, v. 525, n. 1, p. 186-203, 2017.

COLLIN, S. P. A web-based archive for topographic maps of retinal cell distribution in vertebrates. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 91, n. 1, p. 85-95, 2008.

COLLIN, S. P. Behavioural ecology and retinal cell topography. In: ARCHER SN, DJAMGOZ MBS, LOEW E. R.; PARTRIDGE J. C.; VELLARGA, S. (ed.). **Adaptive mechanisms in the ecology of vision**. Netherlands: Springer, 1999. p. 509-535.

COLLIN, S. P. The retina of the shovel-nosed ray, *Rhinobatos batillum* (Rhinobatidae): morphology and quantitative analysis of the ganglion, amacrine and bipolar cell populations. **Experimental biology**, v. 47, n. 4, p. 195-207, 1987.

COLLIN, S. P.; PETTIGREW, J. D. Retinal ganglion cell topography in teleosts: A comparison between nissl-stained material and retrograde labelling from the optic nerve. **Journal of Comparative Neurology**, v. 276, n. 3, p. 412-422, 1988.

CUNNINGHAM, J. G. O sistema visual. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de Fisiologia Veterinária**, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 91-97.

- DACHEUX, R. F.; RAVIOLA, E. Functional anatomy of the neural retina. (In) \_\_\_\_\_. **Principles and Practice of Ophthalmology: Basic Sciences**. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co Inc, p. 285-309, 1994.
- DENZINGER, A.; SCHNITZLER, H. Bat guilds, a concept to classify the highly diverse foraging and echolocation behaviors of microchiropteran bats. **Frontiers in Physiology**, v. 4, n. 154, p 9-23, 2014.
- DYCE, K. M.; SACK W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**, 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
- EKLÖF, J.; JONES, G. Use of vision in prey detection by brown long-eared bats, *Plecotus auritus*. **Animal Behaviour**, v. 66, n. 5, p. 949-953, 2003.
- EKLÖF, J.; ŠUBA, J.; PETERSONS, G.; RYDELL, J. Visual acuity and eye size in five European bat species in relation to foraging and migration strategies. **Environmental and Experimental Biology**, v. 12, n. 1, p. 01-06, 2014.
- FEIJÓ, J. A.; NUNES, H. L. Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae, *Artibeus planirostris* (Spix, 1823) and *Trachops cirrhosus* (Spix, 1823): first record for the state of Sergipe, northeastern Brazil. **Check List**, v. 6, n. 1, p. 15-16, 2010.
- FELLER, K. D.; LAGERHOLM, S.; CLUBWALA, R.; SILVER, M. T.; HAUGHEY, D.; RYAN, J. M.; LOEW, E. R.; DEUTSCHLAND, M. E.; KENYON, K. L. Characterization of photoreceptor cell types in the little brown bat *Myotis lucifugus* (Vespertilionidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 154, n. 4, p. 412-418, 2009.
- FENTON, M. B. **Bats, revised edition**. New York: Facts on File Inc, 2001. 224 p.
- FENTON, M.B.; ACHARYA, L.; AUDET, D.; HICKEY, M.B.C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M.K.; SYME, D.M.; ADKINS, B. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the Neotropics. **Biotropica**, v. 24, n. 3, p. 440-446, 1992.
- FENTON, M.B.; ACHARYA, L.; AUDET, D.; HICKEY, M.B.C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M.K.; SYME, D.M.; ADKINS, B. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the Neotropics. **Biotropica**, v. 24, n. 3, p. 440-446, 1992.
- FERRAREZZI, H.; GIMENEZ, E. D. A. Systematic patterns and the evolution of feeding habits in Chiroptera (Archonta: Mammalia). **Journal of Comparative Biology**, v. 1, n. 3, p. 75-94, 1996.
- FERREIRA, W. A. S.; BORGES, B. N.; RODRIGUES-ANTUNES, S.; ANDRADE, F. A. G.; AGUIAR, G. F. S.; SILVA-JUNIOR, J. S.; MARQUES-AGUIAR, S. A.; HARADA, M. L. Phylogeography of the Dark Fruit-Eating Bat *Artibeus obscurus* in the Brazilian Amazon. **Journal of Heredity**, v. 105, n. 1, p. 48-59, 2014.
- FERREIRA, W. A. S.; BORGES, B. N.; RODRIGUES-ANTUNES, S.; ANDRADE, F. A. G.; AGUIAR, G. F. S.; SILVA-JUNIOR, J. D. S.; MARQUES-AGUIAR, S. A.;

HARADA, M. L. Phylogeography of the Dark Fruit-Eating Bat *Artibeus obscurus* in the Brazilian Amazon. **Journal of Heredity**, v. 105, n. 1, p. 48-59, 2014.

FLEMING, T. H. **The short-tailed fruit bat: a study in plant-animal interactions**. Chicago: The University of Chicago Press, 1988, 365p.

GALETTI, M.; MORELLATO, L. P. C. Diet of the large fruit-eating bat *Artibeus lituratus* in a forest fragment in Brazil. **Mammalia**, v. 58, n. 4, p. 661-665, 1994.

GARCIA, Q. S.; REZENDE, J. L. P.; AGUIAR, L. M. S. Seed dispersal by bats in a disturbed area of Southeastern Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, v. 48, n. 1, p. 125-128, 2000.

GARDNER, A. L. Feeding habits. In: BAKER, R. J.; JONES, J. K.; CARTER, D. C. (Eds) **Biology of Bats of The New World Family Phyllostomidae**. Lubock, Texas: Special Publications of Museum Texas Tech University, 1977, p. 293-350.

GARDNER, A. L. Order Chiroptera. In: \_\_\_\_\_. **Mammals of South America (Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats)**. Chicago and London: The University of Chicago Press, 2008. v. 1, 669 p.

GARZA-GISHOLT, E.; KEMPSTER, R. M.; HART, N. S.; COLLIN, S. P. Visual Specializations in Five Sympatric Species of Stingrays from the Family Dasyatidae. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 85, n. 4, p. 217-232, 2015.

GHASSEMI, F.; GHOLAMI, S. Comparative histomorphometrical study of retina in insectivorous bat (*Rhinopoma hardwickii*) and frugivorous bat (*Rossetus aegyptiacus*). **Cibtech Journal of Zoology**, v. 4, n. 3, p. 27-34, 2015.

GOODWIN, G.G.; GREENHALL, A.M. A review of the bats of Trinidad and Tobago: descriptions, rabies infection and ecology. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 122, n. 3, p. 187-302, 1961.

GOULD, E. Echolocation and Communication. In: BAKER, R. J.; JONES-JUNIOR, K. J.; CARTER, D. C. (Ed.). **Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae. Part II**. Texas, Special Publications the Museum Texas Tech University, 1977. p. 247-279.

GRIFFIN, D. R. Migration and homing of bats. In: WIMSATT, W. A. (Ed.). **Biology of Bats**. New York: Academic Press, 1970. p. 233-264.

GUERRERO, J. A.; LUNA, E.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, C. Morphometrics in the quantification of character state identity for the assessment of primary homology: an analysis of character variation of the genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 80, n. 1, p. 45-55, 2003.

GUTIERREZ, E. A.; PESSOA, V. F.; AGUIAR, L. M.; PESSOA, D. M. Effect of light intensity on food detection in captive great fruit-eating bats, *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Behavioural Processes**, v. 109, n. 1, p. 64-69, 2014.

- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. O olho I: Óptica da visão. In. \_\_\_\_\_. **Tratado de fisiologia médica**, 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006, p. 613-625.
- HALL, L.; RICHARDS, G. **Flying foxes: fruit and blossom bats of Australia**. Australia: University of New South Wales Press, 2000. 135 p.
- HANDLEY JR, C. O. New species of mammals from northern South America: fruit-eating bats, genus *Artibeus* Leach. **Studies in Neotropical mammalogy: essays in honor of Philip Hershkovitz (BD PATTERSON and RM TIMM, eds.)**. *Fieldiana: Zoology (NS)*, v. 39, p. 1-506, 1987.
- HANDLEY JR, CHARLES O. The *Artibeus* of gray 1838. **Advances in neotropical mammalogy**, v. 1989, p. 443-468, 1989.
- HARAHUSH, B. K.; HART, N. S.; COLLIN, S. P. Ontogenetic changes in retinal ganglion cell distribution and spatial resolving power in the brown-banded bamboo shark *Chiloscyllium punctatum* (Elasmobranchii). **Brain, Behavior and Evolution**, v. 83, n. 4, p. 286-300, 2014.
- HAUZMAN, E.; BONCI, D.; GROTZNER, S.; MELA, M.; LIBER, A.; MARTINS, S.; VENTURA, D. Comparative Study of Photoreceptor and Retinal Ganglion Cell Topography and Spatial Resolving Power in Dipsadidae Snakes. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 84, n. 3, p. 197-213, 2014.
- HAYNES, M. A.; LEE JR, T.E. *Artibeus obscurus*. **Mammalian Species**, n. 752, p. 1-5, 2004.
- HEFFNER, R. S.; KOAY, G.; HEFFNER, H. E. Sound localization acuity and its relation to vision in large and small fruit-eating bats: II. Non-echolocating species, *Eidolon helvum* and *Cynopterus brachyotis*. **Hearing research**, v. 241, n. 1, p. 80-86, 2008.
- HEFFNER, R. S.; KOAY, G.; HEFFNER, H. E. Sound localization in a new-world frugivorous bat, *Artibeus jamaicensis*: Acuity, use of binaural cues, and relationship to vision. **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 109, n. 1, p. 412-421, 2001.
- HEFFNER, R. S.; KOAY, G.; HEFFNER, H. E. Sound-localization acuity and its relation to vision in large and small fruit-eating bats: I. Echolocating species, *Phyllostomus hastatus* and *Carollia perspicillata*. **Hearing research**, v. 234, n. 1, p. 1-9, 2007.
- HOFFMANN, S.; VEGA-ZUNIGA, T.; GREITER, W.; KRABICHLER, Q.; BLEY, A.; MATTHES, M.; ZIMMER, U. F.; LUKSCH, H. Congruent representation of visual and acoustic space in the superior colliculus of the echolocating bat *Phyllostomus discolor*. **European Journal of Neuroscience**, v. 44, n. 9, p. 2685-2697, 2016.
- HOLLADAY, J. T. Proper method for calculating average visual acuity. **Journal of Refractive Surgery**, v. 13, n. 4, p. 388-391, 1997.

- HOLLIS, L. *Artibeus planirostris*. **Mammalian Species**, n. 775, p. 1-6, 2005.
- HOPE, G. M.; BHATNAGAR, K. P. Electrical response of bat retina to spectral stimulation comparison of four microchiropteran species. **Experientia**, v. 35, n. 9, p. 1189-1191, 1979.
- HUGHES, A. Population magnitudes and distribution of the major modal classes of cat retinal ganglion cell as estimated from HRP filling and a systematic survey of the soma diameter spectra for classical neurons. **Journal of Comparative Neurology**, v. 197, n. 2, p. 303-339, 1981.
- HUGHES, A. The topography of vision in mammals of contrasting life style: comparative optics and retinal organisation. In: CRESCITELLI, F. (Ed.). **The visual system in vertebrates: Handbook of Sensory Physiology**. Berlin: Springer, 1977. p. 613-756.
- JACOBS, G.H.; ROWE, M. P. Evolution of vertebrate colour vision. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 87, n. 4-5, p. 206-216, 2004.
- JEON, Y. K.; KIM, T. J.; LEE, J. Y.; CHOI, J. S.; JEON, C. J. All amacrine cells in the inner nuclear layer of bat retina: identification by parvalbumin immunoreactivity. **Neuroreport**, v. 18, n. 11, p. 1095-1099, 2007.
- JOERMANN, G.; SCHMIDT, U.; SCHMIDT, C. The mode of orientation during flight and approach to landing in two phyllostomid bats. **Ethology**, v. 78, n. 4, p. 332-340, 1988.
- JOLICOEUR, P.; BARON, G. Brain center correlations among Chiroptera. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 17, n. 6, p. 419-431, 1980.
- JONES, G.; JACOBS, D. S.; KUNZ, T. H.; WILLIG, M. R.; RACEY, P. A. Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. **Endangered Species Research**, v. 8, n. 1-2, p. 93-115, 2009.
- JONES, G.; TEELING, E. C. The evolution of echolocation in bats. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 3, p. 149-156, 2006.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Sistemas fotorreceptor e audiorreceptor. In: \_\_\_\_\_. **Histologia Básica**, 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. p. 447-465.
- KIM, T. J.; JEON, Y. K.; LEE, J. Y.; LEE, E. S.; JEON, C. J. The photoreceptor populations in the retina of the greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum*. **Molecules and Cells**, v. 26, p. 373-379, 2008.
- KIRK, E. C. Comparative morphology of the eye in primates. **The Anatomical Record**, v. 281, n. 1, p. 1095-1103, 2004.

- KOAY, G.; BITTER, K. S.; HEFFNER, H. E.; HEFFNER, R. S. Hearing in American leaf-nosed bats. I: *Phyllostomus hastatus*. **Hearing Research**, v. 171, n. 1, p. 96-102, 2002.
- KOLB, H.; NELSON, R.; AHNELT, P.; CUENCA, N. Cellular organization of the vertebrate retina. **Progress in brain research**, v. 131, n. 1, p. 3-26, 2001.
- KOOPMAN, K. F. Biogeography of the bats of South America. In: MARES, M. A.; GENOWAYS, H. H. (Ed.). **Mammalian Biology in South America**. Special Publication Series, Pymatunig Laboratory of Ecology. Pittsburgh: University of Pittsburgh, 1982. v. 6, p. 273-302.
- LAYNE, J. N. Evidence for the use of vision in diurnal orientation of the bat *Myotis austroriparius*. **Animal Behaviour**, v. 15, n. 4, p. 409-415, 1967.
- LEITE, A. G. B.; OLIVEIRA, D.; BARALDI-ARTONI, S. M. Morfologia do sistema ocular dos animais domésticos. **Ars Veterinaria**, v. 29, n. 1, p. 042-051, 2013.
- LIM, B. K. Morphometric differentiation and species status of the Allopatric fruit-eating bats *Artibeus Jamaicensis* and *A. Planirostris* in Venezuela. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 32, n. 2, p. 65-71, 1997.
- LIM, B. K.; ENGSTROM, M. D.; LEE JR, T. E.; PATTON, J. C.; BICKHAM, J. W. Molecular differentiation of large species of fruit-eating bats (*Artibeus*) and phylogenetic relationships based on the cytochrome b gene. **Acta chiropterologica**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2004.
- LISNEY, T. J.; COLLIN, S. P. Retinal ganglion cell distribution and spatial resolving power in elasmobranchs. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 72, n. 1, p. 59-77, 2008.
- LISNEY, T. J.; IWANIUK, A. N.; KOLOMINSKY, J.; BANDET, M. V.; CORFIELD, J. R.; WYLIE, D. R. Interspecific variation in eye shape and retinal topography in seven species of galliform bird (Aves: Galliformes: Phasianidae). **Journal of Comparative Physiology A**, v. 198, n. 10, p. 717-731, 2012.
- MARQUES-AGUIAR, S. A. A Systematic review of the large species of *Artibeus* Leach, 1821 (Mammalia: Chiroptera), with some phylogenetic inferences. **Bol Mus Para Emílio Goeldi, Zoologia**. v. 10, p.3-83, 1994.
- MARTINS, M. V.; TORRES, J. M.; DOS ANJOS, E. A. C. Dieta de morcegos frugívoros em remanescente de Cerrado em Bandeirantes, Mato Grosso do Sul. **Biotemas**, v. 27, n. 2, p. 129-135, 2014.
- MASLAND, R. H. The fundamental plan of the retina. **Nature neuroscience**, v. 4, n. 9, p. 877-886, 2001.
- MENEZES JR, L. F.; DUARTE, A. C.; NOVAES, R. L. M.; FAÇANHA, A. C.; PERACCHI, A. L.; COSTA, L. D. M.; DIAS E FERNANDES, A. F. P.; ESBÉRARD, C. E. L. Movement of *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (Mammalia, Chiroptera)

between island and continent on State of Rio de Janeiro, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 2, p. 243-245, 2008.

MESSIAS, A.; JORGE, R.; VELASCO E CRUZ, A. A. Tabelas para medir acuidade visual com escala logarítmica: porque usar e como construir. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 73, n. 1, p. 96-100, 2010.

MIKICH, S. B. A dieta dos morcegos frugívoros (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae) de um pequeno remanescente de Floresta Estacional Semidecidual do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n. 1, p. 239-249, 2002.

MOORE, B. A.; KAMILAR, J. M.; COLLIN, S. P.; BININDA-EMONDS, O. R. F.; DOMINY, N. J.; HALL, M. I.; HEESY, C. O.; JOHNSEN, S.; LISNEY, T. J.; LOEW, E. R.; MORITZ, G.; NAVA, S. S.; WARRANT, E.; YOPAK, K. E.; FERNÁNDEZ-JURICIC, E. A novel method for comparative analysis of retinal specialization traits from topographic maps. **Journal of Vision**, v. 12, n. 12, p. 13-13, 2012.

MORAIS, D. B.; PAULA, T. A. R.; BARROS, M. S.; BALARINI, M. K.; FREITAS, M. B. D.; MATTA, S. L. P. Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. **Journal of Anatomy**, v. 222, n. 3, p. 372-379, 2013.

MORITZ, G. L.; LIM, N. T. L.; NEITZ, M.; PEICHL, L.; DOMINY, N. J. Expression and evolution of short wavelength sensitive opsins in colugos: a nocturnal lineage that informs debate on primate origins. **Evolutionary biology**, v. 40, n. 4, p. 542-553, 2013.

MORRISON, D. W. Foraging and day-roosting dynamics of canopy fruit bats in Panama. **Journal of Mammalogy**, v. 61, n. 1, p. 20-29, 1980.

MOSHFEGHI, D. M.; MOSHFEGHI, A. A.; FINGER, P. T. ENUCLEATION. **Survey of Ophthalmology**, v. 44, n. 4, p. 277-301, 2000.

MÜLLER, B.; GLÖSMANN, M.; PEICHL, L.; KNOP, G. C.; HAGEMANN, C.; AMMERMÜLLER, J. Bat eyes have ultraviolet-sensitive cone photoreceptors. **PloS One**, v. 4, n. 7, p. e6390, 2009.

MÜLLER, B.; GOODMAN, S. M.; PEICHL, L. Cone photoreceptor diversity in the retinas of fruit bats (Megachiroptera). **Brain, Behavior and Evolution**, v. 70, n. 2, p. 90-104, 2007.

NEUWEILER, G. Vision, olfaction and taste. In: \_\_\_\_\_. **The Biology of Bats**. New York: Oxford University Press, 2000. p. 210-233.

NOWAK, R. M. Chiroptera. In: \_\_\_\_\_. **Walker's mammals of the world**, 6. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1999. v. 1, p. 253-489.

NOWAK, R. M. **Walker's bats of the world**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1994. 287 p.

OFRI, R. Optics and Physiology of Vision. In: GELATT, K. N. (Ed.). **Veterinary Ophthalmology**. 4. ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 183-219.

OLIVEIRA, A. K. M.; LEMES, F. T. F. *Artibeus planirostris* como dispersor e indutor de germinação em uma área do Pantanal do Negro, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, p. 49-52, 2010.

OLLIVIER, F. J.; SAMUELSON, D. A.; BROOKS, D. E.; LEWIS, P. A.; KALLBERG, M. E.; KOMAROMY, A. M. Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species). **Veterinary ophthalmology**, v. 7, n. 1, p. 11-22, 2004.

OPREA, M.; BRITO, D.; VIEIRA, T. B.; MENDES, P.; LOPES, S. R.; FONSECA, R. M.; COUTINHO, R. Z.; DITCHFIELD, A. D. A note on the diet and foraging behavior of *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae) in an urban park in southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 297-300, 2007.

ORBACH, D. N.; FENTON, M. B. Vision Impairs the Abilities of Bats to Avoid Colliding with Stationary Obstacles. **PLoS One**, v. 5, n. 11, p. e13912, 2010.

OWEN, R. D. Phylogenetic analyses of the bat subfamily Stenodermatinae (Mammalia: Chiroptera). **Special Publications Museum of Texas Tech University**. v. 2, p. 61-65, 1987.

OYSTER, CLYDE W.; TAKAHASHI, ELLEN S.; HURST, DAVID C. Density, soma size, and regional distribution of rabbit retinal ganglion cells. **Journal of Neuroscience**, v. 1, n. 12, p. 1331-1346, 1981.

PAGLIA, A.P.; FONSECA, G.A.B.; RYLANDS, A.B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L.M.S.; CHIARELLO, A.G.; LEITE, Y.L.R.; COSTA, L.P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M.C.M.; MENDES, S.L.; TAVARES, V.C.; MITTERMEIER, R.A.; PATTON, J.L. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology**, Conservation International, Arlington, VA, n.6, 2ª ed, p. 76, 2012.

PASSOS, F. C.; GRACIOLLI, G. Observações da dieta de *Artibeus lituratus* (Olfers) (Chiroptera, Phyllostomidae) em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 21, p. 487-489, 2004.

PASSOS, J. G.; PASSAMANI, M. *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae): biologia e dispersão de sementes no Parque do Museu de Biologia Prof. Mello Leitão, Santa Teresa (ES). **Natureza On Line**, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2003.

PEDLER, C.; TILLEY, R. The retina of a fruit bat (*Pteropus giganteus* Brünnich). **Vision Research**, v. 9, n. 8, p. 909-922, 1969.

PEICHL, L. Diversity of mammalian photoreceptor properties: adaptations to habitat and lifestyle?. **The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology**, v. 287, n. 1, p. 1001-1012, 2005.

PETTIGREW, J. D.; DREHER, B.; HOPKINS, C. S.; MCCALL, M. J.; BROWN, M. Peak density and distribution of ganglion cells in the retinae of microchiropteran bats:

implications for visual acuity. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 39-56, 1988.

PROVIS, J. M. The distribution and size of ganglion cells in the retina of the pigmented rabbit: a quantitative analysis. **Journal of Comparative Neurology**, v. 185, n. 1, p. 121-137, 1979.

RAPAPORT, D. H.; STONE, J. The area centralis of the retina in the cat and other mammals: focal point for function and development of the visual system. **Neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 289-301, 1984.

REDONDO, R. A. F.; BRINA, L. P. S.; SILVA, R.F.; DITCH-FIELD, A. D.; SANTOS, F. R. Molecular systematics of the genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, n. 1, p. 44-58, 2008.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. 2011. **Mamíferos do Brasil**. 2. ed., Londrina, 2011. 439 p.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007. 253 p.

RODRIGUES, F. V.. Fisiologia sensorial. **Revista da Biologia**, v. 5, n. 1, p. 24-35, 2010.

ROTHER, G.; SCHMIDT, U. The influence of visual information on echolocation in *Phyllostomus discolor* (Chiroptera). **ZEITSCHRIFT FÜR SAUGETIERKUNDE-INTERNATIONAL JOURNAL OF MAMMALIAN BIOLOGY**, v. 47, n. 6, p. 324-334, 1982.

RUCZYNSKI, I; SZARLIK, A; SIEMERS, B. M. Conspicuous visual cues can help bats to find tree cavities. **Acta Chiropterologica**, v. 13, n. 2, p. 385-389, 2011.

RUI, A. M.; FABIÁN, M. E.; MENEGHETTI, J. O. Distribuição geográfica e análise morfológica de *Artibeus lituratus* Olfers e de *Artibeus fimbriatus* Gray (Chiroptera, Phyllostomidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 447-460, 1999.

RYDELL, J.; EKLÖF, J. Vision complements echolocation in an aerial-hawking bat. **Naturwissenschaften**, v. 90, n. 10, p. 481-483, 2003.

SAZIMA, M.; FABIÁN, M.; SAZIMA, I. Polinização de *Luehea speciosa* (Tiliaceae) por *Glossophaga soricina* (Chiroptera, Phyllostomidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 42, n. 3, p. 505-513, 1982.

SCHMIDT-NIELSEN, K. Informação e sentidos. In: \_\_\_\_\_. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**, 5. ed. São Paulo: Editora Santos, 2002. p. 533-577.

SCHLAMP, C. L.; MONTGOMERY, A. D.; MAC NAIR, C. E.; SCHUART, C.; WILLMER, D. J.; NICKELLS, R. W. Evaluation of the percentage of ganglion cells in

the ganglion cell layer of the rodent retina. **Molecular Vision**, v. 19, n. 6, p. 1387-1396, 2013.

SHINOZAKI, A.; HOSAKA, Y.; IMAGAWA, T.; UEHARA, M. Topography of ganglion cells and photoreceptors in the sheep retina. **Journal of Comparative Neurology**, v. 518, n. 12, p. 2305-2315, 2010.

SIMMONS, N.B. Ordem Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Ed.). **Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference**. 3. ed. V.1. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. p.312 – 529.

SMITH, G.; ATCHISON, D. A. **The eye and visual optical instruments**. New York: Cambridge University Press, 1997. 300 p.

SOLARI, S.; HOOFFER, S. R.; LARSEN, P. A.; BROWN, A. D.; BULL, R. J.; GUERRERO, J. A.; ORTEGA, J.; CARRERA, J. P.; BRADLEY, R. D.; BAKER, R. J. Operational criteria for genetically defined species: analysis of the diversification of the small fruit-eating bats, *Dermanura* (Phyllostomidae: Stenodermatinae). **Acta Chiropterologica**, v. 11, n. 2, p. 279-288, 2009.

STONE, J. A quantitative analysis of the distribution of ganglion cells in the cat's retina. **Journal of Comparative Neurology**, v. 124, n. 3, p. 337-352, 1965.

STONE, J. **The Wholemout Handbook: a Guide to the Preparation and Analysis of Retinal Wholemouts**. Sydney: Maitland. 1981.

SUTHERS, R. A. Optomotor responses by echolocating bats. **Science**, v. 152, n. 3725, p. 1102-1104, 1966.

SUTHERS, R. A.; CHASE, J.; BRADFORD, B. Visual form discrimination by echolocating bats. **Biological Bulletin**, v. 137, n. 3, p. 535-546, 1969.

SUTHERS, R. A.; WALLIS, N. E. Optics of the eyes of echolocating bats. **Vision Research**, v. 10, n. 11, p. 1165-1173, 1970.

TADDEI, V. A.; NOBILE, C. A.; MORIELLE-VERSUTE, E. Distribuição geográfica e análise morfométrica comparativa em *Artibeus obscurus* (Schinz, 1821) e *Artibeus fimbriatus* Gray, 1838 (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae). **Ensaio e ciência**, v. 2, n. 2, p. 71-127, 1998.

TEELING, E. C. Hear, hear: the convergent evolution of echolocation in bats? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 24, n. 7, p. 351-354, 2009.

TEELING, E. C.; SCALLY, M.; KAO, D. J.; ROMAGNOLI, M. L.; SPRINGER, M. S.; STANHOPE, M. J. Molecular evidence regarding the origin of echolocation and flight in bats. **Nature**, v. 403, n. 6766, p. 188-192, 2000.

UIEDA, W.; HAYASHI, M. M.; GOMES, L. H.; SILVA, M. M. S. Espécies de quirópteros diagnosticados com raiva no Brasil. **Boletim do Instituto Pasteur**, v.1, n. 2, p. 17-35, 1996.

ULLMANN, J. F.; MOORE, B. A.; TEMPLE, S. E.; FERNÁNDEZ-JURICIC, E.; COLLIN, S. P. The retinal wholemount technique: a window to understanding the brain and behaviour. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 79, n. 1, p. 26-44, 2011.

VAN DEN BUSSCHE, R. A.; HOOFFER, S. R. Phylogenetic relationships among recent chiropteran families and the importance of choosing appropriate out-group taxa. **Journal of Mammology**, v. 85, n. 2, p. 321-330, 2004.

VEILLEUX, C.C.; KIRK, E.C. Visual acuity in mammals: effects of eye size and ecology. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 83, n. 1, p. 43-53, 2014.

VIZOTTO, I. D.; TADDEI, V. A. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. Revista da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras São José do Rio Preto – **Boletim de Ciências**. n.1. São José do Rio Preto, 1973. p.1-72.

WALLS, G. L. **The vertebrate eye and its adaptive radiation**. New York: Hafner Publishing Company, 1942. 785 p.

WANG, D.; OAKLEY, T.; MOWER, J.; SHIMMIN, L. C.; YIM, S.; HONEYCUTT, R. L.; TSAO, H.; LI, W. H. Molecular evolution of bat color vision genes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 2, p. 295-302, 2004.

WÄSSLE, H. Parallel processing in the mammalian retina. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, n. 10, p. 747-757, 2004.

WÄSSLE, H.; BOYCOTT, BRIAN B. Functional architecture of the mammalian retina. **Physiological reviews**, v. 71, n. 2, p. 447-480, 1991.

WÄSSLE, H.; PEICHL, L.; BOYCOTT, B. B. Morphology and topography of on-and off-alpha cells in the cat retina. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 212, n. 1187, p. 157-175, 1981.

WILLIAMS, D. R.; COLETTA, N.J. Cone spacing and the visual resolution limit. **The Journal of the Optical Society of America**, v. 4, n. 8, p. 1514-1523, 1987.

WILLIAMS, T. C.; WILLIAMS, J. M. Radio tracking of homing and feeding flights of a neotropical bat, *Phyllostomus hastatus*. **Animal Behaviour**, v. 18, n. 1, p. 302-309, 1970.

WINTER, Y.; LÓPEZ, J.; HELVERSEN, O. V. Ultraviolet vision in a bat. **Nature**, v. 425, n. 6958, p. 612-614, 2003.

ZHAO, H.; ROSSITER, S. J.; TEELING, E. C.; LI, C.; COTTON, J. A.; ZHANG, S. The evolution of color vision in nocturnal mammals. **Proclaimers of the National Academy of Sciences USA**, v. 106, n. 22, p. 8980-8985, 2009.

ZORTÉA, M.; CHIARELLO, A. G. Observations on the big fruit-eating bat, *Artibeus lituratus*, in an Urban Reserve of South-east Brazil. **Mammalia**, v. 58, n. 4, p. 665-670, 1994.

## **ANEXOS**

## **ANEXO A**

Autorização de Coleta dos morcegos: ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

**SISBIO** – Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade: 26531-3.



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: 26531-3</b>	<b>Data da Emissão: 25/01/2012 13:35</b>
<b>Dados do titular</b>	
Nome: Neide Santos	CPF: 465.940.944-91
Título do Projeto: Análise cromossômica molecular em morcegos da família Phyllostomidae do Estado de Pernambuco: localização dos sítios DNAr 5S, 18S e dos genes de histonas H3 e H4.	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	coleta de morcegos da família Phyllostomidae	01/2011	01/2015
De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, 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.			

### 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 IBAMA nº 154/2007 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). Em caso de material consignado, consulte <a href="http://www.icmbio.gov.br/sisbio">www.icmbio.gov.br/sisbio</a> - menu Exportação.
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/cgen">www.mma.gov.br/cgen</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.
9	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

### Outras ressalvas

1	Não está autorizada a coleta/transporte fêmeas lactantes ou grávidas.
2	A chefia da Unidade deverá ser informada tão logo quanto possível sobre qualquer anormalidade eventualmente verificada durante os trabalhos de campo.

### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Izaquiel Santos de Andrade	coletor	063.623.984-59	7275663 SDS-PE	Brasileira
2	MERILANE DA SILVA CALIXTO	responsável	041.502.764-04	5670026 SSP-PE	Brasileira
3	Andreza Carolina Souza Bernardino	coletor	370.413.738-35	8357517 sds-PE	Brasileira
4	Luiz Cipriano da Silva Neto	coletor	078.089.584-33	7440704 SDS-PE	Brasileira
5	Walter Lins Barbosa Junior	coletor	015.442.744-67	7947322 sds-PE	Brasileira
6	Marcos da Silveira Regueira Neto	coletor	013.986.414-80	7213314 SDS-PE	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. 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: 18766236**





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: 26531-3</b>	<b>Data da Emissão: 25/01/2012 13:35</b>
------------------------	--

#### Dados do titular

Nome: Neide Santos	CPF: 465.940.944-91
Título do Projeto: Análise cromossômica molecular em morcegos da família Phyllostomidae do Estado de Pernambuco: localização dos sítios DNAr 5S, 18S e dos genes de histonas H3 e H4.	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

7	Cirlene Maria da Silva	coletor	335.441.824-91	2370747 SSP-PE	Brasileira
8	Ronaldo Francisco Silva Nascimento	coletor	074.002.664-03	7782886 sds-PE	Brasileira
9	Jefferson Geovane Lima da Silva	coletor	052.919.574-76	6454849 SDS-PE	Brasileira

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

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	RIO FORMOSO	PE	RESERVA BIOLÓGICA DE SALTINHO	UC Federal

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Chiroptera (*Qtde: 5)

\* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Rede de neblina
---	---	-----------------

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. 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: 18766236**





## **ANEXO B**

### **PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UFPE**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COMISSÃO DE ÉTICA DE USO ANIMAL  
CEUA**



CCB - UFPE

## PARECER

Este parecer trata do **Proc.: 23076.040931/2014-76** submetido pela professora Dr<sup>a</sup>. **KATHARINE RAQUEL PEREIRA DOS SANTOS** ao Comitê de Ética de Uso Animal para avaliação do uso morcegos das famílias Emballonoriade, Phyllostomidade, Mormoopidae, Furipteridae, Thyropteridae, Vespertilionidae, Molossidae, Natalidae no projeto: **“HISTOMORFOMETRIA COMPARADA DO GLOBO OCULAR DE MORCEGOS (MAMMALIA:CHIROPTERA)”**. Além do projeto foi anexado o **Protocolo de Uso de Animais Experimentais**, preenchido conforme o solicitado e recebido no Comitê em (29/08/2014). O projeto possui boa fundamentação teórica e justificativa plausível ao uso dos animais propostos.

O projeto estará apto à execução após atendimento dos seguintes itens:

- 1) Inserção das licenças do IBAMA sob as numerações 26531-3; 1979557 e 22418-1, pois autorizam o número de espécimes que serão coletadas;
- 2) Inserção das autorizações IBAMA números 16070-1 e 16301-1 que se relacionam à coleta e depósito do material coletado no Laboratório de Biotecnologia e Fármacos do Centro Acadêmico de Vitória;
- 3) Declaração do grau de invasividade (GI1) no Protocolo de uso de Animais Experimentais;
- 4) Alteração do cronograma para início de coleta no quarto trimestre de 2014.

Recife, 12 de novembro de 2014.



**Universidade Federal de Pernambuco**  
**Centro de Biociências**

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 8350  
www.ccb.ufpe.br

Recife, 10 de março de 2016.

Ofício nº 11/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
Para: **Prof.ª Katharine Raquel Pereira dos Santos**  
Núcleo de Biologia e Histologia  
Centro Acadêmico de Vitória  
Universidade Federal de Pernambuco  
Processo nº 23076.040931/2014-76

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Histomorfometria comparada do globo ocular de morcegos (Mammalia: chiroptera).**"

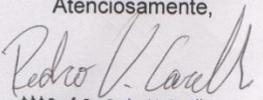
Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: capturados em áreas de Mata Atlântica na Reserva de Saltinho, situada nas cidades de Rio Formoso e Tamandaré - Pernambuco; Animais: morcegos; Idade: adultos; Sexo: machos e fêmeas; Nº total de animais: 5-10.

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. Pedro V. Carelli  
Presidente da CEUA / CCB - UFPE  
UFPE SIAPE 1801584