



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA**

CAMILA PRISCILA OLIVEIRA DA CRUZ MELO

**HISTOMORFOMETRIA COMPARADA DOS TESTÍCULOS DESCENDENTES E
NÃO DESCENDENTES E EPIDÍDIMO DE *Myotis nigricans* (CHIROPTERA:
VESPERTILIONIDAE)**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
NOME DE BIOLOGIA

CAMILA PRISCILA OLIVEIRA DA CRUZ MELO

**HISTOMORFOMETRIA COMPARADA DOS TESTÍCULOS DESCENDENTES E
NÃO DESCENDENTES E EPIDÍDIMO DE *Myotis nigricans* (CHIROPTERA:
VESPERTILIONIDAE)**

TCC apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Katharine Raquel Pereira dos Santos

Coorientadora: Maria Juliana Gomes Arandas

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2016

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV
Bibliotecária Jaciane Freire Santana - CRB-4/2018

M528h Melo, Camila Priscila Oliveira da Cruz.
Histomorfometria comparada dos testículos descendentes e não descendentes e epidídimo de *Myotis nigricans* (chiroptera: vespertilionidae)/
Camila Priscila Oliveira da Cruz Melo. - Vitória de Santo Antão, 2016.

44 folhas: fig.; tab.

Orientadora: Katharine Raquel Pereira dos Santos
Coorientadora: Maria Juliana Gomes Arandas
TCC (Graduação)- Universidade Federal de Pernambuco. CAV, Licenciatura em Ciências Biológicas, 2016.
Inclui bibliografia

1. Histologia animal . 2. Morcego. I. Santos, Katharine Raquel Pereira dos (Orientadora). II. Arandas, Maria Juliana Gomes (Coorientadora). III. Título.

595.774 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-074/2016

CAMILA PRISCILA OLIVEIRA DA CRUZ MELO

**HISTOMORFOMETRIA COMPARADA DOS TESTÍCULOS DESCENDENTES E
NÃO DESCENDENTES E EPIDÍDIMO DE *Myotis nigricans* (CHIROPTERA:
VESPERTILIONIDAE)**

TCC apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas

Aprovado em: 06/07/2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Katharine Raquel Pereira dos Santos (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Msc. Taciana Rocha dos Santos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Msc. Fabricya Roberta da Silva (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha coorientadora Juliana Arandas, que dedicou muito do seu tempo me orientando, obrigada pelos ensinamentos, atenção, amizade, confiança em mim depositada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que nunca me abandonou, caminhando sempre ao meu lado, encorajando-me, dando-me todas as condições, força e coragem para prosseguir com meus sonhos. Muito obrigada!

Á minha mãe Sandra Lúcia e meus avôs Maria Lucia e José Salviano, que acreditaram sempre em mim, me dando sempre a força necessária, dando-me coragem e força, sem não seria o que sou hoje.

Ao meu esposo Robson Pereira pela paciência, compreensão e carinho, pela minha ausência, e, por nunca permitir que algo atrapalhasse o fim deste projeto.

Aos meus irmãos Marcela Rayane e Gabriel Alejandro, que me apoiaram e souberam tolerar e compreender o meu estranho mau humor em determinados momentos desta pesquisa.

Á minha orientadora, Katharine Santos pela confiança e todo apoio intelectual ofertado, muito obrigado pela oportunidade, incentivo e apoio para a realização deste trabalho. Um grande exemplo de ser humano e profissional, que não mede esforços para ajudar no que for preciso. Muito obrigada por ter me aceitado como aluna de iniciação científica. Minha especial admiração e gratidão!

Á minha coorientadora, Juliana Arandas, que se tornou minha amiga e irmã nessa longa caminhada de pesquisa, sempre me guiando e motivando nos momentos de insegurança, por estar sempre vibrando com minhas conquistas. Serei eternamente grata a tudo que tens feito por mim, muito obrigado por todo carinho, incentivo, dedicação, paciência, compreensão, torcida e amizade. Minha especial admiração e gratidão!

Á Nivaldo Bernardo, pela grande contribuição nas análises morfométricas e sugestões na redação do manuscrito. Sua participação neste trabalho é de grande importância. Muito obrigada!

Ao professor Francisco Amanajás, pela contribuição nas análises estatísticas e morfométricas, obrigado por todo suporte e disponibilidade em contribuir com este trabalho. MUITÍSSIMO obrigada!

À minha amiga e companheira do laboratório Dhara Beltrão, pelo auxílio nas técnicas histológicas.

Aos companheiros e amigos do Laboratório, que constituímos uma verdadeira família, a família Biotecnologia, em especial: Geane Aguiar, Camila Ingrid, Diego Vinícius, Francilleni Gomes, Lucas Alcântara, Pedro Thiago, Ruthellen Kassia, Ketsia Sabrina, Fabricya Roberta, Eveline Alves e Erivaldo Alves, por todo companheirismo e apoio do grupo.

A turma de graduação Ciências Biológicas/Licenciatura 2012.1 – 2015.2 UFPE/CAV, em especial aos amigos: Geane Aguiar, Daniele Kelly, Allan Jefferson Letícia Tereza e Leandro Cabral, muito obrigado por todo incentivo e apoio.

À Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro Acadêmico de Vitória – CAV por todo suporte intelectual e técnico.

Aos meus professores do Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas, por todo aprendizado construído durante esses anos. Gratidão e respeito!

Aos professores da banca avaliadora Taciana Rocha e Fabricya Roberta que concordaram em avaliar e contribuir para a melhoria deste trabalho de conclusão de curso.

Aos morcegos que se tornaram verdadeiros companheiros nessa jornada.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

“Só podemos preservar o que amamos, só podemos amar o que entendemos, só podemos entender o que nos foi ensinado.” (Autor desconhecido)

RESUMO

Myotis nigricans é uma espécie que pertence à família Vespertilionidae, apresenta o hábito alimentar insetívoro, exercendo um papel importante no controle de populações de insetos. Nos machos a capacidade reprodutiva está diretamente relacionada ao funcionamento das gônadas, o posicionamento testicular tem sido utilizado para estabelecer a atividade sexual de machos para diversas espécies de morcegos. O objetivo desse trabalho é avaliar a histomorfometria comparada de testículos descendentes e não descendentes e epidídimos de *M. nigricans*. De forma aleatória, n=10 machos com testículos descendentes e n=10 machos com testículos não descendentes. Os órgãos foram fixados em NBF a 10% e submetidos à técnica histológica de rotina, incluídos por parafina e corado por hematoxilina eosina. Foram consideradas as seguintes medidas morfométricas: áreas de ocupação dos compartimentos tubular e intertubular, quantificação das células de Sertoli, espermátocitos, espermátides alongadas e células de Leydig. Para o epidídimo foi mensurado a altura do epitélio das três regiões (cabeça, corpo e cauda) do epidídimo, e submetidas ao teste *t* de Student, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. *M. nigricans* apresentou características histológicas similares dos órgãos, independente da posição testicular. As análises morfométricas indicaram que os machos com testículos descendentes apresentam maiores médias significativas para a área de ocupação dos túbulos seminíferos, quantificação das células de Sertoli e espermátocitos. Esses dados indicam um maior investimento na atividade espermática. Ao passo que, machos com testículos não descendentes apresentam maiores médias para o compartimento intertubular e número de células de Leydig, sendo esta última medida não significativa, o que reflete uma preparação androgênica para uma posterior atividade sexual. No epidídimo, machos com testículos descendentes apresentaram uma maior média significativa da altura do epitélio para a região do corpo, enquanto que a cauda foi significativamente maior em machos com testículos não descendentes. A região da cauda é responsável pela estocagem de esperma, logo, nota-se que tal região apresenta uma maior concentração de espermatozoides no lúmen, o que pode refletir na diminuição do epitélio da região caudal em machos com testículos descendentes.

Palavras-chave: Atividade sexual. Macho. Morcego.

ABSTRACT

Myotis nigricans is a species that belongs to the Vespertilionidae family, presents the insectivore feeding habit, playing an important role in controlling insect populations. In males the reproductive capacity is directly related to the functioning of the gonads, testicular positioning has been used to establish the sexual activity of males for several species of bats. The aim of this study is to evaluate the histomorphometric comparison of descendants and not descended testis and epididymis of *M. nigricans*. Randomly, $n = 10$ males descendants and $n = 10$ males with no descendants testicular testis. The organs were fixed in 10% NBF and subjected to histological technique routinely included in paraffin and stained with hematoxylin eosin. the following morphometric measures were considered: occupancy areas of tubular and Intertubular compartments, quantification of Sertoli cells, spermatocytes, elongated spermatids and Leydig cells. For the epididymis was measured the height of the epithelium of the three regions (head, body and tail) of the epididymis, and submitted to the *Student t test*, p values <0.05 were considered significant. *M. nigricans* showed similar histological characteristics of organs, regardless of testicular position. The morphometric analysis indicated that males with testes descendants have higher average significant for the occupation area of the seminiferous tubules, quantification of Sertoli cells and spermatocytes. These data indicate a higher investment in sperm activity. Whereas males not descended testicles have higher averages for the Intertubular compartment and number of Leydig cells, the latter being not significant measure. In the epididymis, testis descent males had a significantly greater average epithelial height to body region, whereas the tail was significantly higher in males not descended testes. The tail region is responsible for sperm storage, so it is noted that such region has a higher concentration of spermatozoa in the lumen, which may reflect the decreased flow area of epithelium in males with testis descent.

Keywords: Bat. Male. Sexual activity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Ordem Chiroptera.....	12
2.2 Hábitos alimentares, importância ecológica e epidemiológica	12
2.3 Família Vespertilionidae e a espécie <i>Myotis Nigricans</i>	13
2.4 A biologia reprodutiva dos morcegos	14
2.5 Testículos e Epidídimos	15
2.6 Células de Sertoli e Células de Leydig.....	15
2.7 A espermatogênese	16
3 OBJETIVOS	17
Objetivo Geral:	17
Objetivos Específicos:	17
4 ARTIGO.....	18
REFERÊNCIAS	30
5 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	36
ANEXO: NORMAS DA REVISTA.....	41

1 INTRODUÇÃO

Os morcegos são os únicos mamíferos capazes de realizar vôo verdadeiro, estão agrupados na Ordem Chiroptera, a qual possui 1120 espécies e constitui a segunda maior ordem de Mammalia, representando mais de 22% da diversidade atual de mamíferos (GARDNER, 2008). Esses animais apresentam extrema importância biológica, como a dispersão de sementes, polinização e controle da população de insetos e pequenos vertebrados (REIS et al., 2007; MELLO et al. 2008). Além destas particularidades, os morcegos são considerados animais de extrema importância médica-sanitária, por serem considerados reservatórios de várias zoonoses, dentre elas a raiva (CUNHA et al., 2006).

A biologia reprodutiva dos morcegos, as fêmeas apresentam os mais variados padrões reprodutivos, como a monoestria sazonal (um pico reprodutivo anual), poliestria bimodal sazonal (dois picos reprodutivos anuais relacionados à sazonalidade), poliestria sazonal (mais de dois picos reprodutivos anuais relacionados à sazonalidade) e a poliestria assazonal (mais de dois picos reprodutivos anuais não relacionados à sazonalidade) (FLEMING et al., 1972). Os padrões reprodutivos podem variar conforme a região que habitam assim uma mesma espécie pode apresentar diversos comportamentos reprodutivos dependendo do local de sua ocorrência (HAPPOLD; HAPPOLD, 1990).

A família Vespertilionidae (Gray, 1821) compreende 48 gêneros e 407 espécies, classificadas em seis subfamílias 1) Vespertilioninae, 2) Myotinae, 3) Antrozoinae, 4) Miniopterinae, 5) Murininae e 6) Kerivoulinae (WILSON; REEDER, 2005). Apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo em quase todos os Estados do Brasil (SIMMONS, 2005). Morfologicamente, apresentam olhos pequenos e ausência de folha nasal (EISENBERG; REDFORD, 1999). No Brasil, todos os vespertilionídeos são insetívoros, geralmente capturados em vôo (LAVAL; RICHARD, 1977; BARCLAY; BRIGHAM, 1991). Especificamente os morcegos insetívoros possuem dois picos de atividade (alimentação) durante a noite, a primeira associada logo após o pôr-do-sol e o segundo pico próximo do amanhecer, assim desempenham um papel fundamental no controle populacional de insetos.

A espécie *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) No que se relaciona a biologia reprodutiva, os estudos indicam que as fêmeas apresentam um ciclo reprodutivo poliétrico, a gestação dura aproximadamente 60 dias e os nascimentos são contínuos durante todo ano (WILSON; FINDLEY, 1970). A posição testicular (descendente e não descendente) tem sido utilizada para estabelecer a atividade sexual de machos para diversas espécies de morcegos (ESBÉRARD, 2002; GOMES; UIEDA, 2004; ORTÊNCIO-FILHO et al., 2007), entretanto estudos recentes demonstram que a espermatogênese independe da posição testicular (LIMA-JUNIOR, et al., 2014). No noroeste do Estado de São Paulo , Brasil, estudos mostram que os processos de regressão testicular total sofrida por *M. nigricans* ocorre de setembro a janeiro e na região epididimal a espécie desenvolve estratégias para o armazenamneto de espermatozoides (BEGUELINE et al.,2015).

Diante dos poucos estudos relacionados à biologia reprodutiva destaca-se que a espécie, *M. nigricans* apresenta estratégias em relação a biologia reprodutiva, como o armazenamento prolongado de espermatozoides nos epidídimos (BEGUELINE et al., 2015). Este trabalho pretende analisar a histomorfometria comparada dos epidídimos e testículos descendentes e não descendentes e epidídimos de *M. nigricans*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ordem Chiroptera

O termo Chiroptera deriva do grego *cheir* (mão) e *pteron* (asa), o que significa mãos modificadas em asas. Os morcegos pertencem ao grupo mais diversificado de mamíferos, compreendendo a 18 famílias, 202 gêneros e 1120 espécies (SIMMONS, 2005). Anteriormente era subdividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera, no entanto houve modificações a partir de análises do DNA mitocondrial e nuclear, que decorreu em uma nova classificação para duas subordens: Yinpterochiroptera (família Pteropodidae e superfamília Rhinolophidea) e Yangochiroptera (famílias: Rhinolophidae, Hipposideridae, Megadermatidae, Craseonycteridae e Rhinopomatidae). A superfamília Rhinolophidea pertencia à subordem Microchiroptera, contudo esses estudos moleculares indicaram que as características são mais próximas as das raposas voadoras, o que resultou na inclusão dentro da subordem Yinpterochiroptera. (TEELING et al., 2000, 2002, 2005; VAN DER BUSSCHE; HOOFFER, 2004; JONES; TEELING, 2006; TEELING, 2009).

2.2 Hábitos alimentares, importância ecológica e epidemiológica

Dentre os mamíferos, os morcegos são os mais diversificados em hábitos alimentares (PERACCHI et al., 2006), que de acordo com sua preferência alimentar, podem ser classificados como: fitófagos, frugívoros, nectarívoros, polinívoros, folívoros, granívoros, insetívoros, carnívoros, piscívoros, onívoros, ranívoros e hematófagos (REIS et al., 2007). Associado aos hábitos alimentares, os morcegos apresentam grande importância ecológica, principalmente no que se relaciona a dispersão de sementes, polinização, controle da população de insetos (incluindo pragas agrícolas) e vertebrados de pequeno porte (FLEMING, 1988; FENTON et al., 1992; NOWAK, 1994;).

Em relação à saúde pública, os morcegos apresentam um grande potencial zoonótico, associada à raiva, histoplasmose, criptococose, leptospirose, etc (SOUZA et al., 2005; BESSA et al., 2010; MELO et al., 2010). Especificamente no Brasil, o vírus rábico já foi constatado para aproximadamente 42 espécies que pertencem a

três famílias, Phyllostomidae, Vespertilionidae e Molossidae, o que inclui diferentes hábitos alimentares, como a hematofagia, insetivoria, frugivoria e onivoria (CARNEIRO et al., 2009; SODRÉ et al., 2010).

2.3 Família Vespertilionidae e a espécie *Myotis Nigricans*

A família Vespertilionidae (Gray, 1821) apresenta 48 gêneros e 407 espécies distribuídas nas regiões tropicais e temperadas do globo (NOWAK, 1994; SIMMONS, 2005), constituindo-se de 6 subfamílias: Antrozoinae, Myotinae, Minopterinae, Murininae, Kerivoulinae e Vespertilioninae, nesta última subfamília, estão inclusos as tribos Eptesicini, Nycticeiini, Nyctophilini, Lasiurini, Pipistrellini, Plecotini, Vespertilionini. No Brasil, apenas Vespertilioninae (tribos Eptesicini, Lasiurini, Nycticeiini e Vespertilionini) e Myotinae possuem representantes no Brasil (SIMMONS, 2005). Morfologicamente, caracterizam-se por olhos pequenos e ausência de folha nasal (EISENBERG; REDFORD, 1999) Todos os vespertilionídeos do Brasil possui dieta alimentar insetívora, em geral capturando-os em voo (LAVAL; RICHARD, 1977; BARCLAY; BRIGHAM, 1994).

Dentre a ordem Chiroptera, os morcegos (*Myotis*: Vespertilionidae) representam o maior gênero, com mais de 100 espécies no mundo inteiro (SIMMONS, 2005). No Brasil são registradas 6 espécies do gênero *Myotis*: *M. albescens* (E. Geoffroy, 1806), *M. Levis* (l. Geoffroy, 1824), *M. nigricans* (Schinz, 1821), *M. riparius* (Handley, 1960), *M. ruber* (E. Geoffroy, 1806) e *M. simus* (Thomas, 1901) (BIANCONI; PEDRO, 2007). No Brasil apresenta registros para todos os estados das regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, bem como para AM, AP, BA, CE, PA, PB, PE e RR (SCHNEIDER, 2000; PERACCHI et al., 2006). Ocorrendo em quase todos os Estados e frequentes em diversos biomas, como a Caatinga, Cerrado, Pantanal, Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica (WILLIG, 1985; FARIA, 2006; ÁSTUA; GUERRA, 2008; FABIÁN, 2008) e apresenta o hábito alimentar insetívoro.

Especificamente os morcegos insetívoros apresentam um comportamento alimentar característico, que é a obtenção da maioria dos insetos em pleno voo. Comumente, os morcegos que pertencem à família Vespertilionidae capturam os insetos voando em nível mais baixo do que a copa das árvores (PERACCHI et al., 2006).

2.4 A biologia reprodutiva dos morcegos

A reprodução está fortemente associada as condições ambientais (ZÓRTEA, 2003). Em regiões tropicais, os ciclos reprodutivos estão diretamente relacionados aos períodos chuvosos, que influencia na disponibilidade de recursos (FLEMING et al., 1972; RACEY, 1982; MORAIS, 2008). A gestação e a lactação necessita de uma grande demanda energética, por isso que a reprodução é ajustada ao período de maior disponibilidade alimentar (NEUWEILER, 2000). Por tais influências é que uma mesma espécie pode apresentar os mais diversos padrões reprodutivos, dependendo da área de sua ocorrência (WILSON, 1979). Estudos morfométricos mostram que a espécie *M. nigricans* apresenta dois picos de atividade espermatogênica seguido por dois períodos de regressão testicular total, ocorrência também uma sincronia com as três regiões do epididimo, sendo que na região da cauda houve uma alteração para o armazenamento de espermatozóides. (BEGUELINE, et al., 2015).

As fêmeas apresentam variados padrões reprodutivos, que podem ser agrupados em: monoestria sazonal (apresentam apenas um período reprodutivo anual), poliestria sazonal bimodal (dois períodos próximos de nascimentos durante o ano), poliestria contínua (atividade reprodutiva durante a maior parte do ano, seguida de um curto prazo de inatividade) e poliestria assazonal, com atividade reprodutiva durante todo ano (FLEMING, 1988; ZORTÉA, 2003). No que se relaciona aos machos de todas as espécies de mamíferos, sabe-se que a capacidade reprodutiva está diretamente relacionada ao funcionamento das gônadas e as características morfofisiológicas de cada espécie (FLEMING et al., 1972).

Em morcegos, a maioria dos estudos sobre a biologia reprodutiva de machos baseia-se apenas na posição testicular, atribuindo atividade sexual quando os testículos estão descendentes (região escrotal) e inatividade sexual quando os testículos estão não descendentes (região abdominal) (BREDT et al., 1999; GOMES; UIEDA, 2004). Entretanto o estudo realizado por Lima-Junior et al., (2014) indicou que os testículos de espécimes do morcego *Phyllostomus discolor* apresentaram atividade espermatogênica tanto em testículos descendentes, quanto em não descendentes. Assim, destaca-se a importância das análises morfométricas

testiculares para inferir de maneira precisa sobre a capacidade reprodutiva dos morcegos (PAULA et al., 2002; MORAIS et al., 2014a).

2.5 Testículos e Epidídimos

Nos mamíferos os testículos ocorrem em pares e são as gônadas sexuais masculinas. São protegidos por um tecido tênue, chamado de escroto, que é responsável por manter a temperatura ideal para a produção de espermatozoides viáveis (SCANLON; SANDERS, 2007). Histologicamente, os testículos estão revestidos por um tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea. Apresentam dois compartimentos: o compartimento intertubular, que é constituído por células de Leydig, células do tecido conjuntivo e alguns vasos sanguíneos e linfáticos, e o compartimento tubular, constituído pelos túbulos seminíferos, que apresenta todas as células da linhagem espermatogênica (espermatogônias, espermátocitos, espermátides e espermatozóides) e as células de Sertoli. A proporção e a quantificação destes elementos podem ser obtidas a partir das medidas morfométricas (RUSSEL et al., 1990; MORAIS, 2008).

Quanto ao epidídimo consiste em um túbulo enovelado na superfície posterior do testículo, neste órgão que ocorre a maturação do espermatozóide, bem como o armazenamento na região caudal (SCANLON; SANDERS, 2007). Apresenta três regiões definidas: cabeça, corpo e cauda. Os espermatozoides podem ficar armazenados por aproximadamente um mês na cauda do epidídimo, principalmente em animais de regiões temperadas (KRUTZSCH, 2000). Histologicamente o epidídimos são revestidos por um epitélio pseudo-estratificado cilíndrico com estereocílios (RUSSELL et al., 1990).

2.6 Células de Sertoli e Células de Leydig

Em mamíferos as células de Sertoli possuem um citoplasma que se estende como uma camada bem tênue em torno das células germinativas. Apresenta importante função na atividade reprodutiva, visto que é responsável pela nutrição e sustentação das células ao longo da espermatogênese (HESS; FRANÇA, 2008).

As células de Sertoli dividem o epitélio seminífero, um mais basal com espermatogônias e espermátocitos primários no início da prófase meiótica e o ambiente adluminal que está constituído por espermátocitos primários na fase de leptóteno, e os espermátocitos secundários e espermátides (RUSSEL et al., 1990).

As células de Leydig são produtoras de hormônios esteróides, principalmente a testosterona, as quais estão presente no compartimento intertubular dos testículos (VAN STRAATEN; WENING, 1978). Morfologicamente apresentam um padrão irregular e poligonal, podendo ser encontradas isoladas ou agrupadas (dispostas em cordões celulares). O núcleo é normalmente grande e indefinido, variando de circular para oval e possui uma grande porção de cromatina granular (BEGUELINI et al., 2011).

2.7 A espermatogênese

A espermatogênese é um processo extremamente complexo que necessita de mecanismos moleculares e fisiológicos, através do qual os espermatozoides são produzidos. Podendo ser dividida em três fases: a fase espermatogonial (espermatogônias passam por diversas divisões mitóticas), fase espermatocitogênica ou meiótica (o material genético dos espermatócitos é duplicado, recombinado e segregado) e fase espermiogênica ou de diferenciação (as espermátides se diferenciam em espermatozoide, posteriormente serão direcionados para o lúmen do túbulo seminífero) (RUSSELL et al., 1990; JOHNSON et al., 2000, HESS; FRANÇA, 2008).

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Analisar a histologia e morfometria comparada dos testículos descendentes e não descendentes e epidídimos de *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae) em fragmentos de Mata Atlântica na Reserva Biológica de Saltinho, Pernambuco.

Objetivos Específicos:

- Descrever as características histológicas e morfológicas dos testículos e epidídimos;
- Comparar as características morfológicas e morfométricas dos testículos e epidídimos.
- Analisar por meio da morfometria os compartimentos tubulares e intertubulares, assim como os tipos celulares presentes nos túbulos seminíferos.
- Quantificar por meio da morfometria a altura do epitélio das três regiões do epidídimo.

4 ARTIGO

O Presente trabalho está apresentado no formato de artigo requerido pela Revista Nordestina de Zoologia da Sociedade Nordestina de Zoologia, com ISSN 1808-7663. As instruções para autores se encontram em anexo.

HISTOMORFOMETRIA COMPARADA DOS TESTÍCULOS DESCENDENTES E NÃO DESCENDENTES E EPIDÍDIMOS de *Myotis nigricans* (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE) EM ÁREAS DE MATA ATLÂNTICA, PERNAMBUCO

Camila Priscila Oliveira da Cruz Melo¹, Maria Juliana Gomes Arandas², Nivaldo Bernardo de Lima Junior², Francisco Carlos Amanajas Aguiar-Júnior¹, Katharine Raquel Pereira dos Santos¹

1. Núcleo de Biologia, CAV-UFPE, Rua Alto do Reservatório s/n, Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE 55608-680, Brasil.
2. Área de Morfologia, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil.

*Autor correspondente: camila_priscila2008@hotmail.com

RESUMO

Esse trabalho avaliou a histomorfometria comparada dos testículos descendentes e não descendentes e epidídimos de *Myotis nigricans* em áreas de Mata Atlântica de Pernambuco. De forma aleatória, foram selecionados 20 machos adultos, sendo 10 machos com testículos descendentes e 10 machos com testículos não descendentes. Após eutanásia, os órgãos foram fixados em formalina a 10% neutra tamponada (NBF), seguindo a técnica histológica de rotina e as lâminas coradas por Hematoxilina e Eosina (HE). As análises morfométricas indicaram que os machos com testículos descendentes apresentam uma maior atividade espermática,

enquanto que os machos com testículos não descendentes exibem um maior investimento esteroidogênico. No epidídimo de machos descendentes nota-se que existe uma redução da altura do epitélio na região da cauda, o que relaciona a maior concentração de esperma, visto que o armazenamento prolongado de espermatozoides ocorre na região caudal.

Palavras-chave: Morcegos. Reprodução. Machos

ABSTRACT

This study evaluated the histomorphometry compared the offspring and not descended testis and epididymis of *Myotis nigricans* in Atlantic Forest of Pernambuco. Randomly, 20 adult males were selected, 10 males with testes descended and 10 males with no descendants testicles. After euthanasia, the organs were fixed in 10% formalin neutral buffered (NBF), following the routine histological technique and the slides stained with hematoxylin and eosin (HE). The morphometric analysis indicated that male with testes have descended greater sperm activity, while the males not descended testis exhibit a greater steroidogenic investment. In the epididymis of male offspring is noted that there is a reduction of epithelium height of the tail area, which relates the highest concentration of sperm, since extended storage of sperm occurs in the caudal region.

Keywords: Bat. Reproduction. Male.

Introdução

Os morcegos pertencem à ordem Chiroptera, que possui aproximadamente 1200 espécies distribuídas entre todas as regiões tropicais e temperadas, com exceção de algumas ilhas oceânicas e Antártica, representando mais de 20% da diversidade atual de mamíferos Simmons (2005); Gardner (2008). No que se diz respeito à biologia reprodutiva, os morcegos permanecem sendo um dos grupos pouco estudado, principalmente em relação às características histológicas das gônadas Mccracken & Wilkinson (2000); Beguelini (2008); Beguelini *et al.* (2011).

Myotis nigricans (Schinz, 1821) é uma espécie que pertence à família Vespertilionidae, apresenta o hábito alimentar insetívoro, captura os insetos em pleno voo e desempenha um papel importante no controle de pragas agrícolas Peracchi *et al.* (2006); Aguiar & Antonini (2008). Encontra-se amplamente distribuída, desde o Sul do México, Peru, Bolívia, Norte da Argentina, Paraguai e Brasil Gardner (2008).

Em relação à atividade sexual dos machos, a espécie supracitada desenvolve estratégias para ajustar a reprodução no período de maior disponibilidade de recursos alimentares, como: regressão testicular Beguelini *et al.* (2013a) e o armazenamento prolongado dos espermatozoides nos epidídimos (Beguelini *et al.* (2015).

Diversas espécies de morcegos apresentam variações quanto à posição testicular, que são influenciadas pelo estresse animal e a sazonalidade, podendo oscilar entre a região abdominal e inguinal, com o intuito de proteger os órgãos das variações de temperatura Krutzsch (2000); Morais (2008). Vários trabalhos na literatura atribuem a atividade sexual para testículos descendentes e inatividade

sexual para testículos não descendentes descendentes Esbérard (2002); Gomes & Uieda (2004); Ortêncio-Filho *et al.* (2007), entretanto em um estudo realizado por Lima-Junior *et al.*, (2014) foi evidenciado que o morcego *Phyllostomus discolor* apresentam atividade espermatogênica independente da posição testicular.

Diante dessas variações, observa-se a existência de particularidades no ciclo reprodutivo desses animais que, dependendo da sua área de ocorrência, pode variar dentro de uma mesma família, gênero e, sobretudo, espécie Wilson (1979); Zórtea (2003). Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a histomorfometria de testículos descendentes e não descendentes e epidídimos de *M. nigricans*.

Material e métodos

Área de estudo e coleta de animais

Os animais foram provenientes de fragmentos florestais localizados na Reserva Biológica de Saltinho, município de Rio Formoso, no Estado de Pernambuco. Para a coleta dos 20 machos adultos foram utilizadas redes de neblina (12mX3m) no período de junho e julho (devido a baixa variação dos fatores climáticos)de 2014, das 17h00 as 00h00 (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio nº 26531-3).

Análise da morfologia externa

Os estágios reprodutivos dos machos foram determinados a partir das características da morfologia externa, sendo classificados como: 1) machos com testículos descendentes-TD (testículos na região escrotal) e 2) machos com

testículos não descendentes-TND (testículos na região abdominal) Racey (1988); Gannon & Willig (1992).

Eutanásia dos animais

Foram selecionados, de forma aleatória, 20 machos adultos, sendo (n=10) com testículos descendentes e (n=10) com testículos não descendentes. A eutanásia foi realizada por meio de anestesia na região intraperitoneal com pentobarbital sódico em uma concentração de 40mg/kg⁻¹. Posteriormente, foi administrada uma solução saturada constituída por cloreto de potássio Morais *et al.* (2013).

Análise histológica

Para as análises histológicas, foi realizada uma incisão da região abdominal a inguinal para remoção dos testículos e epidídimos. Posteriormente os órgãos foram fixados em formalina neutra tamponada a 10% (NBF) e submetidos à técnica histológica de rotina Behmer *et al.* (1976). Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo ajustado em 4 µm (micrômetros), corados por hematoxilina e eosina (HE) e analisados em microscopia de luz.

Análise morfométrica

As lâminas histológicas foram fotografadas através do programa *Motic*[®] *Images Plus* 2.0. Para tanto, foi acoplada uma câmera digital ao microscópio óptico (Olympus BH-2, Japan), conectada ao computador. Foram utilizadas 10 fotomicrografias dos testículos e epidídimo por lâmina/espécime para mensurar os seguintes parâmetros: área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e a área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI), no aumento de 100X. Para

quantificação do número das células de Leydig (NCL), número de Sertoli (NS), espermatócitos (NE) e espermátides alongadas (NEA) foram utilizados 10 túbulos seminíferos por lâmina/animal e utilizadas, no aumento de 400X, e da mensuração da área, foi feita uma relação entre os números de células e área do túbulo a cada 0,05 mm² (milímetros quadrado). As fotomicrografias foram submetidas às mensurações através da utilização do programa *ImageJ*.

Para o epidídimo foi mensurado a altura do epitélio, excluindo os estereocílios (AE) as três regiões do epidídimo, cabeça (CAB), corpo (CORP) e cauda (CAU), utilizando 10 fotomicrografias por região, totalizando 30, no aumento de 400x, Beguelini *et al.*,(2015).

Análise estatística

As médias foram submetidas ao teste *t* de *Student* e para a comparação dos dois grupos experimentais. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados e discussão

A partir das análises histológicas foi possível evidenciar que os machos de *M. nigricans* com testículos descendentes e não descendentes apresentavam características morfológicas semelhantes, como a presença de células germinativas em diferentes níveis de maturação (espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozoides), as células de Sertoli, bem como as células de Leydig no compartimento intertubular (Figura 1).

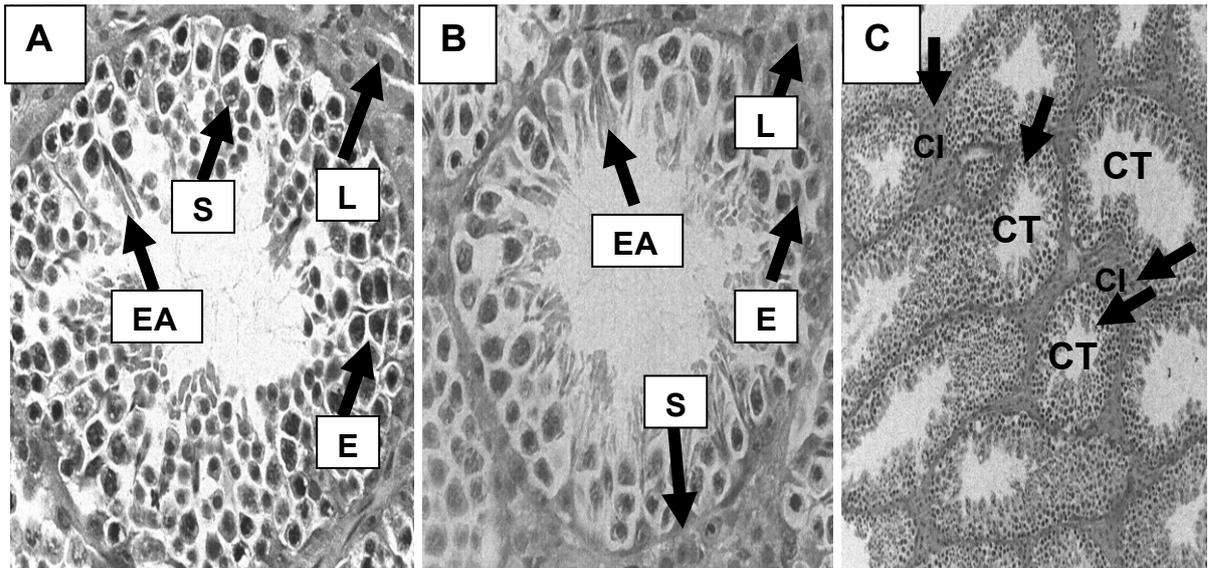


Figura 1: A) Fotomicrografia de testículo descendente de *Myotis nigricans*. B) Fotomicrografia do testículo não descendente. Observar, no compartimento tubular, células de Sertoli (S), espermatócitos (E), espermátides alongadas (EA). No compartimento intertubular, observar células de Leydig. Aumento de 400X. C) Fotomicrografia do compartimento tubular (CT) e intertubular (CI), Coloração Hematoxilina e Eosina (HE). Aumento de 100x.

Os epidídimos seguiram um padrão histológico similar, independente da posição testicular. Morfologicamente estes órgãos são revestidos por uma fásia pigmentada, o epitélio é do tipo pseudo-estratificado cilíndrico com estereocílios nas três regiões: cabeça (porção inicial), corpo (porção mediana) e a cauda (porção final), e a presença de espermatozoides no lúmen do órgão em diferentes proporções (Figura 2).

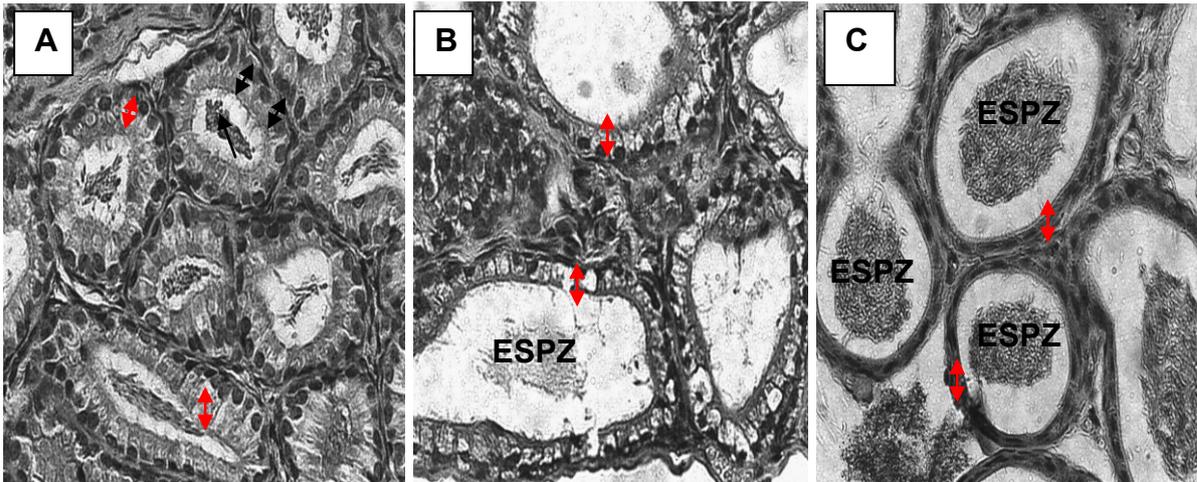


Figura 2: Fotomicrografia de epidídimo de macho com testículos descendentes. A) Cabeça do epidídimo. B) Corpo do epidídimo. C) Cauda do epidídimo. Observar a altura do epitélio em seta de duas pontas. Presença de espermatozoide no lúmen (ESPZ). Coloração H.E, aumento: 400x.

As análises morfométricas testiculares evidenciaram que os machos com testículos descendentes e não descendentes apresentaram médias maiores em relação à área de ocupação do compartimento tubular (AOCT), número de células de Sertoli (NCS) e espermatócitos (NE), ao passo que para as espermátides alongadas (NEA), está última não sendo significativa, $p = 0,703$. Contudo, os machos com testículos não descendentes exibiram maiores médias na área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) e no número de células de Leydig (NCL), esta última medida não sendo significativa $p=0,486$, os desvios padrões apresentaram valores discrepantes, pois as amostras heterogenia estavam em diferentes estágios reprodutivos, já que esta espécie apresenta sete estágios de condições reprodutivas, havendo a necessidade de uma nova análise para as células que não foram significantes. (Tabela 1).

Tabela 1: Médias e desvios padrão das áreas de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e intertubular (AOCI), números de células de Sertoli (NCS), espermatócitos (NE), espermatídes alongadas (NEA) e células de Leydig (NCL) de machos com testículos descendentes e não descendentes de *M. nigricans* em fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco.

Parâmetros	TD	TND	valores de p*
AOCT	81,01 ± 3,08 ^a	78,59 ± 3,24 ^b	<0,001
AOCI	18,98 ± 3,08 ^a	21,4091 ± 3,24 ^b	<0,001
NCS	77,80 ± 26,28 ^a	64,41 ± 20,92 ^b	<0,001
NE	214,63 ± 83,21 ^a	157,52 ± 66,54 ^b	<0,001
NEA	205,56 ± 100,14 ^a	199,83 ± 111,58 ^b	< 0,703
NCL	9,41 ± 3,22 ^a	12,32 ± 3,84 ^b	< 0,486

Valores de p diferem estatisticamente por letras diferentes indicadas na mesma linha, (p < 0,05).

Por outro lado, na morfometria epididimal foi evidenciado que a altura do epitélio (AE) apresentou médias significativamente maiores na região do corpo (CORP) e cabeça (CAB), para machos com testículos descendentes, enquanto que para região da cauda, uma maior média significativa foi constatada para testículos não descendentes. (Tabela 2).

Tabela 2: Médias e desvios padrão da altura do epitélio (AE) das três regiões do epidídimo de machos com testículos descendentes e não descendentes de *Myotis nigricans* em fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco.

Parâmetros	TD	TND	valores de p
CAB	0,88 ± 0,24 ^a	0,87 ± 0,29 ^a	< 0,001
CORP	0,69 ± 0,25 ^a	0,63 ± 0,22 ^b	< 0,001
CAU	0,35 ± 0,15 ^a	0,41 ± 0,17 ^b	< 0,001

Valores de p diferem estatisticamente entre letras diferentes na mesma linha, (p < 0,05).

As características dos testículos e epidídimos de *M. nigricans* seguem um padrão semelhante a outras espécies de morcegos Krutzsch (2000); Beguelini *et al.* (2015). Em machos com testículos descendentes nota-se uma maior produção espermática, visto que as áreas de ocupação dos túbulos seminíferos apresentam médias maiores, bem como a quantidade de células de Sertoli e espermatócitos. Estudos realizados por Beguelini *et al.* (2015), no noroeste do Estado de São Paulo, Brasil, mostra que a regressão testicular total começa nos meses de setembro com a acentuada diminuição na produção de testosterona, os testículos apresentaram uma morfologia onde os túbulos seminíferos apresentaram uma regressão composta de apenas células de Sertoli e espermatogônias.

Para a espécie do presente estudo, a posição testicular tem influência na atividade sexual dos machos, o que possivelmente pode estar sincronizado a maior receptividade sexual das fêmeas para machos com essa condição testicular. Esses resultados diferem dos estudos realizados por Lima Junior (2014), que não encontrou diferenças significativas nas áreas de ocupação dos compartimentos tubular e intertubular de testículos descendentes e não descendentes do morcego

Phyllostomus discolor em áreas de Mata Atlântica. As características morfofisiológicas da reprodução dos morcegos estão relacionadas às condições ambientais e climáticas, por tal razão, existem variações nas estratégias desenvolvidas dentro de uma mesma família, gênero, e dentro de uma mesma espécie Taddei (1980); Zortéa (2003).

Os machos com testículos não descendentes apresentaram maiores médias da área de ocupação do espaço intertubular e um maior número em células de Leydig, o que pode estar relacionado a um maior investimento esteroidogênico nesse estágio reprodutivo, indicando uma preparação fisiológica para uma posterior atividade sexual. Sabe-se que as células de Leydig são responsáveis pela síntese de andrógenos, e a manutenção das células germinativas depende diretamente da testosterona O'donnell *et al.*, (2001); Gilbert (2006).

M. nigricans apresenta estratégias em relação a biologia reprodutiva, como o armazenamento prolongado de espermatozoides nos epidídimos Beguelini *et al.* (2015). Fator este que se relaciona com as medidas morfométricas do presente estudo, visto que foi constatada uma diminuição na altura do epitélio epididimal da região caudal do epidídimo em machos com testículos descendentes, o que pode relacionar ao aumento da concentração de esperma na cauda, região esta que ocorre a estocagem prolongada.

Concluimos que, a posição testicular influencia na atividade sexual de *M. nigricans*, visto que os machos com testículos descendentes apresentam um maior investimento na espermatogênese, ao passo que machos com testículos não descendentes têm uma maior demanda esteroidogênica. No epidídimo, a altura do epitélio apresenta menores médias em machos com testículos descendentes, o que pode estar relacionado à estocagem de esperma nesta região.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida ao 2º autor, bolsa de mestrado concedida ao 3º autor e a Reserva Biológica de Saltinho - Pernambuco por permitir a realização da presente pesquisa em suas propriedades e pelo apoio logístico.

REFERÊNCIAS

Aguiar, L. M. S.; Antonini, Y.; Diet of two sympatric insectivores bats (Chiroptera: Vespertilionidae) in the Cerrado of the Central Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, n. 25, v. 1, p. 28-31, 2008.

BEGUELINI, M. R. 2008. Estudo da espermatogênese e nucleogênese de morcegos. Tese de Doutorado. Tese (Mestrado em Genética). Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto-SP. São Paulo, p.144. MSc diss

Beguelini, M. R., Puca, C. C., Martins, F. F., T, S. R.; Morielle-Versute, E. Two periods of testicular regression, not directly linked to apoptosis, are peculiar events of the annual reproductive cycle of *Myotis nigricans* (Chiroptera: vespertilionidae). *Molecular Biology of the Cell*, São Paulo, p.2, 2011.

BEGUELINI, M. R.; GOES, R. M.; RAHAL, P.; MORIELLE-VERSUTE, E., TABOGA, S. R. 2015. Impact of the Processes of Total Testicular Regression and

Recrudescence on the Epididymal Physiology of the Bat *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae). PLOS One, p.1-18.

Beguelini, M. R.; Puca, C. C. I.; Martins, F. F.; Betoli, A. H. S.; Taboca, S. R.; Morielle-Versute, E. 2013a. Morphological Variation of Primary Reproductive Structures in Males of Five Families of Neotropical Bats. *The Anatomical Record*, v. 296, p.156–167.

Brito, J. E. C.; Gazani, J.; Zawadzki, C. H. 2010. Abundância e frugivoria da quiropterofauna (Mammalia, chiroptera) de um fragmento no noroeste do Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, Paraná, v. 32, n. 3, p. 265-271.

Esbérard, C.E.L. 2002. Composição da colônia e reprodução de *Molossus rufus* em refúgio no sudeste do Brasil (Mammalia, Molossidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, v.19, n.4, p.1153-1160.

Gannon, M. R.; Willigl, M. R. 1992. Bat reproduction in the Luquillo Experimental Forest of Puerto Rico. *The Southwest Naturalist*, Porto Rico, v.37, n.4, p.414-419.

Gardner, A.L. (Ed.). 2008 *Mammals of South America: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats*. University of Chicago Press, Chicago, v.1 .

Gilbert, F. S. 2006. *Developmental Biology*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, p.817 ,

Krutzsch, P.H. 2000. Anatomy, physiology and cyclicity of the male reproductive tract. In: CRICHTON E.G.; KRUTZSCH P.H. (Eds.), Reproductive biology of bats.

Mccracken & Gary F.; Wilkinson & Gerald S. 2000. Bat mating systems. Reproductive biology of bats, v. 12, p. 3-5.

MORAIS, D. B. 2008. Morfologia e morfometria testicular em morcego insetívoro (*Molossus molossus*, Pallas, 1776 Chiroptera: Molossidae). – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, MSc diss.

Morais, D. B.; Paula, T. A. R.; Barros, M. S.; Balarini, M. K.; Freitas, M. B. D.; Matta, S. L. P. 2013. Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. *J. Anat.* 222, pp 372—379.

O'donel, L.; Robertson, K. M.; Jones, M.E. 2001. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrinology*, v.22, p.280- 318.

Peracchi, A.; Lúcio et al. 2006. Ordem chiroptera. *Mamíferos do Brasil*, p. 153-230.

Racey, P.A. Reproductive assessment in bats. In: KUNZ, T.H.(Ed.). 1988. Ecological and behavioral methods for the study of bats. Washington, DC, Smithsonian Institution Press , p. 31-43.

Simmons, N.B. 2005. Ordem Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds).

Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p.312 – 529.

LIMA JUNIOR, N. B.; ARANDAS, M. J. G.; MARINHO, K. S. N.; AGUIAR JÚNIOR, F. C. A.; PONTES, A. R. M.; SANTOS, K. R. P. Histomorfometria testicular do morcego *Phyllostomus discolor* (Chiroptera: Phyllostomidae) em áreas de Mata Atlântica de Pernambuco. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, Pernambuco ,v. 51, n. 3, p. 263-270, 2014.

WILSON, D.E.; FINDLEY, J.S. Reproductive cycle of a Neotropical insectivorous bat, *Myotis nigricans*. **Nature**, v. 225, p. 1155, 1970.

ZORTÉA, M. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian Cerrado. **Braz. J. Biol.**, v. 63,p; 159-168, 2003.

ORTÊNCIO, F. H.; REIS,N.R.; PINTO,D.E. ;VIEIRA,D.C. Aspectos reprodutivos de *Artibeus lituratus* (Phyllostomidae) em fragmentos florestais na região de Porto Rico, Paraná, Brasil. **Chiropt Neotrop** v.13 n.2: 313-318, 2007

GOMES MN E UIEDA W. 2004. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Bras Zoo 21** , São Paulo, 2004.

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou que a posição testicular influencia na atividade sexual de *M. nigricans*, visto que a partir das análises morfométricas, os machos com testículos descendentes apresentam uma maior atividade espermática, na medida em que os machos com testículos não descendentes têm um maior investimento esteroidogênico.

No epidídimo quando mensurado a altura do epitélio, foi possível verificar que a região caudal em machos com testículos descendentes apresentam uma menor média quando comparado aos machos com testículos não descendentes, isso pode estar relacionado à quantidade de esperma no lúmen, estando em maior concentração em machos com testículos descendentes, uma vez que o aumento da quantidade de espermatozoides tem um efeito direto no aumento do lúmen e na diminuição da altura do epitélio.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. M. S.; ANTONINI, Y.; Diet of two sympatric insectivores bats (Chiroptera: Vespertilionidae) in the Cerrado of the Central Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 25, p. 28-31, 2008.
- ASTÚA, D; GUERRA, D .Q. Caatinga bats in the Mammal Collection of the Universidade Federal de Pernambuco. **Chiroptera Neotropical**, v. 14, n. 1, p. 326-338, 2008.
- BARCLAY,R.M.R; BRIGHAM, R. M. Constraints on optimal foraging: a field test of prey discrimination by echolocating insectivorous bats. **Animal Behaviour**, v. 48, n. 5, p. 1013-1021, 1994.
- BEGUELINI, M. R. Estudo da espermatogênese e nucleogênese de morcegos. Tese de Doutorado. Tese (Mestrado em Genética). Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto-SP. São Paulo ,p.144. MSc diss, 2008.
- BEGUELINI, M.R; ET AL. Two periods of testicular regression, not directly linked to apoptosis, are peculiar events of the annual reproductive cycle of *Myotis nigricans* (Chiroptera: vespertilionidae). **Molecular Biology of the Cell**, São Paulo, v.22,p.2 ,2011.
- BEGUELINI, M. R.; ET AL. Impact of the Processes of Total Testicular Regression and Recrudescence on the Epididymal Physiology of the Bat *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae). **PLOS One**, p.1-18 , 2015.
- BEGUELINI, M. R.; ET AL.; Morphological Variation of Primary Reproductive Structures in Males of Five Families of Neotropical Bats. **The Anatomical Record**, v. 296, p.156–167, 2013^a.
- BEGUELINI, M.R.;ET AL. The contribution of bats to leptospirosis transmission in São Paulo City, **Brazil. Am J Trop Med Hyg**, São Paulo, n.82, p.315-7, 2010.
- BIANCONI, G. V.; PEDRO, W. A. Família Vespertilionidae. **Morcegos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, p. 167-195, 2007.
- BREDT, A.; UIEDA, W.; MAGALHÃES, E. D. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista Brasileira Zoologia** v 16 , n 3 p. 731-770,1999.
- BRITO, J. E. C.; GAZANI, J.; ZAWADZKI, C. H. Abundância e frugivoria da quiropterofauna (Mammalia, chiroptera) de um fragmento no noroeste do Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological* , **Sciences**, Paraná,v. 32, n. 3, p. 265-271, 2010.
- CARNEIRO, N. F. F. ET AL Raiva em morcegos *Artibeus lituratus* em Montes Claros, Estado de Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, Minas Gerais, v. 42, n. 4, p. 449-451, 2009.

CUNHA, S.E.M; ET AL. Bat rabies in the North-northwestern regions of São Paulo State – Brazil, 1997-2002. **Rev Saude Publica**, São Paulo ,p 555-569, 2006.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the Neotropics. **The Central Tropics**. Chicago and London, Vol. 3. 1999.

ESBÉRARD , C.E.L. Composição da colônia e reprodução de *Molossus rufus* em refúgio no sudeste do Brasil (Mammalia, Molossidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.19, n.4, p.1153-1160, 2002.

FABIÁN, M. Quirópteros do bioma caatinga, no Ceará, Brasil, depositados no museu de ciências naturais da fundação zoobotânica do Rio Grande do Sul. **Chiroptera Neotropical**, Ceará, v. 14, n. 1, p. 354-359, 2008.

FARIA, D.; SOARES,S.B; SAMPAIO,E.. Bats from the Atlantic rainforest of southern Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, Bahia, v. 6, n. 2, p. 0-0, 2006.

FENTON, M. B.; ET AL. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the neotropics. **Biotropica**, v.24, n.3, p.440 - 446, 1992.

FLEMING, T. H.; HOOPER, E.T.; WILSON, D. E. Three Central American Bat Communities: Structure, Reproductive Cycles, and Movement Patterns. **Ecology**, v. 53, n. 4, p. 555-569, 1972.

GANNON, M. R.; WILLIGL, M. R. Bat reproduction in the Luquillo Experimental Forest of Puerto Rico. **The Southwest Naturalist**, Porto Rico ,v.37, n.4, p.414-419, 1992.

GARDNER, A.L. Mammals of South America: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats. **University of Chicago Press**, Chicago, v. 1, P. 669, 2008.

GOMES MN E UIEDA W. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira Zoologia** Curitiba, v.21, n.3, p.1-10 2004.

HAPPOLD, D.C.D, and HAPOOLD,M.. "Reproductive strategies of bats in Africa." **Brazilian Journal of Zoology** , Science v.222, n.4, p.557-583,1990.

HESS, R. A.; FRANCA, L.R. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: **Molecular Mechanisms in Spermatogenesis**. New York, p. 1-15, 2009.

JOHNSON, L.,ET AL. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 471-480, 2000.

JONES, G.; TEELING, E.C. The evolution of echolocation in bats. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 3, p. 149-156, 2006.

KARL, J.; CAPEL, B. Sertoli cells of mouse testis originate from the coelomic epithelium. **Develop Biol.**, v.203, n.2, p.323-333, 1998.

KRUTZSCH, P.H. Anatomy, physiology and cyclicity of the male reproductive tract. **Reproductive biology of bats** . Academic Press, London, United Kingdom, p. 91-155, 2000.

LAVAL, B., RICHARD K., HENRY S. F. "Structure, movements and reproduction in three Costa Rican bat communities. Estructura, movimientos y reproducción en tres comunidades de murciélagos costarricenses." **Occasional Papers** v.69 ,p. 1-28, 1977.

LIMA JUNIOR, N. B.; ET AL. Histomorfometria testicular do morcego *Phyllostomus discolor* (Chiroptera: Phyllostomidae) em áreas de Mata Atlântica de Pernambuco. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, Pernambuco ,v. 51, n. 3, p. 263-270, 2014.

MCCRACKEN, G. F.; WILKINSON, Gerald S. Bat mating systems. **Reproductive biology of bats**, v. 12, p. 3-5, 2000.

MELLO, A.R.M; KALKO, K.V.E; SILVA, R.W. Diet and abundance of the bat *Sturnira lilium* (Chiroptera) in a Brazilian montane Atlantic forest. **Journal of Mammalogy**, v. 89, n. 2, p. 485-492, 2008.

MELO, A.R.S. ET AL. Primeiro registro de raiva em morcegos insetívoros no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. **Chiropt. Neotrop.**, Pernambuco, v.16, p.143-145, 2010.

MORAIS, D.B. ET AL. Histomorphometric characterization of the intertubular compartment in the testes of the bat *Sturnira lilium*. **Animal reproduction science**, v. 147, n. 3, p. 180-186, 2014.

MORAIS, D. B. Morfologia e morfometria testicular em morcego insetívoro (*Molossus molossus*, Pallas, 1776 Chiroptera: Molossidae). 2008. 74f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

MORAIS, D.B. ET AL. Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. **Journal of anatomy**, v. 222, n. 3, p. 372-379, 2013.

NEUWEILER, G. **The biology of bats**. Oxford University Press p. 310, 2000.

NOWAK, R.M. **Walker's bats of the world**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Oxford University Press , 1994.

O'DONEL, L.; ROBERTSON, K. M.; JONES, M.E. Estrogen and spermatogenesis. **Endocrinology**, v.22, p.280- 318, 2001.

ORTÊNCIO, F. H.; ET AL. Aspectos reprodutivos de *Artibeus lituratus* (Phyllostomidae) em fragmentos florestais na região de Porto Rico, Paraná, Brasil. **Chiropt Neotrop** v.13 n.2: 313-318, 2007.

- PAULA, T.A.R.; COSTA, D.S.; MATTA, S.L.P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. **Biosci J.** v.18, n.1, p.121-136, 2002.
- PERACCHI, A.L.; ET AL. Ordem Chiroptera. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. (Eds). **Mamíferos do Brasil**. Londrina, p. 153-230, 2006 .
- RACEY, P.A. Ecology of bat reproduction. In: KUNZ, T.H [Ed.]. *Ecology of Bats*. **Springer US** ,New York p. 425, 1982.
- REIS, N. R.; ET AL. Reproductive cycles, and movement patterns. **Morcegos do Brasil**. Londrina, p. 253, 2007.
- RUSSELL, L.D.,ET AL. Mammalian spermatogenesis.(Eds). Histological and histopathological evaluation of the testis Cache River Press, **Clearwater**, Florida, v.1 p. 1-40, 1990.
- SCANLON, V.C; SANDERS, T. **Essentials of anatomy and physiology**. 5ª edição, 2007.
- SCHNEIDER, M. Mastofauna. In C.J. Alho (ed.). Fauna silvestre da região do rio Manso, MT. MMA, **Edições IBAMA/ELETRONORTE**, Brasília, p. 217-267, 2000.
- SIMMONS, N.B. Ordem Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds). *Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference*. Baltimore: **Johns Hopkins University Press**, p.312 – 529, 2005.
- SODRÉ, M.M.; GAMA, ET AL.Updated list of bat species positive for rabies in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 75-81, 2010.
- SOUZA L.C; ET AL. Vigilância epidemiológica da raiva na região de Botucatu-SP: importância dos quirópteros na manutenção do vírus na natureza. **Ars. Veterinária** v.21,n1,p. 62-6,2005.
- TEELING, E. C.; ET AL. Microbat paraphyly and the convergent evolution of a key innovation in Old World rhinolophoid bats. **PNAS**, v. 99, p. 1431-1436, 2002.
- TEELING, E. C.; ET AL.Molecular evidence regarding the origin of echolocation and flight in bats. **Nature**, v. 403, p. 188-192, 2000.
- TEELING, E. C.; ET AL. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. **Science**, v. 307, p. 580-584, 2005.
- VAN DEN BUSSCHE, R. A.; HOOFER, S.R. Phylogenetic relationships among recent chiropteran families and the importance of choosing appropriate out-group taxa. **Jour of Mam**, v. 85, n. 2, p. 321-330, 2004.

WILLIG, M.R. Reproductive patterns of bats from Caatingas and Cerrado biomes in northeastern Brazil. **Jour of Mam**, v. 66, p. 668-681, 1985.

WILSON, D.E.; FINDLEY, J.S. Reproductive cycle of a Neotropical insectivorous bat, *Myotis nigricans*. **Nature**, v. 225, p. 1155, 1970.

WILSON, Don E.; REEDER, DeeAnn M. (Ed.). Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. **JHU Press**, v.1, 2005.

ZORTÉA, M. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian Cerrado. **Braz. J. Biol.**, v. 63,p; 159-168, 2003.

ANEXO: NORMAS DA REVISTA

REVISTA NORDESTINA DE ZOOLOGIA (no 4 - 2010)

NORMAS PARA SUBMISSÃO (Adaptado da RBZ, 2010)

• GENERALIDADES

Os Manuscritos devem ser enviados via e-mail (mínimo seis laudas/máximo 20 laudas - WORD), acompanhados por carta de concessão (modelo em anexo) de direitos autorais, assinada pelo primeiro autor do trabalho (PDF).

Os trabalhos devem ser redigidos em Português ou Inglês. O aceite de outro idioma ficará a critério da Comissão Editorial; ressalta-se que a submissão de trabalhos em inglês é estimulado.

O texto deverá ser digitado em espaço duplo, fonte arial, tamanho 12, com margens esquerda e direita de 3 cm, alinhado à esquerda e suas páginas devidamente numeradas.

A página de rosto deve conter:

- 1) título do artigo (maiúsculo e em negrito), mencionando o(s) nome(s) da(s) categoria(s) superior(es) à qual o(s) animal(ais) pertence(m);
- 2) nome(s) do(s) autor(es) com endereço(s) completo(s), exclusivo para recebimento de correspondências, e com respectivos algarismos arábicos para remissões;
- 3) resumo e palavras-chave na mesma língua do artigo (português ou inglês), e abstract na segunda língua (português ou inglês).
- 4) palavras-chave/key words, no máximo cinco, em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título;

Os nomes de gênero(s) e espécie(s) são os únicos do texto em itálico. A primeira citação de um taxa no texto, deve vir acompanhada do nome científico por extenso, com autor e data.

Citações bibliográficas devem ser feitas da seguinte forma: Smith (1990), Smith (1990: 128), Lent & Jurberg (1965), Guimarães et al. (1983), artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser arrolados em ordem cronológica.

• FIGURAS E TABELAS

Figuras (fotografias, desenhos, gráficos e mapas). Devem ser nítidas e contrastadas. A relação de tamanho da figura, quando necessária, deve ser apresentada em escala vertical ou horizontal.

As figuras devem estar numeradas com algarismos arábicos, no canto inferior direito e chamadas no texto em ordem crescente.

Figuras em formato digital devem ser enviadas em arquivos separados, no formato TIF ou JPG. No momento da digitalização utilizar as seguintes definições mínimas de resolução: 100 ppp para fotos coloridas ou em tons de cinza. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito.

Tabelas devem ser geradas a partir dos recursos de tabela do editor de texto utilizado, numeradas com algarismos romanos. O cabeçalho de cada tabela deve constar junto à respectiva tabela.

• AGRADECIMENTOS

Agradecimentos, indicações de financiamento e numeração de licenças devem ser relacionados antes do item Referências.

• REFERÊNCIAS

As Referências Bibliográficas, mencionadas no texto, devem ser arroladas no final do trabalho, como nos exemplos abaixo.

Periódicos devem ser citados com o nome completo, por extenso, indicando a cidade onde foi editado.

Periódicos

Nogueira, M.R.; A.L. Peracchi & A. Pol. 2002. Notes on the lesser white-lined bat, *Saccopteryx leptura* (Schreber) (Chiroptera, Emballonuridae), from southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, 19 (4): 1123-1130.

Lent, H. & J. Jurberg. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma Laporte, 1832* (Hemiptera, Reduviidae). *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, 40 (3): 611-627.

Smith, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. *Revista Brasileira de Entomologia*, São Paulo, 34 (1): 7-200.

Livros

Hennig, W. 1981. *Insect phylogeny*. Chichester, John Wiley, XX+514p.

Capítulo de livro

Hull, D.L. 1974. Darwinism and historiography, p. 388-402. In: T.F. Glick (Ed.). *The comparative reception of Darwinism*. Austin, University of Texas, IV+505p.

Publicações eletrônicas .

Marinoni, L. 1997. Sciomyzidae. In: A. Solís (Ed.). *Las Familias de insectos de Costa Rica*. Disponível na World Wide Web em:
<http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto630.html> [data de acesso].

Teses e Dissertações:

SILVEIRA, L.T. 1991. Revisão taxonômica do gênero *Periandra* Mart. ex Benth. Univ. Estandarte. Campinas, MSc diss.

Publicações em eventos:

FERNANDES, A. & P. BEZERRA. 1982. O gênero *Moldenhawera* (Leg. Caesalp.) no Brasil. Sociedade Botânica do Brasil, XXXII Congresso Nacional de Botânica, Anais. Teresina, pp. 58-62. FORTUNATO, R.H. 1994. Revisión del género *Collaea*. Sociedad Latinoamericana de Botánica, VI Congreso Latinoamericano de Botánica, Resúmenes, Mar del Plata, p. 252.

- ENCAMINHAMENTO

Os artigos enviados à REVISTA NORDESTINA DE ZOOLOGIA (e-mail de contato dos editores) serão protocolados e encaminhados para consultores. O artigo com os pareceres emitidos serão devolvidos ao autor correspondente para considerar as sugestões. Alterações ou acréscimos aos artigos após esta fase poderão ser recusados. Provas serão enviadas eletronicamente ao autor correspondente.

- SEPARATAS

O manuscrito será enviado via e-mail (PDF) para os autores de correspondência, assim como um exemplar do número e volume impresso. Tiragem maior poderá ser atendida, mediante prévio acerto de custos com o editor.

- EXEMPLARES TESTEMUNHA

Quando apropriado, o manuscrito deve mencionar a coleção da instituição onde podem ser encontrados os exemplares que documentam a identificação taxonômica.

- RESPONSABILIDADE

O teor gramatical, independente de idioma, e a veracidade científica dos artigos é de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

Atenciosamente,

Comissão Editorial - RNZ

COMISSÃO EDITORIAL

Editor Chefe:

Dr. Múcio Luis Banja Fernandes / UPE

Editores Adjuntos:

-Invertebrados Aquáticos: Dr. Marcos Souto / UFRPE

-Invertebrados Terrestres: Dr. Auristela Albuquerque/ UFRPE

-Vertebrados: Dr. Geraldo Jorge Barbosa de Moura / UFAL