



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE HUMANA E MEIO
AMBIENTE - PPGSHMA

Nivaldo Bernardo de Lima Junior

**CONDIÇÃO REPRODUTIVA E HISTOMORFOMÉTRICA
DO TESTÍCULO, EPIDÍDIMO E OVÁRIO DO MORCEGO
Dermanura cinerea (GERVAIS, 1856) (CHIROPTERA:
PHYLLOSTOMIDAE) NA RESERVA BIOLÓGICA DE
SALTINHO – PERNAMBUCO**

Vitória de Santo Antão
2016

Nivaldo Bernardo de Lima Junior

**CONDIÇÃO REPRODUTIVA E HISTOMORFOMÉTRICA
DO TESTÍCULO, EPIDÍDIMO E OVÁRIO DO MORCEGO
Dermanura cinerea (GERVAIS, 1856) (CHIROPTERA:
PHYLLOSTOMIDAE) NA RESERVA BIOLÓGICA DE
SALTINHO – PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de Mestre em **Saúde Humana e Meio Ambiente**.

Área de Concentração: Saúde Humana e Meio Ambiente

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Garcia

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Katharine Raquel Pereira dos Santos

**Vitória de Santo Antão
2016**

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Roseane Souza de Mendonça, CRB4-1148

- L732c Lima Junior, Nivaldo Bernardo de.
Condição reprodutiva e histomorfológica do testículo, epidídimo e ovário do morcego *Dermanura cinerea* (GERVAIS, 1856) (Chiroptera : Phyllostomidae) na Reserva Biológica de Saltinho – Pernambuco / Nivaldo Bernardo de Lima Junior. - 2016.
92 folhas: il.
- Orientador: José Eduardo Garcia.
Coorientador: Katharine Raquel Pereira dos Santos.
Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, 2016.
Inclui bibliografia.
1. Morcego. 2. *Dermanura cinerea* - Histologia e Morfometria. 3. *Dermanura cinerea* - Reserva Biológica de Saltinho - Nordeste do Brasil. I. Garcia, José Eduardo (Orientador). II. Santos, Katharine Raquel Pereira dos (Coorientador). III. Título.

599.4 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-058/2016



Dissertação de Mestrado apresentada por **Nivaldo Bernardo de Lima Junior** ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, sob o título “**CONDIÇÃO REPRODUTIVA E HISTOMORFOMÉTRICA DO TESTÍCULO, EPIDÍDIMO E OVÁRIO DO MORCEGO *DERMANURA CINEREA* (GERVAIS, 1856) (CHIROPTERA: PHYLLOSTOMIDAE) NA RESERVA BIOLÓGICA DE SALTINHO - PERNAMBUCO**”, orientada pelo Prof. Dr. José Eduardo Garcia e coorientada pela Prof.^a Dr.^a Katharine Raquel Pereira dos Santos, aprovada no dia 24 de fevereiro de 2016 pela Banca Examinadora composta pelos seguintes professores:

Dr.^a Ana Cristina Lauer Garcia

Núcleo de Biológicas – CAV/UFPE

Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior

Núcleo de Biológicas – CAV/UFPE

Dr. Cristiano Aparecido Chagas

Núcleo de Biológicas – CAV/UFPE

Autor

Nivaldo Bernardo de Lima Junior

Aos meus pais Nivaldo Bernardo e Silvia Alves, pelo amor, compreensão, carinho, sacrifício e empenho ofertado ao longo dessa caminhada. Minha dignidade, caráter, respeito, bem como tudo que sou e me tornei, devo a vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus que é Uno e Trino, verdade e vida, digno de toda honra e louvor. A Virgem Maria que intercede por mim ao Pai Celestial, me abençoa e protege sempre, cobrindo com seu manto sagrado.

Aos meus amados pais, Nivaldo Bernardo e Sílvia Alves, pelo amor incondicional, educação ofertada e ensinamentos de vida de valores imensuráveis. Por serem meus grandes exemplos de vida e por acreditarem em mim, apoiando-me sempre nas escolhas que faço. Obrigado por me darem forças quando nem eu mesmo possuía e por não desistirem nunca de mim. Essa conquista é para e por vocês.

À minha querida Irmã Hávila Walkíria, por todo o carinho, amor, companheirismo e ajuda. Pela torcida diária na conquista por esse título.

Às minhas sobrinhas Hágda Emylle e Thayná Lohanny pelo carinho, amor, alegria e ensinamento. Vocês me fizeram mais humano e despertaram, desde cedo, em mim o sentimento paternal.

Ao meu orientador, rondonista, professor e amigo José Eduardo Garcia pela confiança depositada e todo apoio ofertado. Serei eternamente grato por essa oportunidade que fez a grande diferença em minha vida. Obrigado por seu sim no momento que mais precisei e por estar sempre à disposição.

À minha coorientadora, professora e amiga Katharine Santos, por todos os ensinamentos e conselhos que contribuíram bastante para meu crescimento. Um exemplo de pessoa e profissional que faz o possível para ajudar no que for preciso. Sempre esteve disposta a mostrar-me a estrada quando, por vezes, estava na dúvida. Sou eternamente grato por sua participação na minha vida enquanto pesquisador e ser humano.

Ao professor Francisco Amanajás, pela contribuição e parceria nas análises morfométricas e estatísticas do presente trabalho. Agradeço por todo o suporte e disponibilidade.

À Professora Neide Santos do Departamento de Genética/UFPE/Recife, pela oportunidade e parceria firmada durante o período de coleta, bem como aos companheiros de campo do Laboratório de Genética e Citogenética Animal/LGCA – UFPE/Recife: Neto Carvalho, Gustavo Melo, Izaquiel Andrade e Seu Mário (*In memoriam*).

Às minhas amigas/irmãs Ketsia Sabrina e Fabricya Roberta que, junto comigo, formamos um trio inseparável. Obrigado pela ajuda, apoio, ensinamento, amizade, carinho e respeito. Estudar o mestrado com vocês, bem como dividir o mesmo laboratório, noites de estudos e ideais, tornou tudo mais leve. Soubemos aproveitar cada detalhe e instante,

porque sempre estivemos prontos para auxiliar o outro no que fosse preciso. Estaremos sempre juntos na conquista de novos sonhos.

À Juliana Arandas, minha eterna coorientadora que se tornou minha grande amiga e irmã em Cristo. Foi com você que comecei a galgar os primeiros passos na pesquisa. Obrigado por ser essa pessoa extremamente humana que vibra de alegria com minhas conquistas e está sempre ao meu lado nos momentos de dificuldades. Nossa reciprocidade e empatia são ímpares. Obrigado por sonhar comigo os sonhos de Deus e por estar sempre à disposição ofertando sua ajuda, por sempre acreditar no meu potencial e não desistir de mim em nenhum momento. A você oferto minha sinceridade, companheirismo, amor, carinho, cumplicidade, admiração, amizade, irmandade e respeito.

À Eveline Alves pela amizade no laboratório, em campo e nas madrugadas de estudo. Sua companhia sempre foi e é muito agradável. Dividimos momentos bastante difíceis nessa jornada, mas compartilhamos de muita alegria e momentos de descontração também.

Aos meus coorientandos Diego Vinícius e Hérica Silva. Obrigado pelo auxílio e ajuda tanto no laboratório nas técnicas histológicas, quanto nas coletas de campo. Cada um de vocês contribuiu de alguma forma e a sua maneira, para essa conquista.

Aos companheiros e amigos do Laboratório e da família Biotecnologia e Fármacos, em especial: Camila Priscila, Dhara Beltrão, Erivaldo Alves, Francilleni Gomes, Lucas Alcantara, Pedro Thiago e Ruthellen Kassia. Agradeço pela contribuição quer seja através da ajuda no laboratório ou em campo, quer seja por meio de uma palavra de incentivo, companheirismo ou momentos de alegria compartilhados.

Às amigas Thalita Costa e Isabelly Barbosa que sempre estão ao meu lado, torcendo por minhas conquistas. Uma amizade que nasceu da graduação para a vida. Minhas amigas/irmãs do coração.

À amiga Erima Amorim pelas palavras de apoio e incentivo, bem como pela ajuda nos momentos de dúvidas ao longo dessa caminhada. Obrigado por está sempre disposta a ajudar no que fosse preciso.

Ao meu amigo André Pedroso que se tornou um grande irmão.

À Alaine Custódio, pela amizade de sempre. De longe ou perto, presente ou ausente, sei que está torcendo e rezando por mim. Você tem grande participação nessa conquista e sou muito grato a você por isso e por tudo que já fez por mim.

A cada amigo da turma de graduação Ciências Biológicas/Licenciatura 2009.2 – 2013.1 UFPE/CAV.

A toda equipe administrativa e gestora, bem como aos seguranças da Reserva Biológica de Saltinho – Pernambuco, pela acolhida e receptividade durante todo o período de coleta.

Aos amigos da turma 2014.1 da pós-graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente – PPGSHMA.

A todos que fazem o Programa de Pós-graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente – PPGSHMA, em especial aos professores pelos ensinamentos ofertados e conhecimento construído ao longo de todo o mestrado.

À Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro Acadêmico de Vitória – CAV pela disponibilização de suas instalações para a realização dessa pesquisa.

Aos morcegos que ao longo de todo o tempo de pesquisa, constituíram meu objeto de estudo, despertando em mim a vontade incessante por querer estudá-los cada vez mais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, e a Pró-Reitoria para Assuntos Estudantis (PROAES) da UFPE pelo auxílio financeiro.

E por último, porém não menos importante, a todos que de uma forma ou de outra, contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho e, por conseguinte, desse sonho.

A todos, muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE SÍMBOLOS	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xix
CAPÍTULO 1	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1. Objetivo geral	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
1.3 Revisão da Literatura.....	4
1.3.1 Diversidade e Classificação filogenética da Ordem Chiroptera.....	4
1.3.2 Hábitos alimentares e importância ecológica dos morcegos.....	6
1.3.3 Família Phyllostomidae.....	7
1.3.3.1 Subfamília Stenodermatinae e a espécie <i>Dermanura cinerea</i>	7
1.3.4 Mata Atlântica	10
1.3.5 Biologia reprodutiva em morcegos	11
1.3.6 Testículos	13
1.3.6.1 Células de Sertoli.....	15
1.3.6.2 Espermatogênese.....	15
1.3.6.3 Células de Leydig	16
1.3.7 Epidídimos.....	17
1.3.8 Espermatogênese, produção de andrógenos testiculares e estocagem de espermatozoides em morcegos.....	17
1.3.9 Ovários	23
1.3.9.1 Oogênese e folículo gênese	24
1.3.9.2 Oogênese e folículo gênese em morcegos.....	25

CAPÍTULO 2	28
Estágio reprodutivo, histologia e morfometria sazonal do testículo e epidídimo de <i>Dermanura cinerea</i> (Chiroptera: Phyllostomidae) em um Fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil	28
RESUMO	29
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO	30
MATERIAL E MÉTODOS	32
ÁREA DE ESTUDO E COLETA DOS DADOS	32
DADOS METEOROLÓGICOS	32
MORFOLOGIA EXTERNA	33
EUTANÁSIA DOS ANIMAIS	33
COLETA DOS ÓRGÃOS E ANÁLISE ANATÔMICA	34
ANÁLISE HISTOLÓGICA	34
ANÁLISES MORFOMÉTRICAS	34
ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO 3	61
Análise do estágio reprodutivo e histomorfometria ovariana de <i>Dermanura cinerea</i> (Chiroptera: Phyllostomidae) em um Fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil	61
RESUMO	62
ABSTRACT	62
INTRODUÇÃO	63
MATERIAL E MÉTODOS	64
RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
CONCLUSÕES	73
REFERÊNCIAS	73
DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES	77

REFERÊNCIAS78
ANEXOS.....xx
ANEXO Axxi
ANEXO Bxxiii

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Divisão filogenética da ordem Chiroptera. A) Nova Classificação filogenética. Duas novas subordens: Yinpterochiroptera e Yangochiroptera, com base em análises moleculares. B) Classificação tradicional. Duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera, baseada em caracteres fisiológicos e morfológicos (JONES; TEELING, 2006).

Figura 1.2: Morcego da espécie *D. cinerea* macho coletado na Reserva Biológica de Saltinho/PE. Observar a região inguinal (setas) onde ficam localizados os testículos.

Fonte: Nivaldo Bernardo (Janeiro/2015).

Figura 1.3: Morcego da espécie *D. cinerea* fêmea grávida coletada na Reserva Biológica de Saltinho/PE. Observar o abdômen proeminente (setas) devido a presença do feto.

Fonte: Nivaldo Bernardo (Fevereiro/2015).

Figura 1.4: Desenho esquemático da composição estrutural padrão do testículo de mamífero.

Fonte: Seeley et al., (2014); Brito, (2014)

Figura 1.5: Desenho ilustrativo da composição celular do túbulo seminífero do testículo de Mamífero.

Fonte: Seeley et al., (2014); Brito, (2014)

Figura 1.6: Desenho ilustrativo do ovário de mamífero mostrando os principais componentes estruturais: epitélio germinativo, túnica albugínea, região cortical e região medular. Fonte: Junqueira e Carneiro (2013).

ARTIGO 1

Figura 1: Relação entre a precipitação mensal, número de espécimes e estágio reprodutivo de machos de *Dermanura cinerea* coletados no período de Junho/2014 a

Novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho

Figura 2: Fotomicrografia do compartimento tubular e intertubular do testículo de *D. cinerea* em cada período: A – Período I. B – Período II. C – Período III. D – Período IV. E – Período V. F – Período VI. Observar o epitélio seminífero (ES) com células em diferentes estágios de maturação e o lúmen (L) no compartimento tubular, e as células de Leydig (setas) distribuídas ao longo do compartimento intertubular. Coloração: Hematoxilina – Eosina (HE). Aumento: 400 X. Barras de escala = 20.0 µm.

Figura 3: Fotomicrografia das quatro regiões do epidídimo de *D. cinerea*. A – Segmento inicial; B - Cabeça; C - Corpo; D – Cauda. Observar o epitélio (E) e lúmen (L) de cada região, bem como a presença de espermatozoides no lúmen (setas). Coloração: H. E. Aumento: 400 X. Barras de escala = 20 µm.

Figura 4: Gráficos evidenciado as análises morfométricas do testículo de *D. cinerea* (A - C) coletados no período de Junho/2014 a Novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho. A – Relação entre as médias, por período, da área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) com a precipitação. B – Relação entre as médias, por período, do número de células de Sertoli (NCS), número de espermatócitos (NE) e número de espermátides alongadas (NEA) com a precipitação. C –: Relação entre as médias do número de células de Leydig (NCL) com a precipitação.

ARTIGO 2

Figura 1: Relação entre a precipitação mensal, o número de espécimes e estágio reprodutivo de fêmeas de *Dermanura cinerea* coletadas no período de Junho/2014 a Novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Figura 2: Fotomicrografia dos ovários de *Dermanura cinerea*. Observar os folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação (seta: folículo primário unilaminar; asterisco preto: folículo primário multilaminar; seta pontilhada: folículo antral ou secundário; ponto preto: folículo maduro, de Graaf ou pré-ovulatório) e

Corpo lúteo (Cabeça de seta) por período (Período I – A; Período II – B; Período IV – C; Período V – D; Período VI - E) Coloração: H. E. Aumento: 40 X. Barras de escala: 200 μ m

Figura 3: Relação entre as médias das precipitações mensais (mm) e as médias aritméticas da área do ovário (AO), por período, das fêmeas de *Dermanura cinerea* coletadas entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1: Média e desvio padrão, por período, da área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) do testículo de *Dermanura cinerea* coletados em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 2: Média e desvio padrão do Número de células de Sertoli (NCS), Número de espermatócitos (NE) e Número de espermátides alongadas (NEA) encontradas, por período, no compartimento tubular do testículo de *Dermanura cinerea* coletados em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 3: Média e desvio padrão do Número de células de Leydig (NCL) de *Dermanura cinerea*, por período, coletados em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 4: Média e desvio padrão da altura do epitélio (AE) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 5: Média e desvio padrão do Diâmetro Tubular (DT) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 6: Média e desvio padrão da Diâmetro do Epitélio (DE) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 7: Média e desvio padrão do Diâmetro Luminal (DL) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

ARTIGO 2

Tabela 1: Média e desvio padrão da área do ovário (AO) de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho

Tabela 2: Quantidade dos tipos de folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação e corpo lúteo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Tabela 3: Média aritmética da área ocupada* por folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Por cento
<	Menor que
±	Mais ou menos
=	Sinal de igual
°C	Grau Celsius
μ	Letra grega mi

LISTA DE ABREVIATURAS

AE	Altura do epitélio
AOCT	Área de ocupação do compartimento tubular
AOCI	Área de ocupação do compartimento intertubular
AO	Área do ovário
Ca	Cabeça do epidídimo
Cau	Cauda do epidídimo
CAV	Centro Acadêmico de Vitória
CEUA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CL	Corpo lúteo
Cp	Corpo do epidídimo
DT	Diâmetro tubular
DL	Diâmetro luminal
DE	Diâmetro do epitélio
ES	Epitélio seminífero
H.E.	Hematoxilina – Eosina
I	Inativa
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
G	Grávida
L	Lactante
NBF	Formalina a 10% neutra tamponada
NCL	Número de células de Leydig
NCS	Número de células de Sertoli
NE	Número de espermátocitos
NEA	Número de espermátides alongadas
PL	Pós-lactante
SI	Segmento inicial do epidídimo
SEOMA	Seção de Observação e Meteorologia Aplicada
SISBIO	Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade
SPSS	<i>Statistical Package of the Social Sciences</i>
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
TD	Testículos descendentes
TND	Testículos não descendentes

RESUMO

Dermanura cinerea é um morcego frugívoro, cujas informações acerca da sua biologia reprodutiva ainda permanecem pouco conhecidas em diferentes biomas do Brasil, sobretudo quando se considera as análises morfométricas e histológicas de suas gônadas. O objetivo desse trabalho foi analisar por meio do estágio reprodutivo, histologia e morfometria o testículo, epidídimo e ovário de *D. cinerea*, ao longo do ciclo reprodutivo anual, em um fragmento preservado de Mata Atlântica (Reserva Biológica de Saltinho) situado no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Fêmeas e machos adultos foram capturados por meio de redes de neblina e as coletas ocorreram mensalmente, durante duas noites consecutivas, ao longo de dezoito meses. Os dados meteorológicos foram agrupados em seis períodos de três meses cada: período I (junho – agosto/2014); período II (setembro – novembro/2014); período III (dezembro/2014 – fevereiro/2015); período IV (março – maio/2015); período V (junho – agosto/2015) e período VI (setembro – novembro/2015). Esse agrupamento foi realizado com base no que se tem descrito para o período seco (setembro - fevereiro) e período chuvoso (março - agosto) nessa área de estudo. Entretanto, alguns meses apresentaram médias de precipitação atípicas entre os períodos, enquanto a temperatura teve pouca variação (24,0 a 27,4). Foram capturados um total de 23 machos e 25 fêmeas. Os testículos dos machos foram classificados de acordo com a morfologia externa em: machos com testículos descendentes e não descendentes. Já as fêmeas foram classificadas em: inativas, grávidas, lactantes e pós-lactantes. Os espécimes utilizados nas análises histomofométricas dos órgãos foram eutanasiados. Nos machos foram selecionados 18 espécimes, ao passo que nas fêmeas foram selecionadas 10 inativas. Os órgãos foram coletados, fixados e processados seguindo a técnica histológica de rotina. As lâminas histológicas produzidas foram coradas por Hematoxilina – Eosina e analisadas em microscópio óptico. Morfometricamente, nos testículos, foram realizadas mensurações da área de ocupação do compartimento tubular e intertubular, número de células de Leydig, de Sertoli, de espermatócitos e de espermátides alongadas. No epidídimo foi mensurada a altura do epitélio, o diâmetro tubular, diâmetro do lúmen e diâmetro do epitélio das regiões do segmento inicial, cabeça, corpo e cauda. No ovário foi mensurada as áreas total e de ocupação dos folículos em diferentes estágios de maturação, incluindo a quantificação destes folículos e corpo lúteo. Esses dados foram submetidos ao teste *t* de *Student*. De acordo com os resultados, a atividade testicular de *D. cinerea* não apresenta um padrão reprodutivo definido; o epidídimo possui maior sensibilidade às variações sazonais na região caudal e as fêmeas apresentam dois picos reprodutivos de acordo com os períodos considerados em área de Mata Atlântica do estado de Pernambuco.

Palavras-chave: Morcego; testículo; epidídimo; ovário; sazonalidade.

ABSTRACT

Dermanura cinerea is a fruit bat, whose information about their reproductive biology are still little known in different biomes of Brazil, especially when considering the morphological and histological analyzes of their gonads. The aim of this study was to analyze through the reproductive stage, histology and morphometry the testis, epididymis and ovary of *D. cinerea*, during the annual reproductive cycle in a fragment preserved Atlantic Forest (Biological Reserve Saltinho) located in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. Adult females and males were captured through nets and the collections were monthly during two consecutive nights along eighteen months. Meteorological data were grouped into six periods of three months each: period I (June - August / 2014); period II (September - November / 2014); period III (December / 2014 - February / 2015); period IV (March - May / 2015); period V (June - August / 2015) and period VI (September - November / 2015). This grouping was based on what has been described for the dry season (September - February) and rainy season (March - August) in this study area. However, a few months have mean atypical precipitation between the periods while the temperature had little variation (24.0 to 27.4). A total of 23 males and 25 females were captured. The testes of males were classified according to the external morphology: males with descendant testes and not descendant. The females were classified as inactive, pregnant, lactating and post-lactating. Specimens used in histomorphometric analysis of the organs were euthanized. In males were selected 18 specimens, while females were selected in 10 inactive. The bodies were collected, fixed and processed according to routine histological technique. The produced histological slides were stained with hematoxylin - eosin and analyzed by light microscopy. Morphometrically in the testes were performed measurement of the occupation area tubular compartment and Intertubular, number of Leydig cells, Sertoli cells, spermatocytes and spermatids elongated. In the epididymis was measured the height of the epithelium, the tubular diameter, lumen diameter and diameter epithelial of the regions of the initial segment, caput, corpus and cauda. Ovary was measured and the total areas of occupation of follicles at different stages of maturation, including quantification of these follicles and corpus luteum. These data were submitted to Student's t test. According to the results, testicular activity *D. cinerea* does not present a defined reproduction pattern; the epididymis is more sensitive to seasonal variations in the flow region and the females have two reproductive peaks according to the periods considered in Atlantic Forest area of the state of Pernambuco.

Keywords: Bat; testes; epididymis; ovary; seasonality.

CAPÍTULO 1

1.1 Introdução

Os morcegos estão reunidos na ordem Chiroptera que consiste na segunda maior ordem de mamíferos, compreendendo 202 gêneros e aproximadamente 1.120 espécies, distribuídas entre todas as regiões tropicais e temperadas, com exceção de algumas ilhas oceânicas e Antártica (GARDNER, 2008). Esses animais destacam-se por sua relevante atuação no ecossistema, através da dispersão de sementes, polinização, controle de insetos e vertebrados de pequeno porte (GARCIA; REZENDE; AGUIAR, 2000; BRITO; GAZARINI; ZAWADZKI, 2010).

Diante disso, é de suma importância compreender também como esses mamíferos se comportam ao longo do ciclo reprodutivo anual para possibilitar maiores inferências sobre sua biologia reprodutiva, pois essas informações fornecerão subsídios para a conservação das espécies. Apesar dessa relevância, propostas com esse enfoque ainda permanecem pouco investigadas e exploradas (BEGUELINI, 2008; BEGUELINI et al., 2011).

Nas espécies de morcegos tropicais, a reprodução pode ocorrer de maneira sazonal ou ao longo de todo o ano. Assim, podem apresentar padrões reprodutivos que vão de monoestria a poliestria sazonal. Por conta disso, há variações nos ciclos reprodutivos desses animais e os fatores que os influenciam estão diretamente relacionados à oferta de recursos alimentares, às condições ambientais, aos fatores endógenos e às flutuações sazonais, já que esses animais habitam diversos habitats (FLEMING et al., 1972; TADDEI, 1980; CRICHTON; KRUTZSCH, 2000; NEUWEILER, 2000; ZORTÉA, 2003; BEGUELINI et al., 2013a).

Diante dessa realidade, os quirópteros desenvolveram as mais diferentes estratégias reprodutivas a fim de ajustar seu organismo às condições do meio no qual estão inseridos: estocagem de espermatozóides viáveis na cauda do epidídimo e nos cornos uterinos das fêmeas, regressão parcial dos túbulos seminíferos, assincronia entre a espermatogênese e o acasalamento, atraso na ovulação, retardo na implantação e no desenvolvimento embrionário, diferenças na posição e na morfologia dos testículos e epidídimos, bem como na constituição da morfofisiologia das glândulas reprodutivas acessórias (HOSKEN et al.,

1998; CRICHTON; KRUTZSCH, 2000; ENCARNAÇÃO et al., 2003; ROCHEL et al., 2007; BEGUELINI et al., 2009, 2010, 2011, 2013a, 2013b, 2013c, 2013d, 2014, 2015; FARIAS et al., 2014; MARTINS et al., 2014; NOTINI et al., 2015)

Em morcegos, já foi corroborado que as informações reprodutivas baseadas na morfologia externa do corpo fornecem dados bastante isolados que impedem maiores inferências sobre o padrão reprodutivo dos quirópteros. Dessa forma, realizar análises histológicas e morfométricas é necessário para a quantificação dos diferentes tipos celulares e, assim, melhor elucidar sobre a atividade ou inatividade sexual das diferentes espécies (BREDT; UIEDA; MAGALHÃES, 1999; GOMES; UIEDA, 2004; PAULA et al., 2002; LIMA JUNIOR et al., 2014; MORAIS et al., 2013c, 2014a).

As espécies de morcegos frugívoros são de fundamental importância no processo de regeneração de ecossistemas fragmentados por meio da dispersão de sementes (REIS et al., 2011). A maioria dos quirópteros que possuem esse hábito alimentar apresenta um ciclo reprodutivo com padrão poliétrico bimodal, no qual o parto acontece ao longo da estação chuvosa, posto que a disponibilidade alimentar favorece a manutenção da prole das diferentes espécies (FLEMING et al., 1972; HEITHAUS et al., 1975).

Dentro dessa perspectiva, *Dermanura cinerea* consiste em uma espécie que se alimenta preferencialmente de frutos. Sua biologia reprodutiva foi investigada, de forma pontual, por alguns autores (FAZZALORI-CORRÊA, 1995; GUERRA, 2007; OLIVEIRA, 2010; ROCHA et al., 2010), mas não se tem informações precisas e detalhadas acerca do seu ciclo reprodutivo. Assim, não foi verificado nenhum trabalho na literatura científica que analisasse a influência das variações sazonais sobre os parâmetros morfométricos e histológicos dos testículos, epidídimos e ovários dessa espécie nem no Brasil, nem em outras localidades situadas fora do território nacional.

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Analisar por meio da condição reprodutiva, histologia e morfometria as gônadas e epidídimo do morcego *Dermanura cinerea*, ao longo do ciclo reprodutivo anual, em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar através da morfologia externa, o estágio e padrão reprodutivo, bem como a proporção entre machos e fêmeas da espécie *D. cinerea*;
- Descrever por meio da histologia e morfometria os testículos, epidídimos e ovários da espécie em estudo;
- Comparar os dados morfométricos obtidos para os parâmetros analisados nos machos e fêmeas entre os períodos ao longo do ciclo reprodutivo anual.

1.3 Revisão da Literatura

1.3.1 Diversidade e Classificação filogenética da Ordem Chiroptera

Os morcegos são os únicos mamíferos que possuem asas, estruturas estas que consistem em mãos adaptadas para realizar o voo verdadeiro. Estão reunidos na ordem Chiroptera (*chiro* = mão, *ptera* = asa), compreendendo a segunda maior ordem de mamíferos, com 202 gêneros e aproximadamente 1.120 espécies (PERACCHI et al., 2006; GARDNER, 2008).

Esses mamíferos estão distribuídos entre todas as regiões tropicais e temperadas, com exceção de algumas ilhas oceânicas isoladas e nas calotas polares do Ártico e Antártica. Podem ocorrer em matas conservadas, em áreas degradadas e também apresentam uma ampla plasticidade para habitar em ambientes urbanizados que sofreram fortemente a ação antrópica (SIMMONS, 2005; GARDNER, 2008).

Como os morcegos apresentam hábitos noturnos e crepusculares, em sua maioria, alimentam-se apenas à noite e, por isso, permanecem em repouso ao longo do dia em seus abrigos, saindo destes apenas ao entardecer para atividade de forrageio, a qual é bastante variável dependendo da espécie e de diversos outros fatores. Assim, os quirópteros utilizam como abrigo os mais diferentes refúgios, como por exemplo: cavernas; fendas de rochas; folhas, galhos e troncos de árvores; e diversas construções humanas. Nesses locais, podem tanto serem encontrados em grandes ou pequenos grupos (REIS et al., 2011).

A ordem Chiroptera é subdividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera. A primeira compreende os morcegos situados no Velho Mundo, também conhecidos como raposas voadoras. Esses animais fazem parte de uma única família conhecida como Pteropodidae e não apresentam ecolocalização laringeal (HALL; RICHARDS, 2000). Já os microquirópteros são encontrados de maneira ampla por todo o globo terrestre, estão agrupados em 17 famílias e apresentam ecolocalização laringeal (GARDNER, 1977; REIS et al., 2011).

Entretanto, recentemente, houve uma revisão na filogenia do grupo e, conseqüentemente, uma nova classificação. Tomando como base as análises de estudos sobre o DNA mitocondrial e nuclear, os morcegos atualmente estão classificados em duas subordens: Yinpterochiroptera e Yangochiroptera (Fig 1.1). A primeira é constituída pela família Pteropodidae mais a superfamília Rhinolophidea, a qual é composta por cinco famílias: Rhinolophidae, Hipposideridae, Megadermatidae, Craseonycteridae e Rhinopomatidae. Antes, essa superfamília fazia parte da subordem Microchiroptera, mas

com base nesses estudos moleculares, descobriu-se que Rhinolophidea apresentava características que a aproximava mais das raposas voadoras, sendo inserida na subordem Yinpterochiroptera. Por outro lado, a subordem Yangochiroptera abrange as 12 famílias de morcegos que antes estavam compreendidas na subordem Microchiroptera (TEELING et al., 2000, 2002, 2005; VAN DER BUSSCHE; HOOFFER, 2004; JONES; TEELING, 2006; TEELING, 2009).

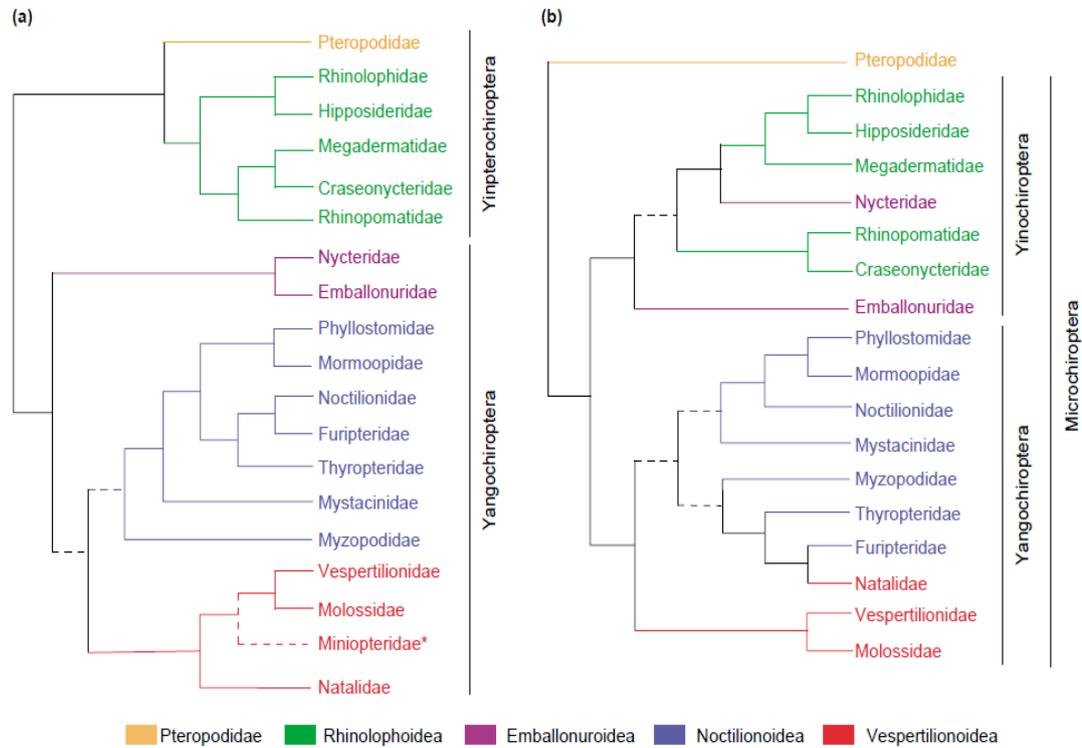


Figura 1.1: Divisão filogenética da ordem Chiroptera. A) Nova Classificação filogenética. Duas novas subordens: Yinpterochiroptera e Yangochiroptera, com base em análises moleculares. B) Classificação tradicional. Duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera, baseada em caracteres fisiológicos e morfológicos (JONES; TEELING, 2006).

Diante da ampla diversidade dessa ordem, no Brasil, relata-se a ocorrência de 9 famílias, 65 gêneros e 174 espécies de morcegos. Essas famílias consistem nas seguintes: Emballonuridae (16 espécies), Phyllostomidae (90 espécies), Mormoopidae (4 espécies), Noctilionidae (2 espécies), Frupteridae (1 espécie), Thyropteridae (4 espécies), Natalidae (1 espécie), Molossidae (28 espécies), e Vespertilionidae (28 espécies) (PAGLIA et al., 2012). Assim, podem ser encontrados habitando áreas no domínio da Mata Atlântica, Cerrado,

Pantanal, Pampas Gaúchos, Caatinga e até mesmo em áreas urbanizadas (REIS et al., 2007).

Os morcegos destacam-se também por possuírem uma característica importante: o sistema de ecolocalização, o qual é utilizado primariamente na orientação desses mamíferos noturnos e consiste na emissão de sons de alta frequência, inaudíveis ao ouvido humano e que podem ser transmitidos tanto pela boca quanto nariz. Os representantes da família Pteropodidae não apresentam esse sistema de ecolocalização, apenas as espécies de um único gênero (*Rousettus*) dessa família é capaz de emitir ultrassons. Esses sons são refletidos ao se deparar com algum obstáculo, presa ou objeto, informando a qual distância estes, relativamente, se encontram. Por conta disso, esses organismos desenvolveram algumas adaptações com a finalidade de aumentar as superfícies para captação dos sons. Assim, os quirópteros possuem estruturas como o trago e o antitrigo que se situam próximo a orelha, e a folha nasal, a qual está presente apenas nas espécies da família Phyllostomidae e está localizada próximo as narinas (NEUWEILER, 2000; KALKO; AGUIRRE, 2006; REIS et al., 2011).

1.3.2 Hábitos alimentares e importância ecológica dos morcegos

Os morcegos apresentam uma ampla diversidade de hábitos alimentares. Os que fazem parte da subordem Yinpterochiroptera são predominantemente frugívoros, ao passo que os que estão agrupados na subordem Yangochiroptera são predominantemente insetívoros. Entretanto, os que compõem esta última subordem, apresentam também outros tipos de hábitos alimentares, podendo ser: frugívoros, carnívoros, onívoros, folívoros, hematófagos, piscívoros, ranívoros, granívoros, nectarívoros e polinívoros (GARDNER, 1977; NOGUEIRA; TAVARES; PERACCHI et al., 2003; PERACCHI et al., 2006; REIS et al., 2007; 2011).

Atrelado a essa diversidade de hábitos alimentares, esses mamíferos destacam-se por possuírem uma relevante importância no ecossistema, através da dispersão de sementes, polinização, controle de insetos e vertebrados de pequeno porte (FLEMING, 1988; CHARLES-DOMINIQUE, 1991; FENTON et al., 1992; KUNZ; PIERSON, 1994; NOWAK, 1994). Além disso, os quirópteros também são excelentes indicadores da qualidade do ambiente, posto que existem algumas espécies que apresentam sensibilidade às alterações de recursos que ocorre no meio onde habitam (FENTON et al., 1992; SCHULZE; SEAVY; WHITACRE, 2000; AGUIRRE et al., 2003; JONES et al., 2009).

1.3.3 Família Phyllostomidae

A família Phyllostomidae é a maior e mais diversificada dentre os morcegos neotropicais. Encontra-se distribuída do sul dos Estados Unidos ao Norte da Argentina e apresenta 57 gêneros e mais de 160 espécies, sendo 90 destas encontradas em território brasileiro (REIS et al., 2011; PAGLIA et al., 2012).

Dentro da família Phyllostomidae, há subdivisões em subfamílias e, diante dos debates e estudos que foram realizados ao longo dos anos, cabe destacar a subdivisão, atualmente mais aceita, que leva em consideração tanto aspectos morfológicos quanto de sítios de restrição e de cromossomos sexuais. Sendo assim, são reconhecidas 11 subfamílias que consistem nas seguintes: Macrotinae, Micronycterinae, Desmodontinae, Lonchorhininae, Phyllostominae, Glossophaginae, Lonchophyllinae, Carollinae, Glyphonycterinae, Rhinophyllinae e Stenodermatinae (BAKER et al., 2003; REIS et al., 2011).

A principal característica, morfológica que distingue os membros da família Phyllostomidae é a presença de um apêndice dérmico que está situado acima das narinas (Figura 1.2). Esse apêndice também é conhecido por folha nasal e é mais desenvolvido em algumas espécies e menos em outras. Nas espécies da subfamília Desmodontinae, a folha nasal é reduzida, apresentando-se em formato de ferradura (REIS et al., 2011; PAGLIA et al., 2012).

1.3.3.1 Subfamília Stenodermatinae e a espécie *Dermanura cinerea*

Os morcegos que compõem a subfamília Stenodermatinae são predominantemente frugívoros, mas algumas espécies incorporam na sua dieta outros itens tais como: insetos, folhas e frutos. Nessa subfamília, são encontrados 17 gêneros, dentre os quais, no Brasil, são encontrados 12 gêneros e 31 espécies (SIMMONS, 2005; REIS et al., 2011).

Nessa família, as espécies que a compõe apresentam o focinho curto, membrana interfemural não muito desenvolvida ou até mesmo inexistente, não possuem cauda, tem tamanhos corporais variados e possuem, em geral, listas claras na face que podem ser mais evidente ou menos nítidas, bem como estarem ausentes em determinados gêneros como *Artibeus concolor*, *Pygoderma* e *Ametrida*. Com relação à dentição, possuem molares com coroas largas e achatadas, bem como com cúspides bastante agudas (VIZOTTO; TADDEI, 1973; EMMONS, 1990; REIS et al., 2011).

Dentre os gêneros que compõe a subfamília Stenodermatinae e tomando como base estudos moleculares, *Dermanura* atualmente é considerado um gênero válido (REDONDO

et al., 2008; SOLARI et al., 2009; REIS, et al., 2011), posto que antes, juntamente com *Artibeus* e *Koopmania* era classificado como subgênero de *Artibeus* (WETTERER; ROCKMAN; SIMMONS, 2000; BAKER et al., 2003).

Os morcegos que fazem parte desse gênero apresentam variações na coloração dos seus pelos. Assim, variam de marrom-acinzentado a marrom-enegrecido na região do dorso e geralmente são mais claros na região do ventre. Além disso, suas listas faciais também apresentam variações de intensidade (REIS et al., 2011).

No território brasileiro, existem relatos de quatro espécies que fazem parte desse gênero: *Dermanura anderseni* (Osgood, 1916), *Dermanura bogotensis* (Andersen, 1906); *Dermanura gnoma* (Handley, 1987) e *Dermanura cinerea* (Gervais, 1856).



Figura 1.2: Morcego da espécie *D. cinerea* macho coletado na Reserva Biológica de Saltinho/PE. Observar a região inguinal (setas) onde ficam localizados os testículos.

Fonte: Nivaldo Bernardo (Janeiro/2015)

Dentre essas espécies, é possível destacar *D. cinerea* que também é conhecida como *Artibeus cinereus* (Figs 1.2 e 1.3). Consiste em uma espécie de pequeno porte, cuja

massa corporal é de aproximadamente 12 g. Sua distribuição compreende o norte da América do sul, a qual engloba a Venezuela, Guianas, Brasil, Trinidad, Peru e Tobago. No Brasil, há relatos de sua ocorrência na região norte, nordeste, sudeste e sul. Tem hábito alimentar frugívoro, atua na dispersão de sementes e pode ser encontrada amplamente habitando áreas de florestas úmidas, matas ripárias, ambientes com alteração, cerrados, matas ciliares primárias e fragmentos de Mata Atlântica. Com relação a sua reprodução, comumente apresenta dois picos ao longo do ciclo reprodutivo anual (SIMMONS, 2005; SCULTORI et al., 2009; REIS et al., 2011).



Figura 1.3: Morcego da espécie *D. cinerea* fêmea grávida coletada na Reserva Biológica de Saltinho/PE. Observar o abdômen proeminente (setas) devido à presença do feto.

Fonte: Nivaldo Bernardo (Fevereiro/2015)

1.3.4 Mata Atlântica

A Mata Atlântica consiste em um bioma extremamente rico em diversidade de fauna e flora, sendo o segundo maior no que se refere à taxa de endemismo e riqueza para a mastofauna do Brasil (REIS et al., 2011). Todavia, esse bioma veio com o passar dos anos sendo drasticamente reduzido, por meio da devastação e fragmentação de hábitat impulsionados, sobretudo, pela ação antrópica, tornando a Mata Atlântica um dos biomas mais ameaçados em todo o mundo (RIBEIRO et al. 2009; CAMPANILI; SCHAFFER, 2010; BRITO; BOCCHIGLIERI, 2012).

Esse bioma está distribuído em cerca de 17% do território brasileiro, ocupando áreas de toda a costa do país, bem como em manchas no interior. Sua extensão original totalizava mais de 1.290.000 km², abrangendo desde os estados da Região Nordeste até o Rio Grande do Sul e, atualmente, encontra-se reduzida a menos de 7,84%. Apesar dessa redução, abriga ainda aproximadamente 60% das espécies da fauna que se encontra em extinção. Por conta da sua elevada diversidade biológica, consiste em uma das 34 áreas do mundo que apresentam prioridade no quesito conservação da biodiversidade, também chamada de Hotspot (MITTERMEIER et al., 2004; RIBEIRO et al., 2009; ANDRADE; SANTOS, 2014).

Os mamíferos que habitam na floresta Atlântica, sofrem influência negativa sobre sua abundância, riqueza e diversidade, principalmente, por conta da fragmentação (VIEIRA et al., 2003; PARDINI, 2004; COSTA et al., 2005; PARDINI et al., 2009). Assim, os morcegos podem ter sua estrutura populacional na comunidade afetada, devido às variações na disponibilidade de recursos em áreas que se encontram perturbadas (FARIA, 2006; SCHULZE et al., 2000; BRITO; BOCCHIGLIERI, 2012).

A Mata Atlântica abriga cerca de mais de 60 espécies de morcegos do Brasil que estão distribuídas em oito famílias. Nesse bioma, há desde espécies de quirópteros raras até às ameaçadas de extinção (*Chiroderma doriae*, *Lasiurus eburnus*, *Lonchophylla bokermanni*, *Platyrrhinus recifinus* e *Myotis ruber*). Estas duas últimas, possuem distribuição na região Nordeste (FERNANDES, 2003; CHIARELLO et al., 2008). As espécies que são frugívoras apresentam extrema importância no processo de regeneração dos ecossistemas fragmentados por meio da dispersão de sementes (REIS et al., 2007), sendo este um evento chave no ciclo reprodutivo de diversas espécies vegetais (HARPER, 1977; JORDANO, 2006).

Dentre os últimos remanescentes existentes da Floresta Atlântica no estado de Pernambuco, destaca-se a Reserva Biológica de Saltinho, a qual possui 475,21785 hectares, é formada por Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas e Sistema Secundário

e atua na conservação da diversidade biológica, pois se constitui como uma Unidade de Conservação de proteção integral. Essa reserva abrange os municípios de Rio Formoso (6,34%) e Tamandaré (93,66%). Nela, encontram-se espécies endêmicas, exóticas e ameaçadas de extinção, tanto da fauna quanto da flora (REBIO SALTINHO, 2003).

1.3.5 Biologia reprodutiva em morcegos

Apesar dos morcegos possuírem várias peculiaridades, diversidade e importância no ecossistema, ainda são considerados como um dos grupos menos conhecidos e averiguados com relação à sua biologia reprodutiva, posto que muitas incongruências ainda precisam ser investigadas para melhor inferir sobre a capacidade reprodutiva desse grupo (BEGUELINI, 2008).

As informações existentes na literatura científica evidenciam que o ciclo reprodutivo dos quirópteros envolve uma série de acontecimentos comum a todos os mamíferos que inicia com a corte, na sequência vem a cópula, período de gestação e lactação (CARTER, 1970; RACEY, 1982; RICHARZ; LIMBRUNNER, 1993). É possível destacar ainda o sistema de acasalamento poligínico que é praticado e prevalece entre várias espécies de morcegos. Assim, um macho dominante defende seu harém contra outros machos, podendo com isso copular com diversas fêmeas (KUNZ et al., 1973; NOWAK, 1994; ZORTÉA, 2003).

Após a escolha do parceiro para cópula, acontece o período gestacional que tem duração bastante diversa. Dependendo da espécie considerada, pode variar de 44 dias a 11 meses. Em cada gestação há a ocorrência, em geral, de apenas um filhote por ano, porém podem também haver dois, três e, em casos mais raros, quatro filhotes, de modo que o cuidado parental tem duração em torno de três meses (REIS; PERACCHI, 1987; REIS et al., 2007).

Como as espécies que compõem a ordem Chiroptera encontram-se amplamente distribuídas ao longo do globo terrestre, seus padrões reprodutivos apresentam-se também bastante variado. Nos morcegos que habitam as zonas temperadas, o padrão reprodutivo predominante e característico é a ocorrência de apenas um pico reprodutivo (CARTER, 1970). Assim, os fatores que estão relacionados e influenciam a reprodução nesses locais são as variações na intensidade do fotoperíodo e temperatura (OXBERRY, 1979).

Por outro lado, a reprodução dos quirópteros que vivem na Região Neotropical, pode ocorrer de maneira sazonal ou ao longo de todo o ano. De forma que as diferenças existentes em seus padrões, ciclos e estratégias reprodutivas sofrem a influência de diversos fatores, tais como: oferta de recursos alimentares; condições ambientais, como temperatura e pluviosidade; fatores endógenos e flutuações sazonais (FLEMING et al.,

1972; WILSON, 1973; 1979; TADDEI, 1980; CRICHTON; KRUTZSCH, 2000; NEUWEILER, 2000; ZORTÉA, 2003; BEGUELINI et al., 2013a).

Sendo assim, tomando como base a atividade reprodutiva dos morcegos neotropicais, nas fêmeas têm sido propostos quatro tipos diferentes de padrões reprodutivos, os quais consistem nos seguintes: monoestria sazonal (um pico de reprodução durante o ano), poliestria sazonal (acontece continuamente durante quase todo o ano, todavia possui um período de inatividade sexual), poliestria assazonal (atividade reprodutiva ocorre ao longo de todo o ano) e poliestria sazonal bimodal (possui dois picos anuais de reprodução) (FLEMING et al., 1972; WILLIG, 1985; MELLO; FERNANDEZ, 2000; ESTRADA; COATES-ESTRADA, 2001; ZORTÉA, 2003).

Nas diferentes espécies de morcegos machos que habitam o Neotrópico, há alguns relatos a respeito de variações na localização das gônadas e devido a mudanças influenciadas pela sazonalidade. Desse modo, podem passar da região abdominal até a região escrotal com a finalidade de acomodar esses órgãos às mudanças de temperatura a que se encontram frequentemente expostos. Todavia, também podem passar da região situada entre o abdômen e a bolsa escrotal, por meio do canal inguinal, e, dessa forma, ficarem localizados externamente, próximos ao pênis, não estando, conseqüentemente, revestidos por essa bolsa e sim por apenas um fino tecido vascularizado (KRUTZSCH, 1955; KRUTZSCH; CRICHTON, 1987; JOLLY; BLAKSHAW, 1988; KRUTZSCH, 2000; MORAIS, 2008).

Além disso, os quirópteros desenvolveram as mais diferentes estratégias reprodutivas a fim de se ajustarem às condições do meio no qual estão inseridos, tais como: estocagem de espermatozoides viáveis na cauda do epidídimo e nos cornos uterinos das fêmeas, regressão parcial dos túbulos seminíferos, assincronia entre a espermatogênese e o acasalamento, atraso na ovulação, retardo na implantação e no desenvolvimento embrionário (GUSTAFSON, 1979; ALTRINGHAM, 1996; HOSKEN et al., 1998; CRICHTON; KRUTZSCH, 2000; ENCARNAÇÃO et al., 2003; ROCHEL et al., 2007).

A maioria dos estudos que abordam sobre reprodução nesses animais, baseia-se apenas nas características morfológicas externas dos órgãos reprodutivos para estabelecer a atividade ou inatividade sexual (BREDT; UIEDA; MAGALHÃES, 1999; GOMES; UIEDA, 2004). Esses parâmetros são bastante limitados, podendo levar a conclusões imprecisas e até mesmo errôneas (LIMA JUNIOR et al., 2014). Assim, destaca-se a importância de realizar análises morfométricas, pois a quantificação histológica das gônadas possibilita inferir de maneira precisa sobre a capacidade reprodutiva dos morcegos (PAULA et al., 2002; MORAIS et al., 2014a).

Em estudos realizados na Colômbia para a espécie *Dermanura cinerea* (= *A. cinereus*), foi identificada a poliestria bimodal como padrão reprodutivo (SIMMONS; VOSS,

1998; REIS et al., 2007; SCULTORI et al., 2009). De forma semelhante, no Brasil, em um estudo desenvolvido em área de Mata Atlântica no litoral sul do estado de São Paulo (FAZZALORI-CORRÊA, 1995), foi relatada também a ocorrência de poliestria bimodal para essa mesma espécie. No estado de Sergipe, foram coletadas fêmeas prenhas nos meses de janeiro e agosto, e de uma única fêmea prenha e lactante também no mês de janeiro, sendo que essas informações sugerem a ocorrência de estro pós-parto para essa espécie nesse estado (ROCHA et al., 2010). Em contrapartida, em área de Mata Atlântica de uma Reserva Natural no estado do Paraná, há relatos do padrão monoéstrico sazonal para *D. cinerea* para a qual é descrita a ocorrência de fêmeas lactantes e de indivíduos jovens em apenas um período reprodutivo (OLIVEIRA, 2010). Em Pernambuco, há relatos de fêmeas gestantes nos meses de abril, outubro e novembro e machos com testículos escrotados em agosto, outubro e novembro, porém não faz nenhuma inferência sobre qual o tipo de padrão reprodutivo dessa espécie (GUERRA, 2007).

1.3.6 Testículos

Os testículos são órgãos pares que estão localizados na região escrotal, possuem função tanto endócrina quanto exócrina e são envolvidos por uma túnica conhecida como albugínea testicular, a qual é constituída por tecido conjuntivo. Esta possui septos que são emitidos em direção ao interior do testículo até a região do mediastino desse órgão. Mais externamente, os testículos possuem o escroto que os revestem e possibilita a manutenção da temperatura nessa região, mais baixa que a do corpo, o que é de suma importância para manter a viabilidade na produção de espermatozoides (Fig.1.4) (RUSSELL et al., 1990; SCANLON; SANDERS, 2007).

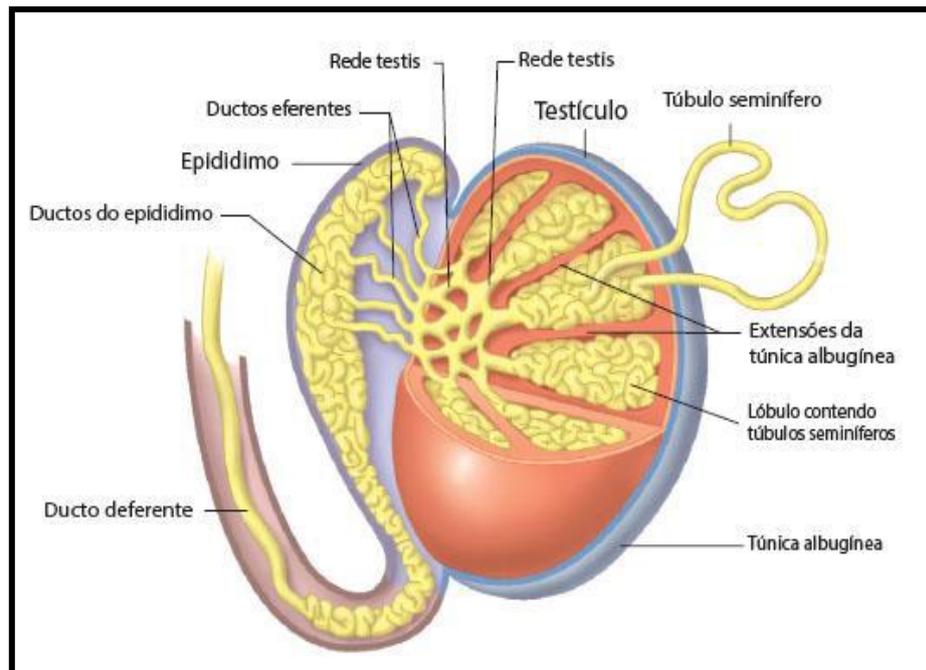


Figura 1.4: Desenho esquemático da composição estrutural padrão do testículo de mamífero. Fonte: Seeley et al., (2014); Brito, (2014)

Em mamíferos, esses órgãos são constituídos por dois principais compartimentos: o tubular e o intertubular. O primeiro é formado pelos túbulos seminíferos, ocupam a maior parte dos testículos e é constituído por alças excessivamente contorcidas cujas extremidades estão ligadas à rede testicular, a qual, por sua vez, se conecta ao epidídimo por meio dos ductos eferentes. Esses túbulos são formados mais externamente por uma túnica chamada de própria, na qual podem ser encontradas células peritubulares ou mioides, bem como a membrana basal. São formados ainda por um epitélio seminífero, onde se encontram as células germinativas e de Sertoli. Já o compartimento intertubular, o qual se encontra entre os túbulos seminíferos é formado pelas células de Leydig, vasos, nervos e outros tipos celulares presentes no tecido conjuntivo, tais como macrófagos, mastócitos, fibroblastos, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos (Fig.1.5) (RUSSEL et al., 1990; KARL; CAPEL, 1998; MORAIS, 2008).

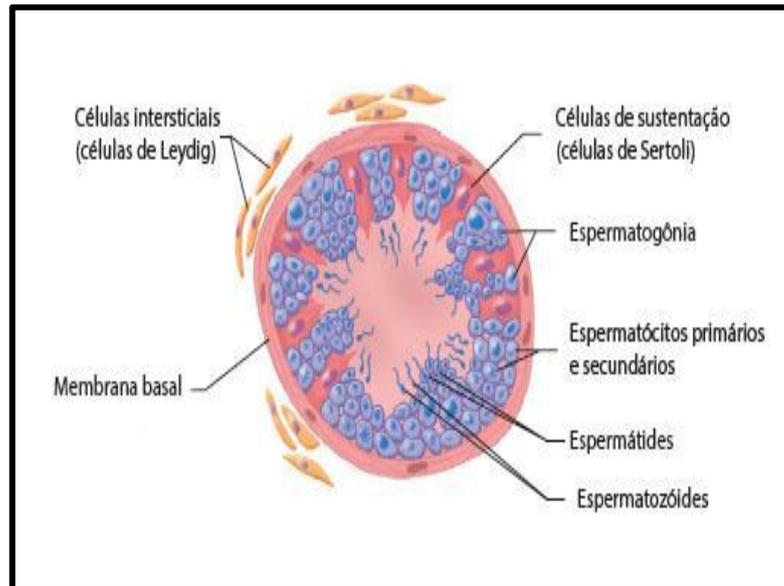


Figura 1.5: Desenho ilustrativo da composição celular do túbulo seminífero do testículo de mamífero.
 Fonte: Seeley et al., (2014); Brito, (2014)

Nos organismos que fazem parte da Classe Mammalia, os testículos realizam a liberação dos espermatozoides por meio de canais que se estendem até o ducto deferente do epidídimo para as glândulas ampulares e, na sequência, para a região luminal da uretra da próstata (SCANLON; SANDERS, 2007).

1.3.6.1 Células de Sertoli

As células de Sertoli servem de suporte para as células germinativas situadas no epitélio seminífero dos testículos e atuam dividindo esse epitélio em um ambiente mais basal e outro o adluminal. No primeiro, se situam as espermatogônias e espermatócitos primários no início da sua divisão da prófase meiótica. Enquanto que no ambiente adluminal estão os espermatócitos primários que se encontram na fase de leptóteno, bem como os espermatócitos secundários e espermatídes (RUSSEL et al., 1990).

1.3.6.2 Espermatogênese

A espermatogênese é um processo sistemático de relevante complexidade, através do qual as células reprodutivas masculinas (espermatozoides) são produzidas. Pode ser dividida em três fases: fase espermatogonial, também conhecida como proliferativa, a qual é

caracterizada por suas células passarem por sucessivas e rápidas divisões mitóticas; fase espermatocitogênica ou meiótica que envolve a duplicação do material genético, passando por duas divisões celulares seguidas, bem como por recombinação genética durante a meiose; e fase espermiogênica ou de diferenciação que compreende as modificações que ocorrem nas espermatídes para que se transformem em espermatozoides. Estes, por sua vez, são encaminhados para a luz do túbulo seminífero onde são encaminhados ao epidídimo para ser armazenado e maturado (RUSSELL et al., 1990; JOHNSON et al., 2000; HESS; FRANÇA, 2008).

Nas espécies da classe Mammalia, o tempo de duração total do processo de espermatogênese, com todas essas fases, é de aproximadamente 40 a 60 dias. De modo que cada uma dessas três fases dura cerca de 1/3 de toda a espermatogênese. Nesse processo, as espermatogônias passarão por divisões mitóticas e se transformarão em espermatócitos, os quais irão produzir, após a divisão celular mitótica, as espermatídes que, durante o processo de espermiogênese, irão se tornar espermatozoides (MORAES, 2008; BRITO, 2014).

Existe ainda uma classificação que divide as espermatogônias em dois grupos: as diferenciadas e as indiferenciadas. No grupo que envolve estas últimas, há três subgrupos: as espermatogônias pareadas (Apr), isoladas (Ai) e alinhadas (Aal). Já nos grupos das diferenciadas há também três subgrupos, sendo estes: espermatogônias do tipo A, intermediárias (In) e espermatogônias do tipo B (RUSSELL et al., 1990; DE ROOIJ, 1998; FRANÇA; RUSSELL, 1998).

1.3.6.3 Células de Leydig

As células de Leydig consistem no tipo celular encontrado em maior quantidade no compartimento intertubular dos testículos. São produtoras de andrógenos, os quais são gerados por meio do colesterol. Entre estes andrógenos, há a di-hidrotestosterona que atua na diferenciação do trato genital masculino, bem como na genitália externa, que é formada por uretra, pênis, próstata e escroto. Outro tipo de andrógeno é a testosterona que atua na masculinização fetal, por meio do desenvolvimento da genitália interna, a qual é composta por vesícula seminal, epidídimo e ducto deferente, bem como atua na descida dos testículos da cavidade abdominal até a região escrotal durante o período fetal. A testosterona também é responsável pelo aparecimento das características sexuais secundárias e manutenção do processo de espermatogênese a partir da puberdade, assim como pelo comportamento sexual na idade adulta. Nesta, as células de Leydig representam apenas cerca de 5% de todos os tipos de células do testículo (BARDIN, 1996; GILBERT, 2006; YE et al., 2011).

1.3.7 Epidídimos

Os epidídimos têm funções de maturar os espermatozoides, bem como de armazenar estes na cauda epididimal. Consiste em túbulo extremamente enrolado que serve de elo entre o testículo e os canais deferentes. Estudos diversos foram realizados com epidídimos de várias espécies de mamíferos, com a finalidade de definir a morfologia desse órgão. Assim, constatou-se que o epidídimo possui regiões de acordo com as características de seu epitélio. Dentre as classificações propostas, a mais enfatizada na literatura científica é a divisão em quatro regiões: segmento inicial, cabeça, corpo e cauda, mas podem apresentar também apenas três regiões: cabeça, corpo e cauda (HIB et al., 1982; SERRE; ROBAIRE, 1998; BEU et al., 2009).

O tecido epitelial que reveste esse túbulo apresenta diferentes tipos celulares que podem desempenhar, em geral, funções de absorção e secreção. Esses tipos celulares consistem em: células principais (encontradas em grande quantidade, quando comparada aos demais tipos, e funcionalmente atuam tanto na secreção quanto na absorção); células basais (tem papel de proteção, podendo atuar como macrófago); células estreitas (são encontradas na região do segmento inicial e podem ser antecessoras de células claras, bem como atuar na destruição de proteínas que foram endocitadas); células halo (são verificadas ao longo de todo o epidídimo, sendo caracterizadas como monócitos ou linfócitos, atuando na barreira imunológica) e células apicais (apresentam núcleo em forma de esfera, possuem bastantes enzimas proteolíticas e atuam na proteção das células reprodutoras masculinas contra o ataque eletrofílico) (VAN, 1970; DYM; ROMRELL, 1975; MOORE; BEDFORD, 1979; HERMO; DWORKIN; OKO, 1988; ROBAIRE; HERMO, 1988; HERMO; ROBAIRE, 1994; ADAMALI; HERMO, 1996; SERRE; ROBAIRE, 1998).

1.3.8 Espermatogênese, produção de andrógenos testiculares e estocagem de espermatozoides em morcegos

Em morcegos, as informações acerca da espermatogênese, níveis séricos de hormônios, bem como a estocagem de espermatozoides no epidídimo ainda são ínfimas, diante da diversidade de espécies e estratégias reprodutivas que desempenham. Apesar disso, alguns estudos com enfoque em parâmetros anatômicos, morfométricos, histológicos, ultraestruturais, imunoistoquímicos e hormonais tem possibilitado melhor compreender muitas incongruências ainda existente na ordem Chiroptera com relação à biologia

reprodutiva de diferentes espécies (BEGUELINI et al., 2009, 2010, 2011, 2013a, 2013b, 2013c, 2013d, 2015; MORAIS et al., 2013a, 2013b, 2014a, 2014b; FARIAS et al., 2014, LIMA JUNIOR et al., 2014; NOTINI et al., 2015).

Nesse sentido, mudanças na histologia das células de Leydig foi averiguada, na espécie *Myotis lucifugus lucifugus* na região nordeste dos Estados Unidos, de forma que essas variações foram relacionadas com as concentrações de testosterona plasmática ao longo do ciclo reprodutivo anual. Foi verificada a ocorrência de atividade gametogênica durante os meses de maio a agosto, e durante os meses de outubro a abril, que compreende o período de hibernação dessa espécie. Nesse período, o epitélio dos túbulos seminíferos dos testículos entra em repouso e é reduzido para reservar tanto células de Sertoli quanto espermatogônias. As células de Leydig apresentaram um padrão de atividade paralelo ao do epitélio seminífero e constatou-se que durante a renovação da espermatogênese, na estação da primavera, essas células ficam hipertrofiadas com acúmulo de inclusões lipídicas, atingindo o máximo destas acumulações no final de junho (GUSTAFSON, 1987).

Em outro estudo realizado com a espécie *Myotis adversus* em Brisbane na Austrália, por meio de análises com microscopia eletrônica, constatou-se que as células de Leydig tornam-se hipertrofiadas durante o período reprodutivo, ao passo que durante o período de regressão o tamanho dessas células, assim como os grânulos do citoplasma são reduzidos (LOH; GERMMELL, 1980).

Pérez-Rivero et al., (2013) estudaram as diferenças na morfometria testicular da espécie *Tadarida brasiliensis* no México, durante o verão, outono e inverno. Os resultados evidenciaram que, no mês de junho, os túbulos apresentaram menor diâmetro e maior espaço intersticial entre eles, bem como a ausência de espermátides. Já nos meses de setembro e fevereiro o diâmetro tubular, a espessura do epitélio seminífero e o número das células deste, demonstrou um aumento significativo quando comparado ao mês de junho. A presença de espermátides foi observada apenas no mês de fevereiro. Logo, verificou-se que *T. brasiliensis* apresenta uma reprodução sazonal na área de estudo considerada.

No Brasil, na região noroeste do estado de São Paulo, Beguelini et al., (2009) averiguaram que, na espermatogênese das espécies *Artibeus lituratus*, *A. planirostris*, *Carollia perspicillata*, *Platyrrhinus lineatus*, *Sturnira lilium* e *Myotis nigricans*, há três tipos de espermatogônias: tipo escuro A, tipo claro A e tipo B. Contatou-se também que o ciclo do epitélio seminífero é semelhante ao dos demais mamíferos em todas as espécies estudadas, com exceção apenas de *M. nigricans*. Esta apresentou assincronia em seu epitélio com sobreposição de fases, bem como ciclos não definidos. As semelhanças encontradas entre as cinco espécies pode ser explicada por uma questão filogenética, uma vez que todas fazem parte da mesma família (Phyllostomidae). Enquanto que *M. nigricans*

apresenta uma distância filogenética maior, visto que faz parte de outra família (Vespertilionidae).

Nessa mesma região, através de caracterizações ultraestruturais, Beguelini et al., (2011) investigaram o processo de espermatogênese de *P. lineatus*. Além da identificação dos três tipos de espermátides nessa espécie, foram caracterizadas as células de Sertoli, células de Leydig e os espermatozoides. Constatou-se que a espermatogênese em *P. lineatus* possui o mesmo padrão dos demais mamíferos, todavia dispõe de especificidades como a formação do acrossoma nos espermatozoides. Por conta disso, apresenta relações estreitas com os espermatozoides do ser humano, bem como de outros primatas.

Ao considerar os parâmetros anatômicos e histológicos, na região noroeste de São Paulo, Beguelini et al., (2013a) analisaram, as estruturas reprodutivas de 18 espécies (*Peropteryx macrotis*, *Rhynchonycteris naso*, *Eumops glaucinus*, *Molossops temminckii*, *Molossus molossus*, *Molossus rufus*, *Artibeus lituratus*, *A. planirostris*, *C. perspicillata*, *Glossophaga soricina*, *Phyllostomus discolor*, *P. lineatus*, *Noctilio albiventris*, *Eptesicus furinalis*, *Histiotus velatus*, *Lasiurus blossevillii*, *Myotis albescens* e *M. nigricans*) pertencentes a cinco famílias (Emballonuridae, Molossidae, Phyllostomidae, Noctilionidae e Vespertilionidae). Anatomicamente os testículos apresentaram pequenas variações, porém nos epidídimos das espécies que compõem as famílias Emballonuridae e Vespertilionidae, foi observado um alongamento na região da cauda. O posicionamento dos testículos também variou entre as famílias consideradas. Em Phyllostomidae e Noctilionidae notou-se a presença de testículos situados aparentemente visíveis na região inguinal; em Emballonuridae e Molossidae, constatou-se a existência de testículos migratórios que estavam localizados ou na região intra-abdominal ou em posições mais externas; e em Vespertilionidae observou-se a presença dessas gônadas na região escrotal. Histologicamente, verificou-se que cinco espécies (*E. furinalis*, *H. velatus*, *L. blossevillii*, *M. albescens* e *M. nigricans*) da família Vespertilionidae apresentaram regressão testicular, retenção de espermatozoides e armazenamento destes na região caudal do epidídimo. Regressão testicular semelhante também foi verificado em *M. temminckii*, no entanto não apresentaram retenção nem armazenamento de espermatozoides.

Levando em consideração os parâmetros morfométricos e imunoistoquímicos, Beguelini et al., (2013b) evidenciaram que *A. planirostris*, no sudeste do Brasil, possui atividade espermatogênica contínua ao longo de todo o ano, destacada pela presença de espermatozoides na cauda do epidídimo durante os meses analisados. Porém, apresentou dois picos mais perceptíveis, de produção espermática, nos meses de setembro e fevereiro. Esses picos estão relacionados a uma produção suficiente de espermatozoides para possibilitar a manutenção do sistema de harém da espécie e para sincronizar com o padrão de poliestria bimodal das fêmeas. Assim, essas variações são controladas por meio da

expressão do receptor de androgênio nas células de Sertoli e através dos níveis plasmáticos de testosterona.

Ultraestruturalmente, Beguelini et al., (2013e) verificaram que as espermatogônias de *Carollia perspicillata* possuem uma diferenciação que se assemelha a de outras espécies de morcegos, bem como de primatas. Constatou-se ainda que as divisões meióticas da espermiogênese possuem 12 etapas, sendo semelhante aos achados para maioria dos mamíferos, inclusive para outras espécies de morcegos. *Carollia perspicillata* apresentou espermatogênese com características ultraestruturais bastante semelhantes às descritas para *P. lineatus*. Isso pode estar relacionado ao fato de ambas estarem agrupadas na família Phyllostomidae. Todavia, os resultados desse estudo ainda elucidam que *C. perspicillata* possui características que mantém relações bastante estreitas com espécies de outras famílias como é o caso de *Myotis nigricans* (Vespertilionidae).

Ainda na região noroeste do estado de São Paulo e, considerando também parâmetros morfométricos e imunoistoquímicos, Beguelini et al., (2013c) constataram que a espécie *M. nigricans* possui dois picos de atividade espermatogênica e a esta, seguem-se dois períodos de regressão testicular total, no qual foram observadas apenas células de Sertoli e espermatogônias, ao longo de um mesmo ciclo reprodutivo anual. Essas variações no testículo apresentam sincronia com a cabeça e corpo do epidídimo, todavia não possuem a mesma sincronia com a região caudal, já que esta apresentou armazenamento de espermatozoides nos meses de maio e junho. A forma de controle dessas variações tem relação com a expressão do receptor de andrógeno, uma vez que durante os períodos de recrudescência testicular, apresenta uma elevação e uma diminuição dos períodos de desativação.

Em outro estudo, considerando análises ultraestruturais, Beguelini et al., (2013d) observaram que *M. nigricans*, na estação da primavera, apresentou um processo de regressão dos seus testículos, o qual foi dividido em quatro períodos, sendo estes: ativo, regredindo, regredido e recrudescência. Durante o período ativo, *M. nigricans* apresentou semelhança ao de outros morcegos, com incidência de espermatogênese completa e três tipos de espermatogônias. Os resultados desse estudo revelaram também que estes tipos passam por modificações de relevante consideração em sua morfologia durante o período regredindo ao regredido, ao passo que no período de recrudescimento, essas espermatogônias voltam a sua morfologia básica que impulsiona a espermatogênese.

Ainda sobre essa espécie (*M. nigricans*), Beguelini et al., (2015) destacaram uma contínua atividade do epidídimo, bem como um retrocesso morfofuncional, durante os períodos de regressão (setembro a janeiro), e um lento processo de recrudescimento. Essas evidências indicam que tanto o processo de regressão total dos testículos de *M. nigricans* quanto a sua posterior recrudescência, influencia aspectos fisiológicos do epidídimo, todavia

com atraso na resposta deste. Foi evidenciado também que a fisiologia do epidídimo é regulada por hormônios, os quais consistem na testosterona e estrogênio. A ativação e desativação do receptor de andrógeno e receptor de estrogênio (ER α) em células epiteliais atuam na regulação da morfofisiologia dessas células, contribui também evitando a morte celular e a secreção proteica, proporcionando como consequência que os espermatozoides sejam armazenados e maturados.

Por sua vez, no estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil, Duarte; Talamoni (2010) estudaram a reprodução de *A. lituratus* em área de Mata Atlântica. Nesse trabalho foi averiguada a atividade do testículo, bem como a condição reprodutiva das fêmeas com base nas características morfológicas externas. Nos machos, a maioria dos indivíduos analisados possuíam grandes testículos na região escrotal. Assim, apresentaram-se férteis durante todo o ano.

Nesse mesmo estado e bioma, Morais et al., (2012) descreveram oito fases para o ciclo do epitélio seminífero da espécie *M. molossus*, no qual foram observados 10 etapas para formação do acrossoma. Para essa mesma espécie e localidade Morais et al., (2013c) verificaram que os menores índices gonadossomático (0,3%) e tubulossomático (0,2%), bem como o diâmetro tubular (133,2 μ m) ocorreram na estação do verão. Por outro lado, foi na estação do inverno que o maior índice meiótico foi observado, bem como o rendimento geral da espermatogênese. Verificou-se ainda que, as células em apoptose, não apresentaram diferenças ao longo das estações e essa espécie apresenta um ciclo reprodutivo com continuidade ao longo do ano, todavia possui maior atividade espermatogênica no inverno e no outono.

Sob outro aspecto, Morais et al., (2013a), observaram que o compartimento intertubular de *M. molossus* ocupa uma média de 10% dos testículos, sendo constituído predominantemente por células de Leydig, cuja proporção do volume destas, bem como o investimento no tecido do intertúbulo foi significativamente mais elevado no período do verão, o que revela uma maior capacidade esteroideogênica de *M. molossus* durante esse período. Entretanto, os demais componentes do compartimento intertubular não apresentaram diferenças significativas ao longo das estações. Foi verificada também a ocorrência de células de Leydig multinucleada durante o período do inverno.

Morais et al., (2013b) elucidaram que o ciclo do epitélio seminífero de *Sturnira liliium* é composto por oito fases e segue o mesmo padrão já descrito pra outros mamíferos, contudo apresenta uma duração menor da espermatogênese. Constatou-se ainda que esse ciclo em *S. liliium* possui duração de 3,45 dias e cerca de 15,52 dias foram necessários para o desenvolvimento do esperma. Considerando outros parâmetros, Morais et al., (2014b) verificaram que nenhum dos parâmetros morfométricos avaliados para a espécie *S. liliium*, como a biometria e proporções volumétricas dos componentes do parênquima testicular,

apresentaram diferenças significativas entre as estações seca e chuvosa. Por outro lado, nas análises ultraestruturais, foi verificado que as médias mais altas tanto de reserva de espermatozoides dos testículos, quanto da produção espermática diária por grama de testículo, foram observadas na estação chuvosa. Os resultados indicaram que essa espécie apresenta uma atividade reprodutiva contínua, com elevado rendimento na espermatogênese e baixa capacidade no suporte das células de Sertoli.

Ainda sobre a espécie *S. liliium* Moraes et al., (2014a) constataram que as células de Leydig apresentam gotículas de lipídios, em abundância, na região do seu citoplasma representando em percentual, 83,2%. E, dessa forma, constituem o principal componente desse compartimento. Além disso, não foram verificadas diferenças significativas, entre as estações seca e chuvosa, para os seguintes parâmetros: concentração de testosterona, número total de células de Leydig e índice leydigossomático. Desse modo, pode-se inferir que *S. liliium* apresenta uma reprodução contínua ao longo do ano nessa região, já que a maioria das variáveis observadas não variou.

Bordignon; França (2012) investigaram a morfologia das gônadas da espécie *Noctilio leporinus* em área de Mata Atlântica, no litoral sul do Brasil, estado do Paraná. Para os machos, constatou-se que o diâmetro dos túbulos seminíferos dos testículos apresentou um aumento que seguiu de forma proporcional a massa dessas gônadas, bem como à massa do corpo de *N. leporinus*. Além disso, durante todo o ano, foram verificados machos maduros sexualmente.

Farias et al., (2014) estudaram a morfometria testicular, bem como as fases do ciclo do epitélio seminífero e armazenamento de espermatozoides no epidídimo de *Myotis levis* em uma área de transição entre a Mata Atlântica e o Cerrado no sudeste do Brasil. Os resultados evidenciaram que durante a estação seca, essa espécie apresentou, simultaneamente, testículos em regressão e armazenamento de espermatozoides na cauda do epidídimo. Constatou-se também que tanto a massa corporal quanto o diâmetro nuclear das células de Leydig não mostraram diferenças significativas entre as estações seca e chuvosa. A frequência relativa do ciclo do epitélio seminífero, acumulada na fase pré-meiótica foi de 51%, já na fase meiótica foi de 2% e na pós-meiótica foi de 47%.

A espécie *Artibeus lituratus* teve sua reprodução e fases do ciclo do epitélio seminífero estudadas por Notini et al., (2015) em área de Mata Atlântica no Sudeste do Brasil, durante as estações chuvosa (outubro a março) e seca (abril a setembro). Os resultados indicaram que não houve diferença significativa, ao longo dessas estações, entre os seguintes parâmetros analisados: índice gonadossomático, diâmetro dos túbulos seminíferos, diâmetro nuclear das células de Leydig. Além disso, verificou-se que essa espécie apresenta atividade espermatogênica contínua ao longo de todo o ano, uma vez que não foram observadas diferenças significativas na frequência relativa das oito fases do

ciclo do epitélio seminífero ao longo dessas estações. Já no estado de Pernambuco, em área de Mata Atlântica, Arandas (2013) estudou a reprodução dessa mesma espécie juntamente com *C. perspicillata* e constatou atividade espermatogênica nos machos que possuíam tanto testículos descendentes quanto não descendentes, de forma que ambas as espécies apresentaram dois picos reprodutivos.

Ainda nesses mesmos fragmentos florestais de Pernambuco, Lima Junior et al., (2014) analisaram histomorfometricamente os testículos de *P. discolor* ao longo das estações seca e chuvosa. Nesse estudo, constatou-se que os túbulos seminíferos dessa espécie apresentaram as maiores médias da área de ocupação durante a estação chuvosa, independente dos testículos estarem descendentes ou não descendentes. Essas observações tem uma forte relação com o maior investimento em produção espermática, visto que nessa estação há uma maior disponibilidade alimentar por conta dos elevados índices pluviométricos.

1.3.9 Ovários

Os ovários dos mamíferos consistem em um órgão glandular com função endócrina (produção e liberação de hormônios) e exócrina (produção e liberação de oócitos). Apresenta, em sua superfície, um revestimento constituído por um epitélio germinativo que pode variar de simples cúbico a pavimentoso. Sob este epitélio, está situada a túnica albugínea que é uma camada formada por tecido conjuntivo denso, bem como o estroma cortical que é constituído por tecido conjuntivo frouxo (Fig. 1.6) (GARTNER; HIATT, 2002; HAFEZ, 2004; MOORE; PERSAUD, 2004).

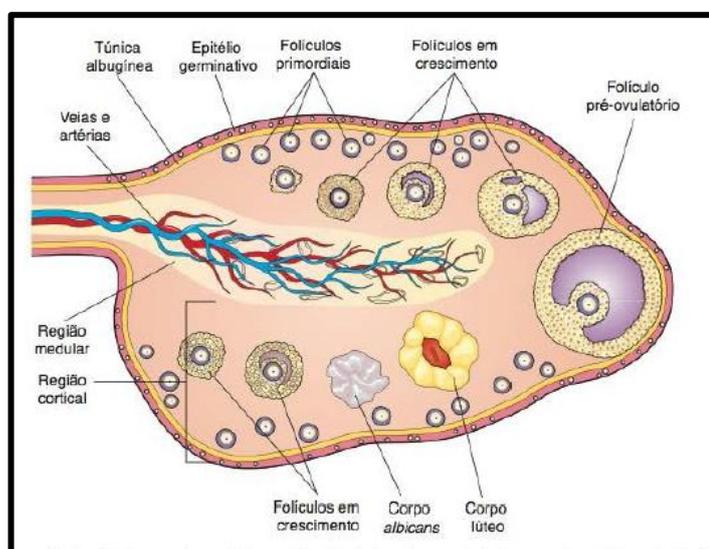


Figura 1.6: Desenho ilustrativo do ovário de mamífero mostrando os principais componentes estruturais: epitélio germinativo, túnica albugínea, região cortical e região medular. Fonte: Junqueira e Carneiro (2013).

Essa gônada feminina possui relevante complexidade e é constituída por diversos tipos celulares, tais como: folículos quiescentes, em desenvolvimento ou em atresia, corpos lúteos, corpos *albicans* e corpos hemorrágicos. Todos esses tipos celulares encontram-se na região cortical ou periférica e podem diferenciar-se em diversos subtipos. Há ainda nesta região, fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos e linfáticos, bem como nervos. Além da região cortical, há também no ovário a região medular ou central, a qual atua na sustentação e nutrição desse órgão e está situada mais internamente no ovário, sendo composta por tecido, nervos, vasos sanguíneos e vasos linfáticos (Fig. 1.6) (SMITH et al., 1994; GARTNER; HIATT, 2002; HAFEZ, 2004; MOORE; PERSAUD, 2004).

1.3.9.1 Oogênese e folícologênese

Em mamíferos, todas as fêmeas, apresentam um depósito de células germinativas primordiais que vai da vida fetal até sua utilização durante a folícologênese. Ao nascer, existem milhares de folículos primordiais nos ovários dos indivíduos da classe Mammalia. Todavia, mais de 99,9% desses folículos entram em degeneração e não chegam até a ovulação, isto é, sofrem um processo conhecido como atresia folicular (MARSTRÖM et al., 2002).

A oogênese começa antes do nascimento e consiste no processo de desenvolvimento e diferenciação das células germinativas primordiais até que estas formem o oócito haploide fertilizado. Durante o período embrionário, as células germinativas que estão situadas na parede do saco vitelínico, são encaminhadas para a região das gônadas, que se encontram em processo de desenvolvimento. Nesse processo, ocorre intensa proliferação dessas células que acabam por se diferenciar em oogônias. O crescimento folicular está sob controle tanto de hormônios gonadotróficos e somatotróficos, quanto por outros fatores de crescimento (WASSARMAN, 1988; REYNAUD; DRIANCOURT, 2000; SADEU et al., 2006; MARTINS; VIANA; RODRIGUES, 2008).

As células germinativas primordiais passam por um processo de elevada frequência de divisões mitóticas. A partir disto, origina-se uma linha de células germinativas que dará origem as células oogônais, e outra linhagem que fica em divisão na intérfase originando novas células germinativas primordiais que serão diferenciadas em oogônias (RÜSSE, 1983; PICTON et al., 1998). Estas, por sua vez, se transformarão em oócitos primários. No feto, estes oócitos ficam na prófase I da meiose aumentando seu tamanho, ou seja, ficam em estado de repouso meiótico até a fase inicial da puberdade. Pouco tempo antes do processo de ovulação na puberdade, origina-se um segundo tipo de oócito conhecido como

secundário, o qual dará origem a segunda divisão na meiose e vai se completar, em sua totalidade, depois da fecundação (HIRSHFIELD, 1991; GOUDET et al., 1998).

A foliculogênese é um processo que acontece na região cortical dos ovários, sendo caracterizada pela formação, desenvolvimento e maturação do folículo, o qual consiste na unidade funcional do ovário, iniciando com a formação do folículo primordial, seguindo até a fase mais extrema que consiste no estágio de folículo De Graaf ou pré-ovulatório (VAN DEN HURK; ZHAO, 2005). O folículo ovariano, funcionalmente, atua na manutenção do oócito em um local protegido de substâncias estranhas que possam trazer prejuízos, permitindo que o ambiente no qual se situa, seja propício para seu crescimento e maturação, bem como seja responsável pela geração de hormônios esteroides (SAUMANDE, 1981; PICTON, 2001; GORE-LANGTON; ARMSTRONG, 1994; GORDON, 1994; PICTON, 2001).

A quantidade de folículos ovarianos nos mamíferos é heterogênea e vai variar com base no grau de crescimento dos folículos. Dessa forma, a foliculogênese é composta de duas fases: a primeira consiste na pré-antral, a qual engloba a ativação dos folículos primordiais, bem como o crescimento dos folículos primários e secundários; já a segunda fase compreende a antral, a qual é formada pelo crescimento dos folículos terciários, De Graaf ou pré-ovulatório (SAUMANDE, 1981; MARTINS; VIANA; RODRIGUES, 2008). Os folículos primordiais são caracterizados por um oócito envolvido por uma só camada de células da granulosa com morfologia pavimentosa; os folículos primários são constituídos por um oócito situado na região central do folículo e envolto por uma camada de células da granulosa com morfologia cúbica; os folículos secundários são formados por um oócito central, cercado por duas ou mais camadas de célula da granulosa com morfologia cúbica; enquanto que os folículos antrais são constituídos pelos folículos terciários e de Graaf (SAUMANDE, 1981; HULSHOF et al., 1994).

1.3.9.2 Oogênese e foliculogênese em morcegos

Os estudos que abordam investigações nos ovários de morcegos são bastante limitados e as informações disponíveis precisam ser melhor elucidadas. Desse modo, Abhilasha; Krishna (1996) estudaram a espécie *Scotophilus heathi* no período de ovulação atrasada. Foi evidenciada a ocorrência de elevados níveis de concentração tanto de androstenodiona, quanto de testosterona ao longo da primeira metade do período de ovulação. Paralelamente, os níveis de concentração de estradiol e progesterona foram consideravelmente baixos ao longo desse mesmo período. Histologicamente, foi observado que a maior parte do ovário de *S. heathi* encontrava-se ocupada com células intersticiais hipertrofiadas. Foi constatado ainda, por meio de análises imunoistoquímicas, que as células

intersticiais do ovário consistem no principal local de elevada produção de androgénio nesse órgão.

Por meio de parâmetros histológicos e histoquímicos, Sastry; Pillai, (2013) estudaram, as variações nas células intersticiais dos ovários da espécie *Hipposideros speoris* no estado de Maharashtra – Índia durante o ciclo reprodutivo. Os resultados evidenciaram variações na distribuição, morfologia, quantidade enzimática e associação dessas células com outras estruturas do ovário. Além disso, essas células foram mais evidentes, hipertrofiadas e abundantes na maior parte do córtex ovariano, ao longo do quarto ou quinto mês de gestação, bem como durante o período de lactação. Dessa forma, as células intersticiais apresentam-se como células esteroideogénicas e a frequência de sua ocorrência na gravidez evidencia a sua importância significativa na fisiologia do ovário, extrapolando a funcionalidade do corpo lúteo, depois que este regride.

Em outro estudo, Antonio-Rubio et al., (2013) determinaram a morfologia do ovário e a presença de células progenitoras a partir da linhagem germinativa das espécies: *Artibeus jamaicensis*, *Glossophaga soricina* e *Sturnira liliium* (família Phyllostomidae) no México. Os resultados indicaram que a morfologia do ovário em todas as três espécies estudadas apresentaram características semelhantes. Encontrou-se ainda a presença de folículos em diferentes estágios de maturação, bem como grupos de células corticais que apresentaram semelhança em relação às células germinativas primordiais. Verificou-se também que as células corticais têm a capacidade de expressar células germinativas que podem ser pluripotentes e ativas mitoticamente. Por conta disso, existe a possibilidade dessas espécies apresentarem um mecanismo de auto-renovação das células germinativas.

No Brasil, essas investigações são ainda mais escassas. Bordignon; França (2012) estudaram, mensalmente, as características morfológicas dos órgãos reprodutivos de *Noctilio leporinus*, em área de Mata Atlântica, no litoral sul do Brasil, estado do Paraná. Por meio da histologia ovariana, foi constatado que as fêmeas ovulam entre os meses de julho e dezembro. Além disso, verificou-se a ocorrência de fêmeas em condição reprodutiva lactante durante quase todos os meses ao longo do ano. Diante dessas constatações, foi determinado que *N. leporinus*, nessa área de estudo considerada, possui um padrão poliétrico bimodal.

A reprodução da espécie *Artibeus lituratus* foi investigada por Duarte; Talamoni (2009) em área de Mata Atlântica no estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil. Além dos machos, foi investigada a condição reprodutiva das fêmeas com base nas características morfológicas externas, isto é, se estavam grávidas, lactante ou pós-lactante. Os resultados indicaram uma reprodução ativa nas fêmeas, sobretudo, durante a estação chuvosa. Houve a ocorrência de fêmeas grávidas no final da estação seca com o parto ocorrendo na estação chuvosa. Diante disso, com base nesses resultados, há a indicação do padrão monoétrico

sazonal para as fêmeas. Essa mesma espécie, juntamente com *C. perspicillata*, foram estudadas por Arandas (2013) em fragmentos florestais da Mata Atlântica de Pernambuco. Já nessa localidade, foi verificado que o padrão reprodutivo de ambas é poliétrico bimodal, sendo um na estação seca e outro na estação chuvosa. Constatou-se ainda que, histologicamente, os ovários dessas espécies apresentaram atividade contínua ao longo de todo o ano.

CAPÍTULO 2

Estágio reprodutivo, histologia e morfometria sazonal do testículo e epidídimo de *Dermanura cinerea* (Chiroptera: Phyllostomidae) em um Fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil

Título abreviado:

Histomorfometria testicular e epididimal de *Dermanura cinerea*

NIVALDO BERNARDO DE LIMA JUNIOR¹, MARIA JULIANA GOMES ARANDAS², FABRICYA ROBERTA DA SILVA¹, DIÊGO VINICIUS DA SILVA¹, ERIVALDO ALVES ANTONIO³, FRANCISCO CARLOS AMANAJÁS DE AGUIAR JÚNIOR¹, JOSÉ EDUARDO GARCIA¹ and KATHARINE RAQUEL PEREIRA DOS SANTOS¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Núcleo de Biologia, R. Alto do Reservatório S/N Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. CEP: 55.608-680.

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia I, R. Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil. CEP: 52171-900.

³Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Histologia e Embriologia, Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil. CEP: 50.760-420.

Autor para correspondência:

Nivaldo Bernardo de Lima Junior

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro Acadêmico de Vitória – CAV Laboratório de Biotecnologia e Fármacos

Rua Alto do Reservatório, S/N – Bela Vista

CEP: 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco.

E-mail: nivaldobernardo@hotmail.com

RESUMO

Esse trabalho analisou o estágio reprodutivo, a histologia e morfometria do testículo e epidídimo de *Dermanura cinerea* em área de Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil. As coletas ocorreram mensalmente durante 18 meses. Os dados meteorológicos foram agrupados em seis períodos de três meses cada. Foram coletados 23 espécimes adultos, os quais foram classificados em machos com testículos descendentes e não descendentes. Após a eutanásia, foram selecionados 18 espécimes para as análises histomorfométricas. Os órgãos foram coletados e processados seguindo a técnica histológica de rotina e as lâminas coradas por Hematoxilina – Eosina. Morfometricamente, nos testículos, foram mensuradas: área de ocupação do compartimento tubular e intertubular, número de células de Leydig, de Sertoli, de espermátócitos e de espermátides alongadas. No epidídimo, foi mensurada a altura do epitélio, os diâmetros tubular, do lúmen e do epitélio das regiões do segmento inicial, cabeça, corpo e cauda. Os dados morfométricos foram submetidos ao teste *t* de *Student*. Logo, *D. cinerea* procura sempre ajustar seu período reprodutivo de acordo com a sazonalidade e, por isso, não apresentou um padrão reprodutivo definido na sua atividade testicular. Tendo demonstrado também uma maior sensibilidade, às variações sazonais, na região caudal do epidídimo.

Palavras-chave: Morcego, machos, reprodução, Mata Atlântica, sazonalidade.

ABSTRACT

This study examined the reproductive stage, histology and morphometry of the testis and epididymis of *Dermanura cinerea* in Atlantic Forest area of Pernambuco, northeastern Brazil. collections were monthly during 18 months. Meteorological data were grouped into six periods of three months each. Were collected 23 adult specimens, which were classified in males with testes descendants and not descended. After euthanasia, they were selected 18 specimens for histomorphometric analysis. The organs were collected and processed according to routine histological technique and the slides stained with Hematoxylin – Eosin. Morphometric, testes were measured: occupation area of the tubular and Intertubular compartment, number of Leydig cells, Sertoli, spermatocytes and elongated spermatids. In the epididymis, the epithelial height was measured, the tube diameter, the lumen of the epithelial regions of the initial segment, caput, corpus and cauda. Morphometric data were submitted to Student's *t* test. So *D. cinerea* always tries to adjust their reproductive period according to seasonality and therefore did not present a reproductive pattern set in their testicular activity. Having also shown greater sensitivity to seasonal variations in the caudal epididymis.

Keywords: Bat, male, reproduction, Atlantic Forest, seasonality.

INTRODUÇÃO

Os morcegos apresentam contribuição de destaque no ecossistema, por atuarem na polinização, dispersão de sementes, controle de insetos e vertebrados de pequeno porte (Garcia et al. 2000, Brito et al. 2010). Estão agrupados na Ordem Chiroptera (Classe Mammalia) (Gardner 2008) e tem sido alvo de intensos estudos nos dias atuais, principalmente no que diz respeito à ecologia e filogenia (Emmons e Feer 1997, Bernard 2002, Lim et al. 2003, Passos et al. 2003). Enquanto, a biologia reprodutiva desse grupo ainda permanece pouco investigada, sobretudo, no Brasil (Beguelini et al. 2009).

Na região Neotropical, a reprodução dos quirópteros pode passar por alterações ao longo do ano, as quais podem estar associadas a diversos fatores como: a disponibilidade alimentar, a temperatura, a precipitação e o fotoperíodo. As diferentes espécies dessa região tendem a se reproduzir em períodos em que as condições ambientais são mais favoráveis. Assim, uma mesma espécie pode apresentar padrão ou estratégia reprodutiva diferente, dependendo do período e hábitat considerado (Fabián e Marques 1989, Crichton e Krutzsch 2000, Neuweiler 2000, Zortéa 2003, Mello et al. 2004).

As informações acerca da posição anatômica testicular dos morcegos, afirmavam que os testículos situados na região escrotal (descendentes) indicava que o animal estava sexualmente ativo, ao passo que os localizados na região abdominal (não descendentes) demonstravam uma inatividade sexual (Bredt et al. 1999, Zortéa 2003, Gomes e Uieda 2004, Ortêncio Filho et al. 2007). Contudo, Lima Junior et al. (2014) comprovou, por meio da histomorfometria testicular, que avaliar a reprodução com base apenas nessas constatações, leva a inferências limitadas e por vezes errôneas, pois verificou que os espécimes, mesmo com testículos não descendentes, apresentaram atividade espermatogênica.

Já no que diz respeito ao epidídimo dos morcegos, este apresenta características peculiares em relação ao processo de armazenagem dos espermatozoides durante um longo período que pode variar de 2 a 7 meses, de forma que a maturação e viabilidade

dessas células sejam preservadas. É possível destacar também o prolongamento da região da cauda desse órgão, bem como a existência de uma fásia pigmentada situada em seu entorno (León-Galván et al. 2005, Tobón et al. 2010, Beguelini et al. 2013a). Essa relação das variações sazonais da reprodução nos morcegos ainda tem sido pouco investigada, sobretudo, quando se considera os parâmetros morfológicos e morfométricos do epidídimo (Beguelini et al. 2010, Beguelini et al. 2015)

A histologia e a morfometria dos testículos e epidídimos consistem em parâmetros que mensuram de forma mais precisa as variações nos elementos que compõe essa gônada nas diferentes espécies da classe Mammalia. Dessa forma, por meio de medidas do diâmetro dos túbulos seminíferos e epidídimo, bem como da altura do epitélio e da quantificação dos tipos celulares existentes em cada um desses órgãos, é possível avaliar a eficiência espermatogênica da espécie e, em consequência, a capacidade reprodutiva do animal (França e Russell 1998).

Dermanura cinerea (Gervais 1856) é uma espécie de morcego frugívoro que faz parte da família Phyllostomidae e era conhecida como *Artibeus cinereus* (Redondo et al. 2008, Solari et al. 2009). Sua ocorrência já foi relatada em quatro regiões brasileiras: Norte, Nordeste, Sudeste e Sul, em fragmentos florestais da Mata Atlântica, bem como em mata ciliares primárias (Reis et al. 2011, Scultori et al. 2009). As informações, para conhecimento da sua biologia reprodutiva, ainda permanecem pouco compreendida no que diz respeito às investigações referentes à histofisiologia testicular e epididimal dessa espécie.

Perante essas investigações, esse trabalho teve como objetivo analisar o estágio reprodutivo, a histologia e a morfometria testicular e epididimal de *D. cinerea* coletados em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco – Brasil, em diferentes períodos do ciclo reprodutivo anual.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO E COLETA DOS DADOS

Foram utilizados espécimes machos adultos da espécie *D. cinerea*, coletados em um fragmento de Mata Atlântica bem preservado 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. A REBIO é classificada como Unidade de Conservação de proteção integral (Rebio Saltinho 2003).

Esse estudo teve a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEUA da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE com o seguinte protocolo: 23076.037360/2014 – 92 e 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.

Os animais foram capturados por meio de redes de neblina 12 m de comprimento x 3 m de altura, de modo que dez redes foram utilizadas em cada captura. As coletas ocorreram mensalmente, ao longo de duas noites seguidas, durante 18 meses (Junho/2014 a Novembro/2015). As redes, em cada dia de captura, eram estendidas às 17h00min e ficavam abertas até às 00h00min, sendo verificadas de forma contínua no período de maior atividade e em intervalos regulares quando em menor atividade. O esforço total de captura foi de 90720 m².h. calculado com base na metodologia de (Straube e Bianconi 2002).

DADOS METEOROLÓGICOS

As informações meteorológicas foram fornecidas pelo Instituto Nacional de Meteorologia – INMET. Com base nessas informações e considerando as variações nas precipitações pluviométricas, as análises dos aspectos reprodutivos de *D. cinerea* foram agrupadas, em seis períodos de três meses cada: período I (Junho a agosto – 2014), representando o final da estação chuvosa; período II (Setembro a novembro – 2014),

indicando o início da estação seca, mas com uma particularidade das chuvas de setembro e outubro; período III (Dezembro – 2014 a fevereiro – 2015), período característico da estação seca; período IV (Março a maio – 2015), correspondendo ao início do período chuvoso do ano seguinte; período V (Junho a agosto – 2015), representando o final da estação chuvosa do ano seguinte; e período VI (Setembro a novembro – 2015), correspondendo ao início da estação seca.

Esse agrupamento foi realizado seguindo um padrão do que é determinado para o período seco (setembro a fevereiro), e chuvoso (março a agosto) na localidade de estudo, embora alguns meses apresentaram médias de precipitação atípicas entre os períodos.

MORFOLOGIA EXTERNA

Os espécimes capturados foram classificados com base na morfologia externa das gônadas, para a determinação do estágio reprodutivo em: machos com testículos descendentes (TD), quando esses órgãos estavam localizados visivelmente na região escrotal e machos com testículos não descendentes (TND), quando os testículos não estavam aparentes no escroto, estando situados na região abdominal (Racey 1988, Gannon e Willig 1992, Esbérard 2002).

EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Para a eutanásia, os animais coletados utilizados para as análises histomorfométricas foram anestesiados na região intraperitoneal do corpo, com o fármaco pentobarbital sódico em uma concentração de $40\text{mg}/\text{kg}^{-1}$. Na sequência, foi aplicada uma solução saturada constituída por cloreto de potássio (Morais et al. 2013b).

COLETA DOS ÓRGÃOS E ANÁLISE ANATÔMICA

Foram selecionados aleatoriamente 18 espécimes machos para as análises histomorfométricas dos órgãos. Após a eutanásia desses exemplares, os órgãos reprodutivos foram coletados, com auxílio de instrumentais de microdissecção. Foi realizada uma pequena incisão da pele e fâscias escrotal, na região inguinal, para expor o tecido subjacente até que os testículos e epidídimos fossem expostos e, conseqüentemente, removidos.

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Depois de removidos, todos os testículos 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 (Behmer et al. 1976, Rieder e Schmidt 1987). Esses órgãos foram impregnados em Paraplast e os blocos foram cortados no micrótomo em espessura de 4 μ m. As lâminas histológicas produzidas foram coradas por Hematoxilina – Eosina e analisadas em microscópio óptico para verificar as microestruturas e tipos celulares existentes nos testículos.

ANÁLISES MORFOMÉTRICAS

Nos testículos, foram realizadas medidas da área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI). Foram quantificados o número de células de Leydig (NCL), o número de células de Sertoli (NCS), o número de espermatócitos (NE) e o número de espermátides alongadas (NEA). AOCT e AOCI foram fotografados em aumento total de 100X, ao passo que o NCL foi fotografado em aumento de 400X. O NCS, NE e NEA foram quantificados em 10 túbulos diferentes, em aumento total de 400X, cuja área de cada túbulo também foi mensurada. Após a

quantificação do NCS, NE e NEA e da mensuração da área, foi feita uma relação entre a quantidade de células ocupada em cada 1 mm² (milímetro quadrado) de túbulo seminífero.

No epidídimo, foi mensurada a altura do epitélio (AE), o diâmetro tubular (DT), diâmetro do lúmen (DL) e diâmetro do epitélio (DE) de cada região desse órgão, com base na metodologia de Beguelini et al., (2010). As fotomicrografias utilizadas para medir a AE, foram fotografadas em aumento total de 400 X, e foi utilizado um total de 10 fotomicrografias e mensurados 100 pontos aleatórios do epitélio de cada uma das regiões do epidídimo. Cada medida partiu da base do epitélio para a extremidade apical não considerando os estereocílios (Beguelini et al. 2010). Já as fotomicrografias usadas para mensurar o DT, DL e DE foram fotografadas em aumento total de 100X e também um total de 10 fotomicrografias por região foram utilizadas, de modo que foram selecionados aleatoriamente 15 túbulos, por animal, de cada região para medir cada um desses três parâmetros. Os resultados obtidos para a AE, DT, DL e DE foram expressos em micrômetros (µm).

As lâminas histológicas foram fotografadas, através do programa *Motic Images Plus* 2.0. Para isso, foi acoplada uma câmara, entre o computador e ao microscópio óptico, projetando a lâmina no aumento desejado. As fotomicrografias foram submetidas às devidas mensurações, através do programa *ImageJ*.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada a partir dos resultados obtidos na morfometria, os quais foram submetidos ao teste *t* de *Student* do programa SPSS (*Statistical Package of the Social Sciences*, SPSS inc. Chicago, EUA) versão 15.0, de forma que os dados de cada período foram comparados entre si. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de maio de 2014 a novembro de 2015, foi coletado um total de 23 espécimes machos adultos de *Dermanura cinerea*. Esses espécimes foram classificados com base na morfologia externa das gônadas e organizados por mês (Fig.1).

O mês de maior captura foi em julho/2014 (n=10). Foram observados indivíduos com testículos descendentes – TD e testículos não descendentes – TND em três (períodos I, II e IV) dos seis períodos considerados, sendo que nos outros três (períodos III, V e VI) houve apenas a ocorrência de machos com TD. No total, houve uma maior captura de espécimes com TD (n=13) do que com TND (n=10) (Fig.1).

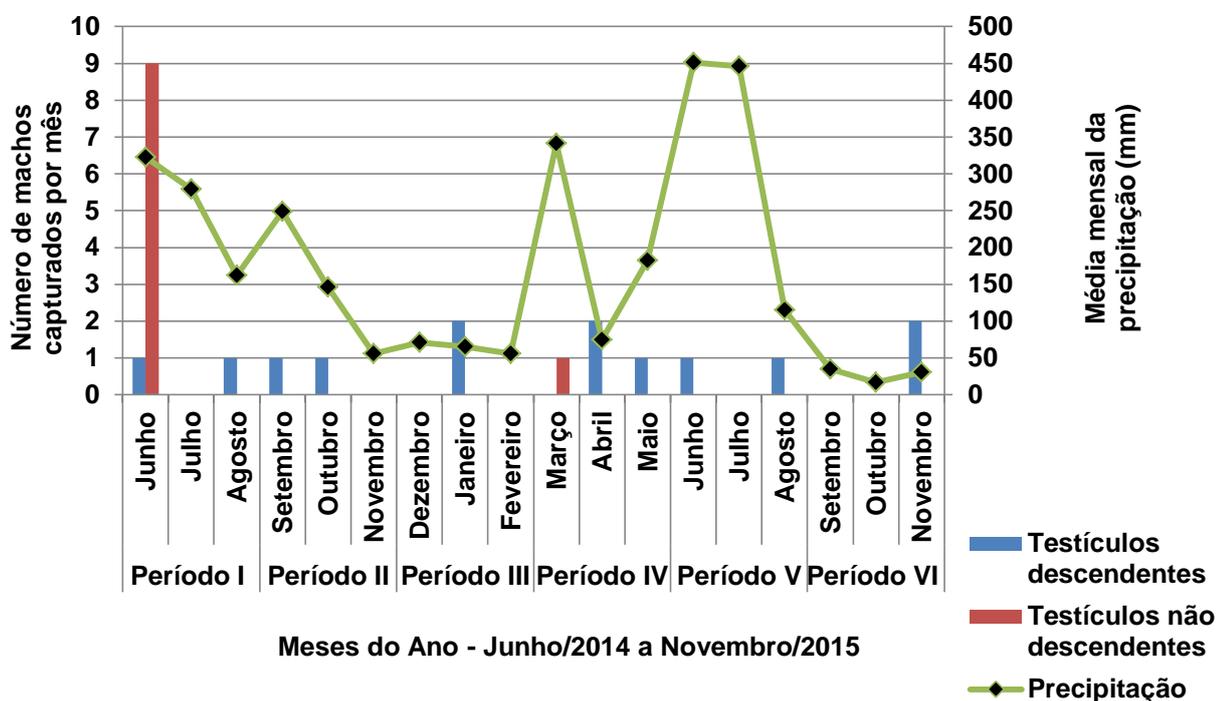


Figura 1: Relação entre a precipitação mensal, número de espécimes e o estágio reprodutivo de machos de *Dermanura cinerea* coletados no período de Junho/2014 a Novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

As análises histológicas do compartimento tubular dos testículos indicaram a presença dos seguintes tipos celulares: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e células de Sertoli, bem como espermatozoides armazenados na cauda do epidídimo, em todos os períodos considerados. O compartimento intertubular de *D. cinerea* é constituído,

na sua grande maioria, por células de Leydig e, além destas células, há vasos sanguíneos e linfáticos, bem como células do tecido conjuntivo (Fig.2).

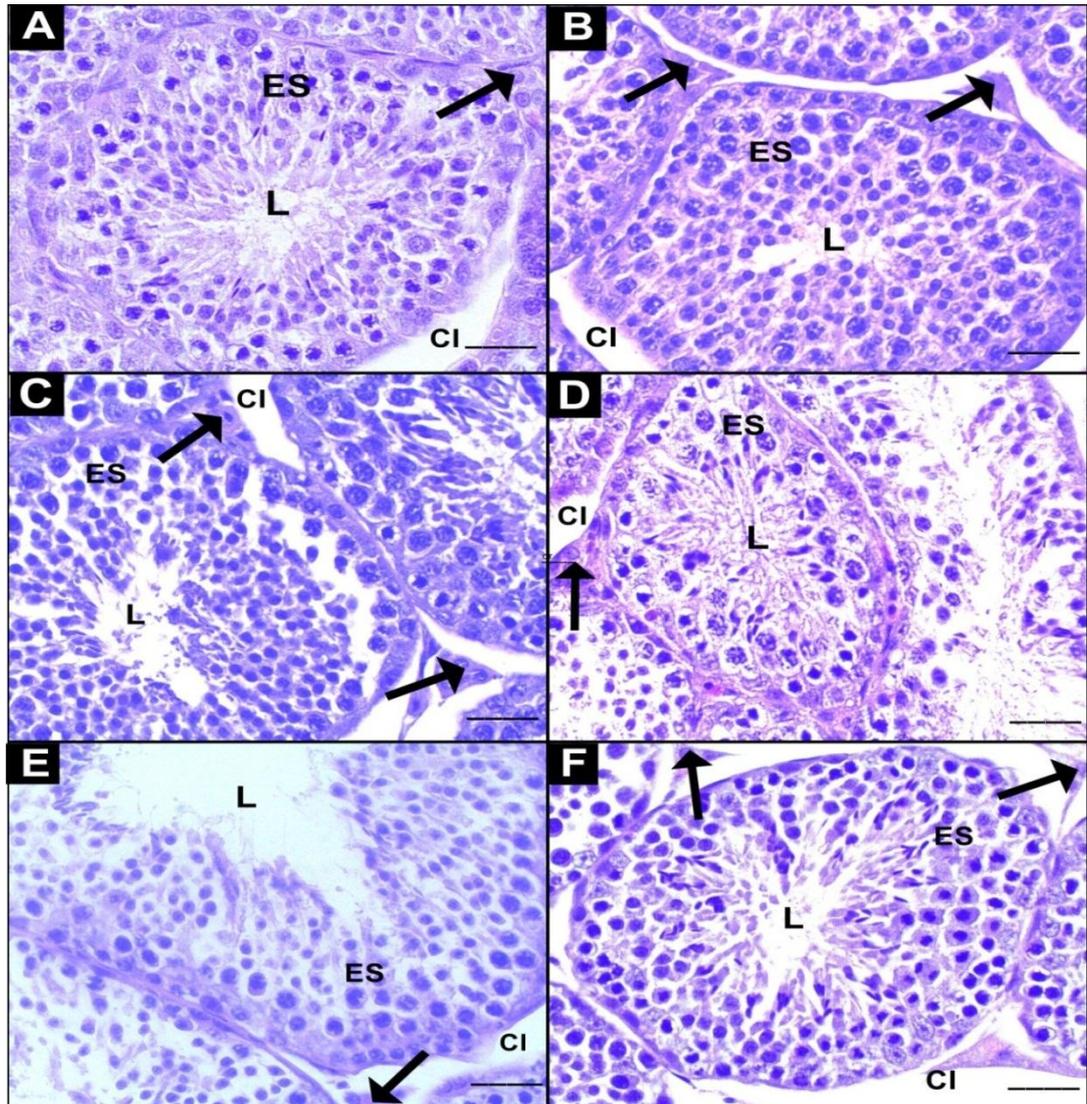


Figura 2: Fotomicrografia do compartimento tubular e intertubular do testículo de *D. cinerea* em cada período: A – Período I. B – Período II. C – Período III. D – Período IV. E – Período V. F – Período VI. Observar o epitélio seminífero (ES) com células em diferentes estágios de maturação e o lúmen (L) no compartimento tubular, e as células de Leydig (setas) distribuídas ao longo do compartimento intertubular. Coloração: Hematoxilina – Eosina (HE). Aumento: 400 X. Barras de escala = 20.0 μ m.

Já no epidídimo foram identificadas, histologicamente, quatro regiões: segmento inicial (SI), cabeça (CA), corpo (CP) e cauda (CAU) (Fig 3). O SI está localizado entre a convergência tubular da rede testicular e a CA do epidídimo. O CP consiste em uma região intermediária entre a cabeça e a região terminal (cauda) e se comunica diretamente com o ducto deferente. Foram observados espermatozoides nas três regiões do epidídimo (CA, CP

e CAU). A concentração de espermatozoides foi gradativamente maior em direção à região terminal desse órgão (CAU) (Fig.3). O epidídimo de *D. cinerea* está formado por um epitélio pseudoestratificado com estereocílios e constituído por diferentes tipos de celulares, tais como: células basais, principais e apicais (Fig. 3).

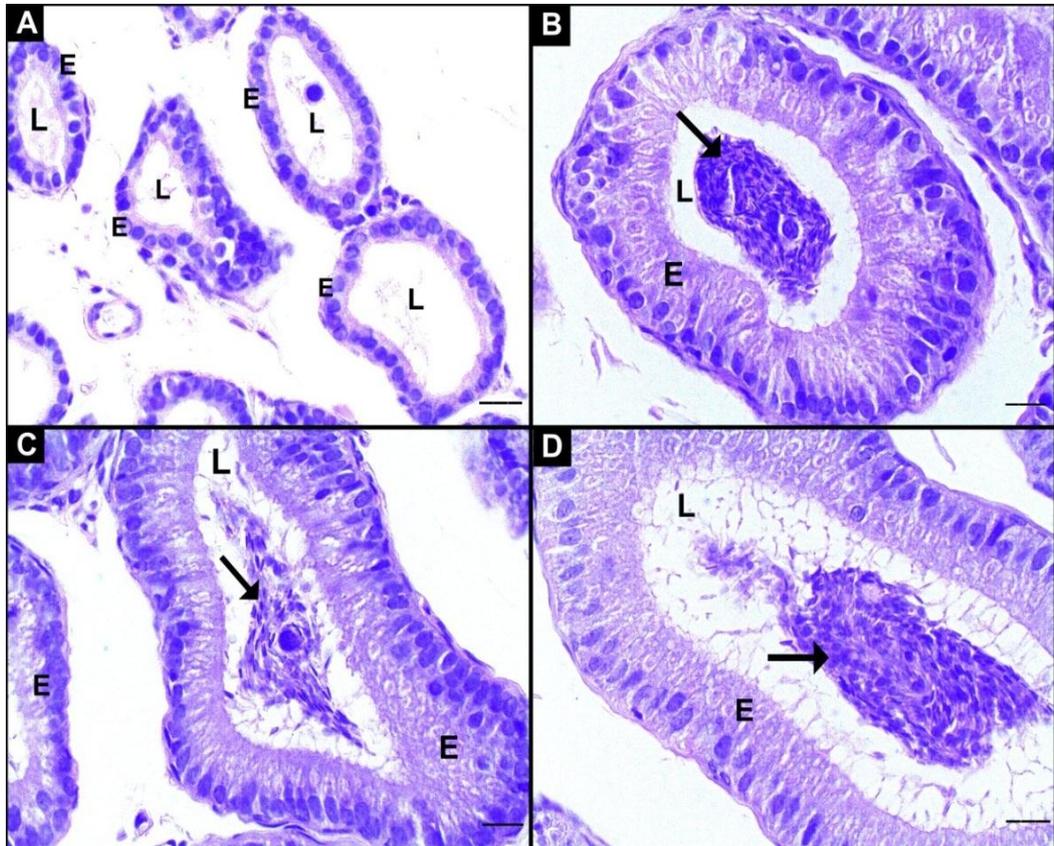


Figura 3: Fotomicrografia das quatro regiões do epidídimo de *D. cinerea*. A - Segmento inicial; B - Cabeça; C - Corpo; D - Cauda. Observar o epitélio (E) e lúmen (L) de cada região, bem como a presença de espermatozoides no lúmen (setas). Coloração: H. E. Aumento: 400 X. Barras de escala = 20 μ m.

Os índices pluviométricos foram bastante variáveis entre os meses dos períodos considerados, enquanto que a temperatura se apresentou com pequena variação (24,0 – 27,4). Essa falta de um padrão contínuo nas precipitações entre os períodos foi também evidenciada nas análises morfométricas. Assim, os resultados indicaram significância na maior parte das avaliações realizadas nos períodos tanto para a área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) quanto para a área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) (Fig. 4 e Tab. 1).

Quando verificada a AOCT e AOCl, nota-se que não houve um padrão estabelecido entre os períodos. O período I apresentou diferença significativa ($p=0,001$) ao período correspondente do ano seguinte (período V) para ambos os parâmetros. Da mesma forma, o período II em 2014 demonstrou significância ($p=0,001$) quando comparado com o seu período correspondente em 2015 (período VI). A maior média da AOCT foi verificada no período II. Todavia, os períodos IV e V também apresentaram médias bem próximas entre si (Tab. 1). Já a maior média da AOCl foi constatada no período I e esse resultado coincidiu também com o maior número de células de Leydig (NCL) encontradas (Fig. 4 e Tab.3).

Houve diferenças também nas épocas em que foi encontrada maior ou menor produção de espermatócitos, espermátides, células de Sertoli e de Leydig. O número de espermatócitos (NE) indica maior produção destas células durante o início da estação seca (Período VI). Enquanto que o número de células de Sertoli (NCS) foi maior no período V. Já o número de espermátides alongadas (NEA), apresentou maior média no período IV. Assim, o aumento e diminuição do NCS, NE, e NEA não variam paralelamente entre si durante os períodos considerados (Fig. 4 e Tab. 2).

No período VI observou-se ainda as menores médias, tanto para a AOCT quanto para o AOCl (Fig. 4 e Tab.1). Associado a este último parâmetro, verificou-se também a menor média do NCL nesse mesmo período (Fig. 4 e Tab. 3). Por outro lado, no período VI, foi encontrada a maior média do NE, bem como NCS e NEA apresentaram também médias com valores altos (Fig. 4 e Tab. 2).

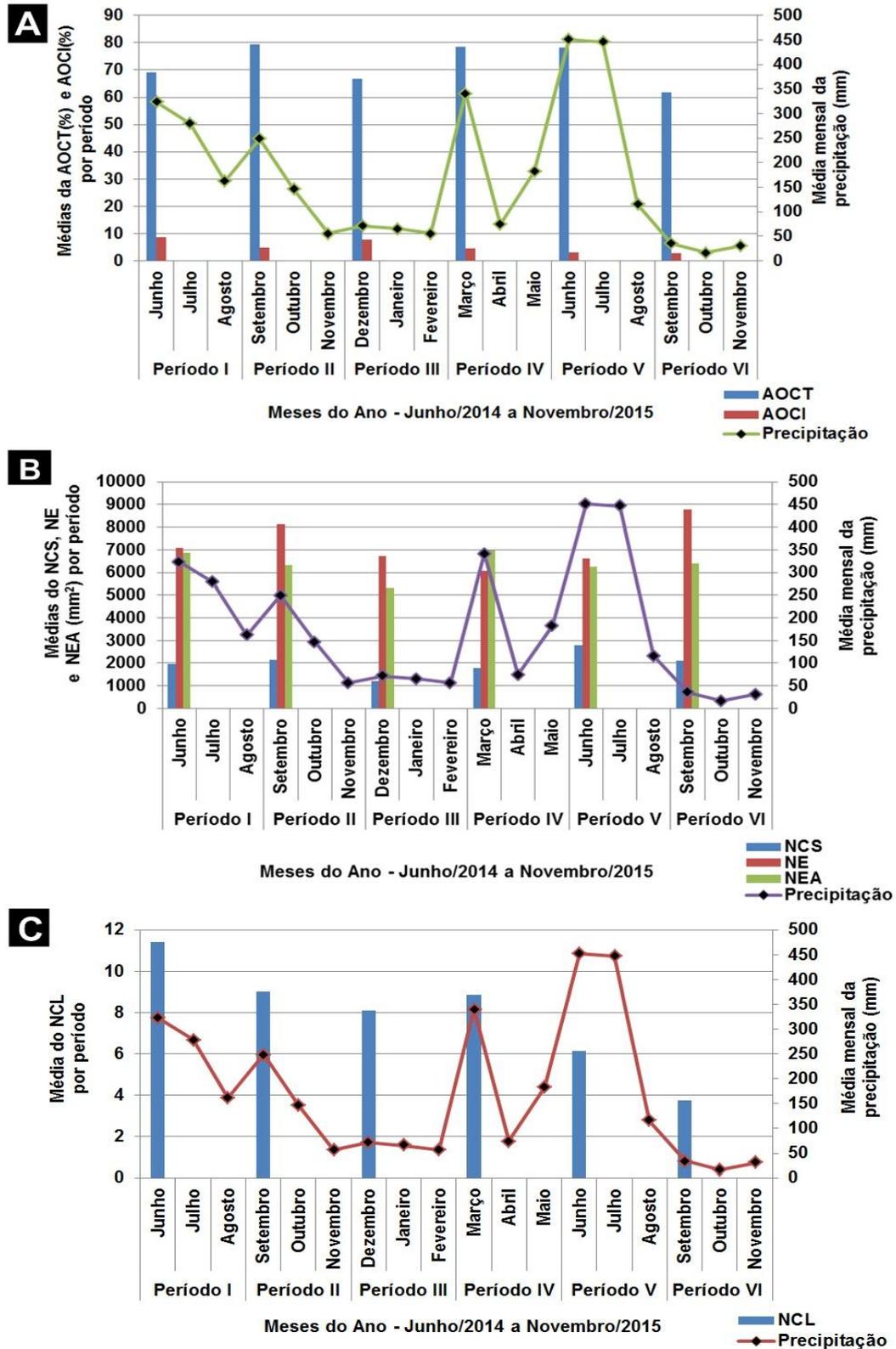


Figura 4: Gráficos evidenciado as análises morfométricas do testículo de *D. cinerea* (A - C) coletados no período de Junho/2014 a Novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho. A – Relação entre as médias, por período, da área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) com a precipitação. B – Relação entre as médias, por período, do número de células de Sertoli (NCS), número de espermatócitos (NE) e número de espermatídes alongadas (NEA) com a precipitação. C – Relação entre as médias do número de células de Leydig (NCL) com a precipitação.

Tabela 1: Média e desvio padrão, por período, da área de ocupação do compartimento tubular (AOCT) e área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) do testículo de *Dermanura cinerea* coletados em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Salinho.

Parâmetro	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valores de p AOCT *	Valores de p AOCI **
							0,001 ^a	0,001 ^A
							0,330 ^b	0,534 ^B
							0,001 ^c	0,001 ^C
							0,001 ^d	0,001 ^D
AOCT (%)	69,01 ± 8,98	79,32 ± 5,26	66,90 ± 5,92	78,55 ± 5,61	78,21 ± 5,99	61,89 ± 6,79	0,002 ^e	0,001 ^E
							0,001 ^f	0,012 ^F
							0,609 ^g	0,526 ^G
							0,537 ^h	0,001 ^H
							0,001 ⁱ	0,001 ^I
							0,001 ^j	0,005 ^J
AOCI (%)	8,63 ± 5,01	4,98 ± 1,89	7,84 ± 4,37	4,67 ± 1,52	3,00 ± 1,35	2,86 ± 0,98	0,001 ^k	0,001 ^K
							0,017 ^l	0,001 ^L
							0,832 ^m	0,001 ^M
							0,001 ⁿ	0,001 ^N
							0,001 ^o	0,709 ^O

* ^aPeríodos I e II; ^bPeríodos I e III; ^cPeríodos I e IV; ^dPeríodos I e V; ^ePeríodos I e VI; ^fPeríodos II e III; ^gPeríodos II e IV; ^hPeríodos II e V; ⁱPeríodos II e VI; ^jPeríodos III e IV; ^kPeríodos III e V; ^lPeríodos III e VI; ^mPeríodos IV e V; ⁿPeríodos IV e VI; ^oPeríodos V e VI.

** ^APeríodos I e II; ^BPeríodos I e III; ^CPeríodos I e IV; ^DPeríodos I e V; ^EPeríodos I e VI; ^FPeríodos II e III; ^GPeríodos II e IV; ^HPeríodos II e V; ^IPeríodos II e VI; ^JPeríodos III e IV; ^KPeríodos III e V; ^LPeríodos III e VI; ^MPeríodos IV e V; ^NPeríodos IV e VI; ^OPeríodos V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

Tabela 2: Média e desvio padrão do Número de células de Sertoli (NCS), Número de espermatócitos (NE) e Número de espermátides alongadas (NEA) encontradas, por período, no compartimento tubular do testículo de *Dermanura cinerea* coletados em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Parâmetro	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valores de p NCS*	Valores de p NE**	Valores de p NEA***
NCS	1956,76 ± 987,49	2155,88 ± 544,99	1218,05 ± 366,16	1793,70 ± 846,24	2776,92 ± 993,56	2107,25 ± 693,22	0,263 ^a	0,811 ^A	0,287 ^{aA}
							0,001 ^b	0,595 ^B	0,005 ^{bB}
							0,394 ^c	0,078 ^C	0,857 ^{cC}
							0,002 ^d	0,435 ^D	0,227 ^{dD}
							0,530 ^e	0,004 ^E	0,516 ^{eE}
NE	7073,82 ± 2372,40	8129,13 ± 2122,37	6726,28 ± 2934,01	6083,35 ± 3176,43	6622,38 ± 1706,69	8784,25 ± 1850,66	0,001 ^f	0,091 ^F	0,501 ^{fF}
							0,050 ^g	0,012 ^G	0,205 ^{gG}
							0,020 ^h	0,018 ^H	0,883 ^{hH}
							0,807 ⁱ	0,305 ^I	0,919 ^{iI}
							0,001 ^j	0,452 ^J	0,007 ^{jJ}
NEA	6885,52 ± 2941,97	6342,99 ± 1492,55	5324,83 ± 1676,50	6986,33 ± 2371,82	6273,44 ± 1468,21	6408,65 ± 2457,63	0,001 ^k	0,892 ^K	0,065 ^{kK}
							0,001 ^l	0,012 ^L	0,112 ^{lL}
							0,001 ^m	0,396 ^M	0,158 ^{mM}
							0,157 ⁿ	0,001 ^N	0,383 ^{nN}
							0,018 ^o	0,001 ^O	0,834 ^{oO}

* ^a Períodos I e II; ^b Períodos I e III; ^c Períodos I e IV; ^d Períodos I e V; ^e Períodos I e VI; ^f Períodos II e III; ^g Períodos II e IV; ^h Períodos II e V; ⁱ Períodos II e VI; ^j Períodos III e IV; ^k Períodos III e V; ^l Períodos III e VI; ^m Períodos IV e V; ⁿ Períodos IV e VI; ^o Períodos V e VI.

** ^A Períodos I e II; ^B Períodos I e III; ^C Períodos I e IV; ^D Períodos I e V; ^E Períodos I e VI; ^F Períodos II e III; ^G Períodos II e IV; ^H Período II e V; ^I Período II e VI; ^J Período III e IV; ^K Período III e V; ^L Período III e VI; ^M Período IV e V; ^N Período IV e VI; ^O Período V e VI.

*** ^{aA} Períodos I e II; ^{bB} Períodos I e III; ^{cC} Períodos I e IV; ^{dD} Períodos I e V; ^{eE} Períodos I e VI; ^{fF} Períodos II e III; ^{gG} Períodos II e IV; ^{hH} Período II e V; ^{iI} Período II e VI; ^{jJ} Período III e IV; ^{kK} Período III e V; ^{lL} Período III e VI; ^{mM} Período IV e V; ^{nN} Período IV e VI; ^{oO} Período V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

Tabela 3: Média e desvio padrão do Número de células de Leydig (NCL) de *Dermanura cinerea*, por período, coletados em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho

Parâmetro	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valores de p NCL*
							0,274 ^a
							0,148 ^b
							0,203 ^c
							0,001 ^d
							0,001 ^e
							0,714 ^f
NCL	11,41± 8,43	9,00 ± 6,62	8,11 ± 7,76	8,86 ± 8,97	6,14± 3,63	3,75± 0,89	0,955 ^g
							0,158 ^h
							0,004 ⁱ
							0,771 ^j
							0,351 ^k
							0,030 ^l
							0,166 ^m
							0,005 ⁿ
							0,033 ^o

* ^a Períodos I e II; ^b Períodos I e III; ^c Períodos I e IV; ^d Períodos I e V; ^e Períodos I e VI; ^f Períodos II e III; ^g Períodos II e IV; ^h Períodos II e V; ⁱ Períodos II e VI; ^j Períodos III e IV; ^k Períodos III e V; ^l Períodos III e VI; ^m Períodos IV e V; ⁿ Períodos IV e VI; ^o Períodos V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

Nas análises morfométricas da altura do epitélio (AE) (Tab.4), diâmetro tubular (DT) (Tab.5), diâmetro do epitélio (DE) (Tab.6) e diâmetro luminal (DL) (Tab.7) e de cada região do epidídimo, os resultados obtidos revelaram significância na maioria dos parâmetros avaliados entre os períodos. A AE da região da cabeça foi maior do que as demais regiões. Com exceção do segmento inicial, nota-se que a AE diminui entre as regiões à medida que se direciona para a porção da cauda (Fig. 5). De maneira geral, nos DT, DE e DL, a região da cauda foi a que apresentou as maiores médias quando comparadas às outras regiões do epidídimo. As maiores médias das regiões da cabeça, corpo e cauda, para a AE, DT e DE, apresentaram dois picos ao longo de todo período considerado. Um pico no período III e outro no período V. Enquanto que para o DL o período III demonstrou a menor média, e o período V também apresentou uma média baixa para esse mesmo parâmetro (Fig. 5).

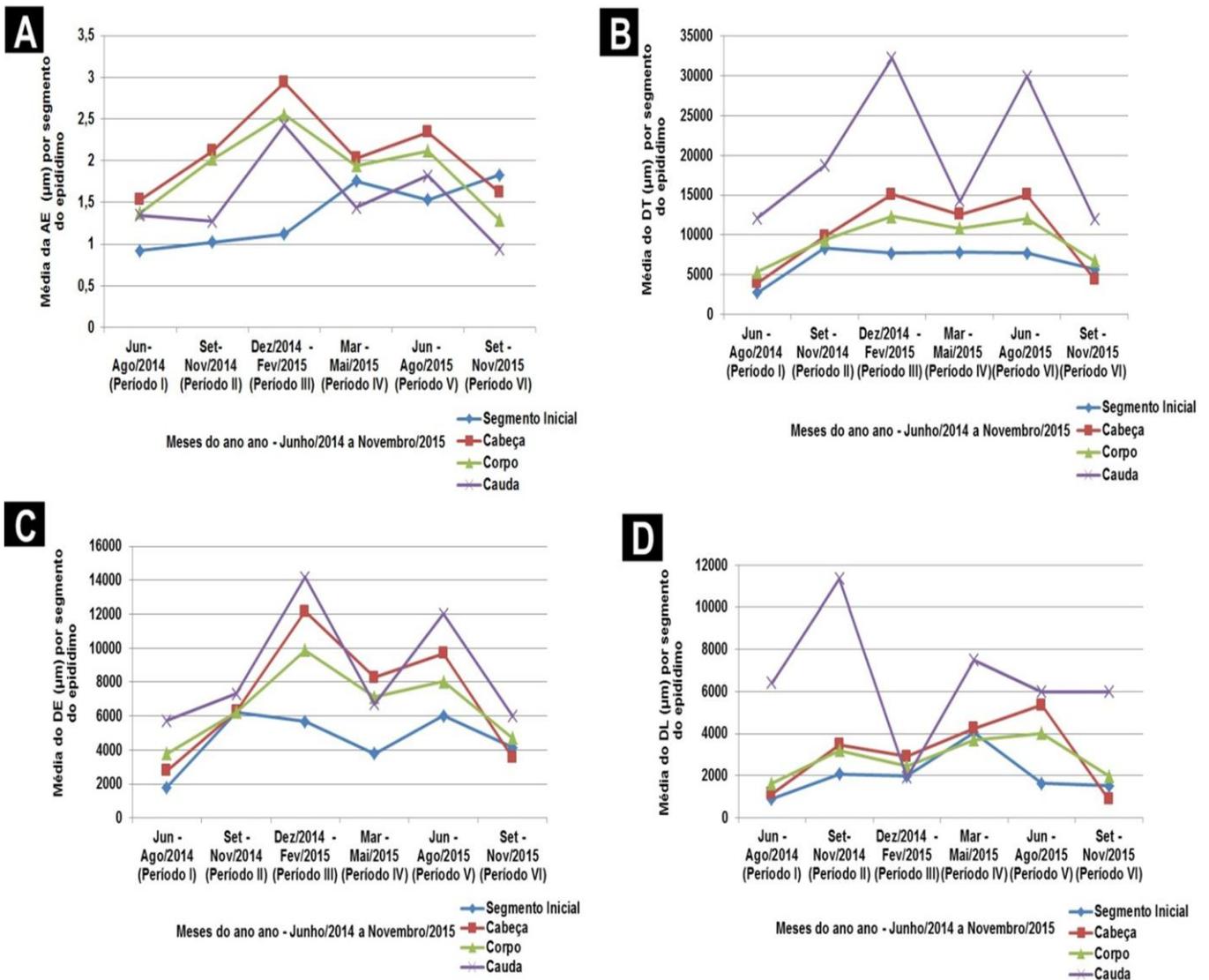


Figura 5: Gráficos evidenciando as análises morfométricas das quatro regiões (segmento inicial, cabeça, corpo e cauda) do epidídimo de *Dermanura cinerea* (A-D) coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Salinho. Médias da altura do epitélio – AE (A), do diâmetro tubular – DT (B), do diâmetro do epitélio – DE (C) e do diâmetro do lúmen – DL (D).

Tabela 4: Média e desvio padrão da altura do epitélio (AE) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Parâmetro	Segmentos	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valores de p Si*	Valores de p Ca**	Valores de p Cp***	Valores de p Cau****
Altura do Epitélio (AE)	Seg. Inicial (Si)	0,92 ± 0,19	1,02 ± 0,29	1,12 ± 0,27	1,76 ± 0,66	1,52 ± 0,75	1,84 ± 0,39	0,001 ^a	0,001 ^A	0,001 ^{BA}	0,091 ^{AB}
								0,001 ^b	0,001 ^B	0,001 ^{BB}	0,001 ^{Bb}
	Cabeça (Ca)	1,53 ± 0,80	2,12 ± 0,31	2,94 ± 0,87	2,04 ± 0,50	2,34 ± 0,42	1,62 ± 0,30	0,001 ^c	0,001 ^C	0,001 ^{CC}	0,003 ^{Cc}
								0,001 ^d	0,001 ^D	0,001 ^{DD}	0,001 ^{Dd}
	Corpo (Cp)	1,37 ± 0,61	2,03 ± 0,43	2,55 ± 0,57	1,93 ± 0,63	2,12 ± 0,45	1,29 ± 0,29	0,001 ^e	0,043 ^E	0,037 ^{EE}	0,001 ^{Ee}
								0,001 ^f	0,001 ^F	0,001 ^{FF}	0,001 ^{Ff}
	Cauda (Cau)	1,34 ± 0,48	1,28 ± 0,37	2,43 ± 1,11	1,45 ± 0,58	1,82 ± 0,49	0,94 ± 0,15	0,001 ^g	0,009 ^G	0,042 ^{GG}	0,001 ^{Gg}
								0,001 ^h	0,001 ^H	0,031 ^{HH}	0,031 ^{Hh}
								0,001 ⁱ	0,001 ^I	0,001 ^{II}	0,001 ^{Ii}
								0,001 ^j	0,001 ^J	0,001 ^{JJ}	0,001 ^{Jj}
								0,001 ^k	0,001 ^K	0,001 ^{KK}	0,001 ^{Kk}
								0,001 ^l	0,001 ^L	0,001 ^{LL}	0,001 ^{Ll}
							0,001 ^m	0,001 ^M	0,001 ^{MM}	0,001 ^{Mm}	
							0,106 ⁿ	0,001 ^N	0,001 ^{NN}	0,001 ^{Nn}	
							0,001 ^o	0,001 ^O	0,001 ^{OO}	0,001 ^{Oo}	

* ^a Períodos I e II; ^b Períodos I e III; ^c Períodos I e IV; ^d Períodos I e V; ^e Períodos I e VI; ^f Períodos II e III; ^g Períodos II e IV; ^h Períodos II e V; ⁱ Períodos II e VI; ^j Períodos III e IV; ^k Períodos III e V; ^l Períodos III e VI; ^m Períodos IV e V; ⁿ Períodos IV e VI; ^o Períodos V e VI.

** ^A Períodos I e II; ^B Períodos I e III; ^C Períodos I e IV; ^D Períodos I e V; ^E Períodos I e VI; ^F Períodos II e III; ^G Períodos II e IV; ^H Períodos II e V; ^I Períodos II e VI; ^J Períodos III e IV; ^K Períodos III e V; ^L Períodos III e VI; ^M Períodos IV e V; ^N Períodos IV e VI; ^O Períodos V e VI.

*** ^{aA} Períodos I e II; ^{bB} Períodos I e III; ^{cC} Períodos I e IV; ^{dD} Períodos I e V; ^{eE} Períodos I e VI; ^{fF} Períodos II e III; ^{gG} Períodos II e IV; ^{hH} Períodos II e V; ^{iI} Períodos II e VI; ^{jJ} Períodos III e IV; ^{kK} Períodos III e V; ^{lL} Períodos III e VI; ^{mM} Períodos IV e V; ^{nN} Períodos IV e VI; ^{oO} Períodos V e VI.

**** ^{Aa} Períodos I e II; ^{Bb} Períodos I e III; ^{Cc} Períodos I e IV; ^{Dd} Períodos I e V; ^{Ee} Períodos I e VI; ^{Ff} Períodos II e III; ^{Gg} Períodos II e IV; ^{Hh} Períodos II e V; ^{Ii} Períodos II e VI; ^{Jj} Períodos III e IV; ^{Kk} Períodos III e V; ^{Ll} Períodos III e VI; ^{Mm} Períodos IV e V; ^{Nn} Períodos IV e VI; ^{Oo} Períodos V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

Tabela 5: Média e desvio padrão do Diâmetro Tubular (DT) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Parâmetro	Regiões	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valor de p Si*	Valor de p Ca**	Valor de p Cp***	Valor de p Cau****
Diâmetro Tubular (DT)	Seg. Inicial (Si)	2686,35 ± 1399,88	8317,66 ± 4048,33	7679,43 ± 5438,04	7812,37 ± 5005,99	7688,94 ± 5801,70	5657,52 ± 3014,61	0,001 ^a	0,001 ^A	0,001 ^{aA}	0,010 ^{Aa}
								0,001 ^b	0,001 ^B	0,001 ^{bB}	0,001 ^{Bb}
								0,001 ^c	0,001 ^C	0,001 ^{cC}	0,291 ^{Cc}
	Cabeça (Ca)	3913,93 ± 3211,56	9770,40 ± 3080,57	15074,73 ± 7371,36	12528,10 ± 6910,11	15057,99 ± 4784,61	4411,80 ± 1460,96	0,001 ^d	0,001 ^D	0,001 ^{dD}	0,001 ^{Dd}
								0,002 ^e	0,332 ^E	0,062 ^{eE}	0,931 ^{Ee}
								0,608 ^f	0,257 ^F	0,005 ^{fF}	0,003 ^{Ff}
	Corpo (Cp)	5405,39 ± 3559,61	9402,70 ± 2919,97	12325,07 ± 4620,59	10827,42 ± 6945,37	12074,50 ± 3667,49	6684,34 ± 2096,35	0,633 ^g	0,011 ^G	0,176 ^{gG}	0,034 ^{Gg}
								0,628 ^h	0,001 ^H	0,003 ^{hH}	0,001 ^{Hh}
								0,030 ⁱ	0,001 ^I	0,003 ⁱⁱ	0,010 ^{Ii}
	Cauda (Cau)	12138,08 ± 12690,28	18683,60 ± 8928,09	32259,54 ± 21475,06	14194,29 ± 9863,22	29973,27 ± 13926,04	11979,64 ± 4836,46	0,908 ^j	0,111 ^J	0,227 ^{jJ}	0,001 ^{Jj}
								0,995 ^k	0,992 ^K	0,817 ^{kK}	0,627 ^{Kk}
								0,116 ^l	0,001 ^L	0,001 ^{lL}	0,001 ^{Ll}
								0,921 ^m	0,046 ^M	0,268 ^{mM}	0,001 ^{Mm}
								0,040 ⁿ	0,001 ^N	0,001 ^{nN}	0,221 ^{Nn}
								0,130 ^o	0,001 ^O	0,001 ^{oO}	0,001 ^{Oo}

* ^a Períodos I e II; ^b Períodos I e III; ^c Períodos I e IV; ^d Períodos I e V; ^e Períodos I e VI; ^f Períodos II e III; ^g Períodos II e IV; ^h Períodos II e V; ⁱ Períodos II e VI; ^j Períodos III e IV; ^k Períodos III e V; ^l Períodos III e VI; ^m Períodos IV e V; ⁿ Períodos IV e VI; ^o Períodos V e VI.

** ^A Períodos I e II; ^B Períodos I e III; ^C Períodos I e IV; ^D Períodos I e V; ^E Períodos I e VI; ^F Períodos II e III; ^G Períodos II e IV; ^H Período II e V; ^I Período II e VI; ^J Período III e IV; ^K Período III e V; ^L Período III e VI; ^M Período IV e V; ^N Período IV e VI; ^O Período V e VI.

*** ^{aA} Períodos I e II; ^{bB} Períodos I e III; ^{cC} Períodos I e IV; ^{dD} Períodos I e V; ^{eE} Períodos I e VI; ^{fF} Períodos II e III; ^{gG} Períodos II e IV; ^{hH} Período II e V; ^{iI} Período II e VI; ^{jJ} Período III e IV; ^{kK} Período III e V; ^{lL} Período III e VI; ^{mM} Período IV e V; ^{nN} Período IV e VI; ^{oO} Período V e VI.

**** ^{Aa} Períodos I e II; ^{Bb} Períodos I e III; ^{Cc} Períodos I e IV; ^{Dd} Períodos I e V; ^{Ee} Períodos I e VI; ^{Ff} Períodos II e III; ^{Gg} Períodos II e IV; ^{Hh} Período II e V; ^{Ii} Período II e VI; ^{Jj} Período III e IV; ^{Kk} Período III e V; ^{Ll} Período III e VI; ^{Mm} Período IV e V; ^{Nn} Período IV e VI; ^{Oo} Período V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

Tabela 6: Média e desvio padrão da Diâmetro do Epitélio (DE) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Parâmetro	Regiões	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valor de p Si*	Valor de p Ca**	Valor de p Cp***	Valor de p Cau****
Diâmetro do Epitélio (DE)	Seg. Inicial (Si)	1795,22 ± 662,79	6246,22±2823,74	5674,14 ± 4150,44	3756,93±11589,96	6049,78 ± 5012,11	4144,41 ± 1964,31	0,001 ^a	0,001 ^A	0,001 ^{aA}	0,004 ^{Aa}
								0,001 ^b	0,001 ^B	0,001 ^{bB}	0,001 ^{Bb}
								0,195 ^c	0,001 ^C	0,001 ^{cC}	0,074 ^{Cc}
	Cabeça (Ca)	2774,07 ± 2726,84	6294,84 ± 1589,76	12158,97 ± 5737,38	8285,51 ± 4092,47	9695,39 ± 2132,56	3545,43 ± 944,06	0,001 ^d	0,001 ^D	0,001 ^{dD}	0,001 ^{Dd}
								0,001 ^e	0,045 ^E	0,021 ^{eE}	0,675 ^{Ee}
								0,535 ^f	0,001 ^F	0,001 ^{fF}	0,001 ^{Ff}
	Corpo (Cp)	3756,69 ± 2219,33	6215,77 ± 1348,58	9882,83 ± 3617,63	7127,62±3991,23	8070,72 ± 2583,03	4690,76 ± 1186,91	0,251 ^g	0,001 ^G	0,114 ^{gG}	0,297 ^{Gg}
								0,852 ^h	0,001 ^H	0,001 ^{hH}	0,001 ^{Hh}
								0,013 ⁱ	0,001 ^I	0,001 ^{iI}	0,032 ^{Ii}
	Cauda (Cau)	5748,94 ± 3705,69	7322,80 ± 2008,14	14167,58 ± 9341,28	6713,98 ± 2837,59	12005,12 ± 6176,24	5992,71 ± 1648,67	0,383 ^j	0,001 ^J	0,002 ^{jJ}	0,001 ^{Jj}
								0,753 ^k	0,034 ^K	0,029 ^{kK}	0,295 ^{Kk}
								0,101 ^l	0,001 ^L	0,001 ^{lL}	0,001 ^{Ll}
								0,304 ^m	0,034 ^M	0,181 ^{mM}	0,001 ^{Mm}
								0,898 ⁿ	0,001 ^N	0,001 ^{nN}	0,349 ^{Nn}
								0,076 ^o	0,001 ^O	0,001 ^{oO}	0,001 ^{Oo}

* ^aPeríodos I e II; ^bPeríodos I e III; ^cPeríodos I e IV; ^dPeríodos I e V; ^ePeríodos I e VI; ^fPeríodos II e III; ^gPeríodos II e IV; ^hPeríodos II e V; ⁱPeríodos II e VI; ^jPeríodos III e IV; ^kPeríodos III e V; ^lPeríodos III e VI; ^mPeríodos IV e V; ⁿPeríodos IV e VI; ^oPeríodos V e VI.

** ^APeríodos I e II; ^BPeríodos I e III; ^CPeríodos I e IV; ^DPeríodos I e V; ^EPeríodos I e VI; ^FPeríodos II e III; ^GPeríodos II e IV; ^HPeríodo II e V; ^IPeríodo II e VI; ^JPeríodo III e IV; ^KPeríodo III e V; ^LPeríodo III e VI; ^MPeríodo IV e V; ^NPeríodo IV e VI; ^OPeríodo V e VI.

*** ^{aA}Períodos I e II; ^{bB}Períodos I e III; ^{cC}Períodos I e IV; ^{dD}Períodos I e V; ^{eE}Períodos I e VI; ^{fF}Períodos II e III; ^{gG}Períodos II e IV; ^{hH}Período II e V; ^{iI}Período II e VI; ^{jJ}Período III e IV; ^{kK}Período III e V; ^{lL}Período III e VI; ^{mM}Período IV e V; ^{nN}Período IV e VI; ^{oO}Período V e VI.

**** ^{Aa}Períodos I e II; ^{Bb}Períodos I e III; ^{Cc}Períodos I e IV; ^{Dd}Períodos I e V; ^{Ee}Períodos I e VI; ^{Ff}Períodos II e III; ^{Gg}Períodos II e IV; ^{Hh}Período II e V; ^{Ii}Período II e VI; ^{Jj}Período III e IV; ^{Kk}Período III e V; ^{Ll}Período III e VI; ^{Mm}Período IV e V; ^{Nn}Período IV e VI; ^{Oo}Período V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

Tabela 7: Média e desvio padrão do Diâmetro Luminal (DL) dos segmentos do epidídimo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em área de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Parâmetro	Regiões	Período I	Período II	Período III	Período IV	Período V	Período VI	Valor de p Si*	Valor de p Ca**	Valor de p Cp***	Valor de p Cau****
Diâmetro Luminal (DL)	Seg. Inicial (Si)	890,13 ± 855,14	2071,44 ± 1330,17	2005,29 ± 1412,46	4055,44 ± 13723,92	1639,16 ± 1089,50	1513,11 ± 1152,45	0,001 ^a	0,001 ^A	0,001 ^{aA}	0,010 ^{Aa}
								0,001 ^b	0,001 ^B	0,007 ^{bB}	0,001 ^{Bb}
								0,080 ^c	0,001 ^C	0,001 ^{cC}	0,461 ^{Cc}
	Cabeça (Ca)	1139,86 ± 763,08	3475,56 ± 1880,65	2915,76 ± 1904,50	4242,59 ± 3376,09	5362,60 ± 3137,30	866,36 ± 689,63	0,001 ^d	0,001 ^D	0,001 ^{dD}	0,741 ^{Dd}
								0,062 ^e	0,196 ^E	0,283 ^{eE}	0,764 ^{Ee}
								0,853 ^f	0,257 ^F	0,071 ^{fF}	0,034 ^{Ff}
	Corpo (Cp)	1648,70 ± 1575,22	3186,94 ± 1818,81	2442,24 ± 1260,45	3699,80 ± 4153,74	4003,77 ± 1674,36	1993,58 ± 1034,57	0,433 ^g	0,170 ^G	0,418 ^{gG}	0,026 ^{Gg}
								0,174 ^h	0,006 ^H	0,076 ^{hH}	0,003 ^{Hh}
								0,173 ⁱ	0,001 ^I	0,008 ^{iI}	0,002 ^{Ii}
	Cauda (Cau)	6389,13 ± 9493,51	11360,81 ± 7458,86	18091,96 ± 15120,20	7480,30 ± 7816,09	5968,15 ± 3402,20	5986,93 ± 3413,19	0,418 ^j	0,020 ^J	0,034 ^{jJ}	0,001 ^{Jj}
								0,266 ^k	0,001 ^K	0,001 ^{kK}	0,001 ^{Kk}
								0,250 ^l	0,001 ^L	0,240 ^{lL}	0,001 ^{Ll}
								0,340 ^m	0,133 ^M	0,624 ^{mM}	0,250 ^{Mm}
								0,478 ⁿ	0,001 ^N	0,006 ^{nN}	0,270 ^{Nn}
								0,721 ^o	0,001 ^O	0,001 ^{oO}	0,730 ^{Oo}

* ^a Períodos I e II; ^b Períodos I e III; ^c Períodos I e IV; ^d Períodos I e V; ^e Períodos I e VI; ^f Períodos II e III; ^g Períodos II e IV; ^h Períodos II e V; ⁱ Períodos II e VI; ^j Períodos III e IV; ^k Períodos III e V; ^l Períodos III e VI; ^m Períodos IV e V; ⁿ Períodos IV e VI; ^o Períodos V e VI.

** ^A Períodos I e II; ^B Períodos I e III; ^C Períodos I e IV; ^D Períodos I e V; ^E Períodos I e VI; ^F Períodos II e III; ^G Períodos II e IV; ^H Período II e V; ^I Período II e VI; ^J Período III e IV; ^K Período III e V; ^L Período III e VI; ^M Período IV e V; ^N Período IV e VI; ^O Período V e VI.

*** ^{aA} Períodos I e II; ^{bB} Períodos I e III; ^{cC} Períodos I e IV; ^{dD} Períodos I e V; ^{eE} Períodos I e VI; ^{fF} Períodos II e III; ^{gG} Períodos II e IV; ^{hH} Período II e V; ^{iI} Período II e VI; ^{jJ} Período III e IV; ^{kK} Período III e V; ^{lL} Período III e VI; ^{mM} Período IV e V; ^{nN} Período IV e VI; ^{oO} Período V e VI.

**** ^{Aa} Períodos I e II; ^{Bb} Períodos I e III; ^{Cc} Períodos I e IV; ^{Dd} Períodos I e V; ^{Ee} Períodos I e VI; ^{Ff} Períodos II e III; ^{Gg} Períodos II e IV; ^{Hh} Período II e V; ^{Ii} Período II e VI; ^{Jj} Período III e IV; ^{Kk} Período III e V; ^{Ll} Período III e VI; ^{Mm} Período IV e V; ^{Nn} Período IV e VI; ^{Oo} Período V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos.

A presença de machos com testículos descendentes (TD) em todos os períodos e de machos com testículos não descendentes (TND) apenas em períodos específicos, sobretudo naqueles meses nos quais foram observados, em sua maioria, elevados índices pluviométricos, pode levar a inferências imprecisas sobre a biologia reprodutiva de *D. cinerea*.

Assim, a morfologia externa das gônadas consiste em um dado limitado para definir a reprodução de uma espécie, posto que apenas essas informações, sem os achados das análises histológicas e morfométricas, poderia induzir a compreensão de uma possível baixa no período reprodutivo ou até mesmo que essa espécie se encontraria em inatividade durante os períodos em que seus testículos estavam não descendentes, pois alguns estudos sobre reprodução em quirópteros consideravam os TD como sendo sexualmente ativos enquanto que os TND como inativos (Bredt et al. 1999, Zórtea 2003, Gomes e Uieda 2004, Ortêncio Filho et al. 2007).

A composição histológica tanto do compartimento tubular quanto intertubular de *D. cinerea* é a mesma observada para outros mamíferos (Setchell 1991; Franca e Russell 1998; Morais et al. 2013a). As células em diferentes estágios de maturação encontradas nos túbulos seminíferos ao longo de todos os períodos considerados, bem como independente da posição que os testículos se encontravam (TD ou TND), fortalecem os achados de Lima Junior et al.(2014) em área de Mata Atlântica em Pernambuco, para a espécie *Phyllostomus discolor*, a qual faz parte da mesma família (Phyllostomidae) que *D. cinerea*, nos quais foi constatado que os indivíduos podem estar aptos a reprodução inclusive quando apresenta testículos não descendentes.

Os resultados histológicos dos testículos indicam que essa espécie encontra-se aparentemente fértil ao longo de todo ano. Dados semelhantes também foram encontrados para as espécies *Artibeus lituratus* em área de Mata Atlântica no estado de Minas Gerais (Duarte e Talamoni 2010, Notini et al. 2015) e *Artibeus planirostris*, no sudeste do Brasil (Beguelini et al. 2013b). Ambas fazem parte da mesma subfamília (Stenodermatinae), que *D. cinerea* e também apresentaram fertilidade durante todo o

ciclo reprodutivo anual. Esse comportamento pode ter relação com uma produção espermática, ao longo dos períodos, que seja suficiente para manter o sistema de harém da espécie, assim como para possibilitar a sincronização com o padrão reprodutivo das fêmeas (Beguelini et al. 2013b).

As evidências histológicas verificadas para o epidídimo de *D. cinerea* (família Phyllostomidae), são semelhantes às descritas por Beguelini et al., (2010), para as espécies *Eumops glaucinus* e *Molossus molossus* (família Molossidae), nas quais também foram verificadas as mesmas regiões. Porém, difere da descrição realizada por Beguelini et al. (2015) para espécie *Myotis nigricans* (família Vespertilionidae), e por Krutzsch (2000) em outras espécies de quirópteros, nas quais foram verificadas apenas três regiões (cabeça, corpo e cauda).

A maior quantidade de espermatozoides observadas na região da cauda do epidídimo tem uma explicação plausível, já que de maneira padrão essa região é o local onde há a maior concentração dessas células (Beguelini et al. 2013a). E isso foi constatado independente se os testículos estavam descendentes ou não descendentes (Tobón et al. 2010; Lima Junior et al. 2014).

A menor média da área de ocupação do compartimento tubular (AOCT), área de ocupação do compartimento intertubular (AOCI) e número de células de Leydig (NCL) nos período VI, indica uma possível regressão testicular durante esse período que inicia a estação seca (Farias et al. 2014). Por outro lado, a maior média encontrada para a AOCI e NCL no mesmo período (período I) são semelhantes às conclusões de Morais et al. (2013a) que enfatiza que o aumento do compartimento intertubular está diretamente relacionado com o consequente aumento percentual das células de Leydig, uma vez que estas são os elementos com maior predominância nesse compartimento (Morais et al. 2014a).

Esses achados indicam também um maior investimento na produção de andrógenos testiculares e maior capacidade esteroidogênica no período I, visto que é justamente no compartimento intertubular onde se encontram as células de Leydig que

são responsáveis pela produção de hormônios, dentre os quais se destaca a testosterona (Morais et al. 2013a). Dessa forma, quanto maior a área de ocupação maior a quantidade dessas células e, conseqüentemente, maior a produção hormonal (Russell et al. 1990, Zirkin et al. 1994). E de fato os achados do presente estudo evidenciam e corroboram essas relações.

As variações no número de espermátócitos e espermátides alongadas não seguiram um aumento ou diminuição, contínua entre os períodos. Isso pode ser explicado pela estratégia reprodutiva da espécie em gerar espermatozoides viáveis para cópula durante o período mais favorável à reprodução, pois o processo de espermatogênese requerer um elevado gasto de energia. Assim, os resultados morfométricos obtidos indicam um maior investimento energético que, possivelmente, se inicia ainda no período de maior disponibilidade de recurso alimentar (final do período chuvoso) para assim possibilitar a produção de espermatozoides viáveis para o acasalamento durante a estação seca. Todavia, se faz necessário enfatizar que isso não é uma regra, posto que em meses do período seco, também foram observadas médias elevadas, demonstrando atividade espermatogênica dessa espécie em períodos de baixos índices pluviométricos também. Diante disso, constata-se que *D. cinerea* ajusta constantemente seu processo reprodutivo às condições ambientais, fortalecendo assim as conclusões de Soares et al. (2003), Zórtea (2003) e Ortêncio Filho et al. (2007), os quais enfatizam que esse ajuste tem como finalidade a sobrevivência da prole, já que esse período é energeticamente dispendioso e fatores endógenos também estão diretamente relacionados.

Ademais, com relação às células de Sertoli que nutrem e dão sustentação as células da linhagem espermatogênica, verificou-se um aumento possivelmente proporcional as variações da precipitação nos períodos considerados, fazendo com que a espécie em questão produza essas células de acordo com as mudanças ambientais na área de estudo considerada (Nieschlag et al. 2010, Moraes et al. 2013c).

Os picos elevados da região da cauda de *D. cinerea* quando comparados as demais regiões do epidídimo no que diz respeito ao diâmetro tubular, luminal e do

epitélio, são semelhantes às observações encontradas por Aguilera-Merlo et al., (2005) em um estudo realizado com roedor, no qual foi observado que as análises morfométricas do diâmetro luminal e altura do epitélio apresentam alterações sazonais significativas e, dentre as regiões do epidídimo, a que se apresentou mais sensível às mudanças ocasionadas pela sazonalidade foi a cauda. Assim, quando ocorre uma diminuição no diâmetro luminal dessa região, possivelmente há também uma diminuição na quantidade de espermatozoides. Essa variação tem relações estreitas com a provável diminuição nos níveis séricos de testosterona ao longo do ciclo reprodutivo anual (Calvo et al. 1997, 1999; Aguilera-Merlo et al. 2005; Beguelini et al. 2013c).

O fato da região da cauda apresentar valores maiores no que se refere aos diâmetros tubular, luminal e do epitélio, quando comparada às regiões do segmento inicial, cabeça e corpo, podem ser explicados também pela funcionalidade dessa região em ser mais atuante no processo de metabolismo do esperma, bem como na maturação dos espermatozoides até que sejam liberados durante a ejaculação, como ocorre na cauda epididimal dos demais mamíferos (Budras e Sauer 1975, Artoni et al. 1999, Cooper 1999).

Essa forma de armazenamento dos espermatozoides na cauda do epidídimo, bem como o tempo de duração pode variar, pois após o fim da espermatogênese, ainda é possível que a estocagem permaneça. Essa funcionalidade possibilita que os machos sincronizem sua atividade reprodutiva com a chegada de fêmeas receptivas, após o término da espermatogênese, de forma que o acasalamento e, conseqüentemente, a fecundação possa acontecer de maneira eficaz. Esses achados evidenciam a importância histofisiológica dessa região do epidídimo no que diz respeito a armazenar e manter os espermatozoides viáveis, por um longo período de tempo (Cooper 1999, Tabón et al. 2010).

A associação encontrada no período III, sobretudo na região da cauda, entre os parâmetros morfométricos da altura do epitélio, diâmetro tubular e diâmetro do epitélio estão relacionadas às alterações fisiológicas das regiões do epidídimo de *D. cinerea*,

influenciadas pelas condições ambientais. Assim, quando há um aumento na altura do epitélio desse órgão, bem como no seu diâmetro tubular e epitelial, por outro lado há uma diminuição no diâmetro luminal. Isso pode ser explicado porque esses meses correspondem ao fim da estação seca na área de estudo considerada. Com isso, o menor diâmetro do lúmen indica uma diminuição na quantidade de espermatozoides ao longo do lúmen durante esse período. Por outro lado, o aumento do diâmetro total e do epitélio expressa uma preparação deste, no que se refere à produção dos diferentes tipos celulares que atuarão na absorção, secreção, síntese e metabolismo no epidídimo no período seguinte (Hinton 1990, Turner 1991, Serre e Robaire 1998, Beguelini et al. 2010).

Dentro dessa mesma perspectiva, a maior média encontrada para o diâmetro luminal no período II que são meses iniciais da estação seca indicam a época em que *D. cinerea* apresenta o ambiente luminal mais propício para fertilização e motilidade dos espermatozoides (Turner 1991, Serre e Robaire 1998). E isso pode ser percebido por uma baixa nos outros parâmetros avaliados ao longo desse mesmo período.

Portanto, os machos da espécie *D. cinerea* não apresentam um padrão reprodutivo tipicamente definido na sua atividade testicular em Mata Atlântica de Pernambuco. Essa espécie fica tentando ajustar sua reprodução as condições ambientais, e como estas são bastante variáveis, o período reprodutivo de *D. cinerea* acaba não ocorrendo de maneira contínua ao longo do ciclo reprodutivo anual. Ademais, a região do epidídimo que apresenta maior sensibilidade, às variações sazonais, consiste na região da cauda. Isso se deve ao fato desta armazenar os espermatozoides e por isso, apresentou as maiores variações morfométricas. Houve uma sincronização entre as mudanças ocorridas na altura do epitélio, diâmetro tubular e epitelial com o diâmetro luminal do epidídimo durante os períodos em que houve maiores e menores médias para os parâmetros avaliados.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor e a Reserva Biológica de Saltinho – Pernambuco por permitir a realização do presente estudo em suas propriedades.

REFERÊNCIAS

AGUILERA-MERLO C, MUÑOZ E, DOMINGUEZ S, SCARDAPANE L AND PIEZZI R. 2005. Epididymis of viscacha (*Lagostomus maximus maximus*): Morphological changes during the annual reproductive cycle. *Anatomical Record* 282: 83-92.

ARTONI SMB, MANOEL HL, CARVALHO TLL, ORSI AM, STEFANINI MA. 1999. Avaliação morfométrica da área do epidídimo e dos ductulos eferentes e duetos epididimários da codorna doméstica, no decorrer do ano. *Braz J. vet. Res. anim. Sci* 36: (6)283-289.

BEHMER OA, TOLOSA EMC AND NETO AGF. 1976. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica. 1ª ed. São Paulo: EDART – Ed. da Universidade de São Paulo.

BEGUELINI MR, GOES RM, RAHAL P, MORIELLE-VERSUTE E AND TABOGA SR. 2015. Impact of the Processes of Total Testicular Regression and Recrudescence on the Epididymal Physiology of the Bat *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae). *PLOS One* 1-18.

BEGUELINI MR, GOES RM, TABOGA SR AND MORIELLE-VERSUTE E. 2013c. Two periods of total testicular regression are peculiar events of the annual reproductive cycle of the black *Myotis* bat, *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Reproduction, Fertility and Development* 26: 834–846.

BEGUELINI MR, MOREIRA PRL, FARIA KC, MARCHESIN SRC AND MORIELLE-VERSUTE E. 2009. Morphological Characterization of the Testicular Cells and Seminiferous Epithelium Cycle in Six Species of Neotropical Bats. *Journal of Morphology* 270: 943–953.

BEGUELINI MR, PUGA CCI, MARTINS FF, BETOLI AHS, TABOGA SR AND MORIELLE-VERSUTE E. 2013a. Morphological Variation of Primary Reproductive Structures in Males of Five Families of Neotropical Bats. *The Anatomical Record*, 296:156–167.

BEGUELINI MR, PUGA CCI, TABOGA SR AND MORIELLE-VERSUTE E. 2013b. Annual reproductive cycle of males of the flat-faced fruit-eating bat, *Artibeus planirostris* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Gen Comp Endocrinol* 185: 80–89.

BEGUELINI MR, SERGIO BFS, LEME FLJ, TABOGA SR AND MORIELLE-VERSUTE E. 2010. Morphological and morphometric characteristics of the epididymis in the Neotropical bats *Eumops glaucinus* and *Molossus molossus* (Chiroptera: Molossidae). *Chiroptera Neotropical* 16 (2): 769 – 779.

BERNARD E. 2002. Diet, activity and reproduction of bat species (Mammalia, Chiroptera) in Central Amazonia, Brasil. *Rev Bras Zoo*, Curitiba 19 (1): 173-188.

BREDT A, UIEDA W E MAGALHÃES ED. 1999. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). *Rev Bras Zoo* 16 (3): 731-770.

BRITO JEC, GAZARINI JE AND ZAWADZKI CH. 2010. Abundância e frugivoria da quiropterofauna (Mammalia, chiroptera) de um fragmento no noroeste do Estado do Paraná, Brasil. *Acta Sci Biol Sci* 32:265-271.

BUDRAS KD AND SAUER T. 1975. Morphology of the epididymis of the cock (*Gallus domesticus*) and its effect upon the steroid sex hormone synthesis. Ontogenesis, morphology, and distribution of the epididymis. *Anat. Embryol.*, 148 (2) 175-196.

CALVO A, BUSTOS-OBREGON E AND PASTOR LM. 1997. Morphological and histochemical changes in the epididymis of hamsters (*Mesocricetus auratus*) subjected to short photoperiod. *J Anat*, 191:77–88.

CALVO A, PASTOR LM, MARTÍNEZ E, VÁZQUEZ JM AND ROCA J. 1999. Age-related changes in the hamster epididymis. *Anat Rec* 256:335–346.

COOPER T. 1999. Epididymis. In: E. Knobil y DJ Neill, ed. Encyclopedia of reproduction, volúmen 2. Academic Press, San Diego, California, EUA, 1-17.

CRICHTON EG AND KRUTZSCH PH. 2000. Reproductive Biology of Bats. Academic Press, 510 p.

DUARTE APG AND TALAMONI SA. 2010. Reproduction of the large fruit-eating bat *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Brazilian Atlantic forest area. Mamm Biol 75: 320–325.

EMMONS LH AND FEER F. 1997. Neotropical rainforest mammals: a field guide. Chicago, The University of Chicago Press, 392 p.

ESBÉRARD CEL. 2002. Composição da colônia e reprodução de *Molossus rufus* em refúgio no sudeste do Brasil (Mammalia, Molossidae). Rev Bras Zoo 19 (4): 1153-1160.

FABIÁN MF E MARQUES RV. 1989. Contribuição ao conhecimento da biologia reprodutiva de *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (Chiroptera, Molossidae). Rev bras Zoo 6 (4): 603-610.

FRANÇA LR AND RUSSELL LD. 1998. The testis of domestic mammals. In: MARTINEZ-GARCIA F, REGARDERA J (Eds). Male Reproduction. A Multidisciplinary Overview. España: Churchill Communications, 197–219.

GARCIA QS, REZENDE JLP AND AGUIAR LMS. 2000. Seed dispersal by bats in a disturbed area of Southeastern Brazil. Rev Biol Trop (48):125-128.

GANNON MR AND WILLIG MR. 1992. Bat reproduction in the Luquillo Experimental Forest of Puerto Rico. Southwest Nat 37 (4):414-419.

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

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 (3): 629-638.

HINTON B.1990.The testicular and epididymal luminal amino acid micro environment in the rat. J Androl, 11: 498-505.

LEÓN-GALVÁN MA, LÓPEZ-WILCHIS R, HERNÁNDEZ-PÉREZ O, ARENAS-RÍOS E AND ROSADO A. 2005. Male reproductive cycle of Mexican big-eared bats, *Corynorhinus mexicanus* (Chiroptera: Vespertilionidae). The Southwestern Naturalist 50(4):453–460.

KRUTZSCH P.H. 2000. Anatomy, physiology and cyclicity of the male reproductive tract. In: Crichton E.G. and Krutzsch P.H. (Eds.), Reproductive biology of bats. Academic Press, London, United Kingdom, 91-155

LIM BK, PEDRO WA AND PASSOS FC. 2003. Differentiation and species status of the Neotropical yellow-eared bats *Vampyressa pusilla* and *V. thyone* (Phyllostomidae) with a molecular phylogeny and review of the genus. Acta Chiropterol 5 (1): 15-29.

LIMA JUNIOR NB, ARANDAS MJG, MARINHO KSN, AGUIAR JÚNIOR FCA, PONTES ARM E SANTOS KRP. 2014. Histomorfometria testicular do morcego *Phyllostomus discolor* (Chiroptera: Phyllostomidae) em áreas de Mata Atlântica de Pernambuco. Braz J Vet Res Anim Sci 51 (3): 263-270.

MELLO MAR, SCHITTINI GM, SELIG P AND BERGALLO HG. 2004. Seasonal variation in the diet of the *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Atlantic Forest area in southeastern Brazil. Mammalia 68: 49-55.

MORAIS DB, PAULA TAR, BARROS MS, BALARINI MK, FREITAS MBD AND MATTA SLP. 2013b.Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. J Anat..222: 372-379.

MORAIS DB, OLIVEIRA LC, CUPERTINO MC, FREITAS KM, FREITAS MBD, PAULA TAR AND MATTA SLP. 2013a. Organization and Seasonal Quantification of the Intertubular Compartment in the Bat *Molossus molossus* (Pallas, 1776) Testis. Microscopy res techniq 76: 94–101.

MORAIS DB, BARROS MS, FREITAS MBD, PAULA TAR AND MATTA SLP. 2014a. Histomorphometric characterization of the intertubular compartment in the testes of the bat *Sturnira lilium*. *Animal Reproduction Science*.

MORAIS DB, CUPERTINO MC, GOULART LS, FREITAS KM, FREITAS MBD, PAULA TAR AND MATTA SLP. 2013c. Histomorphometric evaluation of the *Molossus molossus* (Chiroptera, Molossidae) testis: The tubular compartment and indices of sperm production. *Animal Reproduction Science* 01-11.

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

NIESCHLAG E, BEHRE HM AND NIESCHLAG S. 2010. *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction*. Springer, Heidelberg u.a

NOTINI AA, FARIAS TO, TALAMONI SA AND GODINHO HP. 2015 Annual male reproductive activity and stages of the seminiferous epithelium cycle of the large fruit-eating *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Zoologia* 32 (3):195–200.

ORTÊNCIO FILHO H, REIS NR, PINTO D E VIEIRA DC. 2007. Aspectos reprodutivos de *Artibeus lituratus* (Phyllostomidae) em fragmentos florestais na região de Porto Rico, Paraná, Brasil. *Chiropt Neotrop* 13 (2): 313-318.

PASSOS FC, SILVA WR, PEDRO WA E BONIN MR. 2003. Frugivoria em morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Parque Estadual Intervales, sudeste do Brasil. *Rev Bras Zoo* 20(3): 511–517.

RACEY PA. 1988. Reproductive assessment in bats. In: KUNZ TH (Ed.). *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Washington, DC, Smithsonian Institution Press, 31-43.

REBIO SALTINHO. Reserva Biológica de Saltinho. Plano de Manejo. Brasília: IBAMA, 2003.

REDONDO RAF, BRINA LPS, SILVA RF, DITCH-FIELD AD AND SANTOS FR. 2008. Molecular systematics of the genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Mol Phylogenet Evol* 49: 44-58.

REIS NR, PERACCHI AL, PEDRO WA AND LIMA IP (Eds). 2011. Mamíferos do Brasil. 2. ed., Londrina, 439 p.

RIEDER N AND SCHMIDT K. 1987. Morphologische Arbeitsmethoden in der Biologie. Germany: Verlagsgesellschaft mbH.

RUSSELL LD, ETTLIN RA, SINHA HIKIM AP AND CLEGG ED. 1990. Mammalian spermatogenesis. In: RUSSELL LD, ETTLIN RA, SINHA HIKIM AP, CLEGG ED (Eds). Histological and histopathological evaluation of the testis Cache River Press, Clearwater, Florida 1-40.

SCULTORI C, DIAS D AND PERACCHI AL. 2009. Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae, *Artibeus cinereus*: First record in the state of Paraná, Southern Brazil. Check List Journal of Species Lists and Distribution 5 (2): 325–329.

SERRE, V.; ROBAIRE, B. Segment-specific morphological changes in aging Brown Norway rat epididymis. Biol. Reprod. 58, 497–513, 1998.

SETCHELL BP. 1991. Male reproductive organs and semen. In: CUPPS PT, editor. Reproduction in domestic animals. New York: Academic Press 221–249.

SOARES MCF, URBINATI EC AND SENHORINI JA. 2003. Variação Periódica da Triiodotironina (T3) Plasmática e sua Ação na Reprodução Induzida do Matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em Cativeiro. Revista Brasileira de Zootecnia 32(6):1825-1834.

SOLARI S, HOOFER SR, LARSEN PA, BROWN AD, BULL RJ, GUERRERO JA, ORTEGA J, CARRERA JP, BRADLEY RD AND BAKER RJ. 2009. Operational criteria for genetically defined species: analysis of the diversification of the small fruit-eating bats, *Dermanura* (Phyllostomidae: Stenodermatinae). Acta Chiropterol 11 (2): 279–288.

STRAUBE FC E BIANCONI GV. 2002. Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. Chiropt Neotrop 8: 1-2.

TOBÓN AR, ARENAS-RÍOS E, LEÓN-GALVAN MA.2010. El almacenamiento prolongado de espermatozoides en el epidídimo, adaptación que permite sincronizar el periodo de apareamientos en murciélagos. *ContactoS* 78: 58–64.

ZIRKIN BR, AWONIYI C, GRISWOLD MD, RUSSELL LD AND SHARPE R. 1994. Is FSH required for adult spermatogenesis? *J. Androl* 15: 273-276.

ZORTÉA M. 2003. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian Cerrado. *Braz J Biol* 63 (1):159-168.

CAPÍTULO 3

Análise do estágio reprodutivo e histomorfometria ovariana de *Dermanura cinerea* (Chiroptera: Phyllostomidae) em um Fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil

[Analysis of the reproductive stage and ovarian histomorphometry Dermanura cinerea (Chiroptera: Phyllostomidae) in an Atlantic Forest Fragment of Pernambuco, northeastern Brazil]

Nivaldo Bernardo de Lima Junior*¹; Maria Juliana Gomes Arandas²; Fabricya Roberta da Silva¹; Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior¹; José Eduardo Garcia¹; Katharine Raquel Pereira dos Santos¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Núcleo de Ciências Biológicas, R. Alto do Reservatório S/N Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. CEP: 55.608-680.

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, R. Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil. CEP: 52171-900.

*Autor para correspondência: E-mail: nivaldobernardo@hotmail.com

RESUMO

Esse estudo teve como objetivo analisar o estágio reprodutivo, histologia e morfometria do ovário de *Dermanura cinerea* em um fragmento preservado de Mata Atlântica de Pernambuco. Foram utilizadas fêmeas adultas capturadas por redes de neblina e as coletas ocorreram mensalmente ao longo de dezoito meses (Junho/2014 - Novembro/2015). As informações meteorológicas foram disponibilizadas pelo Instituto Nacional de Meteorologia e agrupadas em seis períodos de três meses cada juntamente com os dados reprodutivos. Os espécimes foram classificados em quatro grupos com base na condição reprodutiva: inativas, grávidas, lactantes e pós-lactantes. Foram selecionadas 10 fêmeas inativas para as análises histomorfométricas do ovário. Depois de eutanasiadas, seus órgãos foram removidos, fixados e processados. As lâminas histológicas foram coradas por Hematoxilina – Eosina e submetidas às devidas análises em microscópio óptico. Na morfometria foram consideradas as seguintes medidas e quantificações: área do ovário, área de ocupação dos folículos primários unilaminar e multilaminar, área de ocupação dos folículos antrais e área de ocupação do folículo maduro. Foram quantificados também os diferentes tipos de folículos ovarianos bem como o corpo lúteo. Os dados morfométricos da área do ovário foram avaliados estatisticamente por meio do teste *t* de Student. Tendo em vista os resultados obtidos nesse estudo, constata-se que as fêmeas de *D. cinerea* apresentam dois picos reprodutivos, ao longo do ano, em área de Mata Atlântica do estado de Pernambuco. Logo, essa espécie procura ajustar seu período reprodutivo com as variações das condições ambientais, de forma que a reprodução ocorra em épocas mais favoráveis para manutenção da prole.

Palavras-chave: Morcego, Poliestria bimodal, ovário, Mata Atlântica

ABSTRACT

This study aimed to analyze the reproductive stage, histology and morphometry ovarian Dermanura cinerea in a preserved fragment of Atlantic Forest of Pernambuco. Adult females were captured through nets and the were collected monthly during eighteen months (June / 2014 - November / 2015). The meteorological information was provided by the National Institute of Meteorology and grouped into six periods of three months each with the reproductive data. Specimens were classified into four groups based on reproductive status: inactive, pregnant, lactating and post-lactating. We selected 10 females inactive for histomorphometric analysis of the ovary. After euthanized, their organs were removed, fixed and processed. Histological laminas were stained with Hematoxylin - Eosin and subjected to appropriate analysis under an optical microscope. Morphometry were considered the

following measures and quantifications: ovarian area, occupying area of unilaminar and multilaminar primary follicles, occupying area of antral follicles and mature follicles footprint. They were also quantitated different types of ovarian follicles and the corpus luteum. Morphometric data ovarian area were evaluated statistically using the Student t test. Given the results of this study, it appears that females of D. cinerea have two reproductive peaks throughout the year in the Atlantic Forest area of the state of Pernambuco. Therefore, this species tries to adjust their reproductive period with changes in environmental conditions, so that reproduction occurs in more favorable times for the offspring maintenance.

Keywords: Bat, bimodal polyestry, ovary, Atlantic Forest.

INTRODUÇÃO

Na ordem Chiroptera, as estratégias e padrões reprodutivos são diversos e variam de acordo com vários fatores, tais como: temperatura, precipitação, o hábitat, família, gênero e inclusive uma mesma espécie pode apresentar padrão reprodutivo diferente em locais distintos (Racey e Entwistle 2000). Nos morcegos que habitam a região Neotropical tem sido descritos quatro tipos de padrões reprodutivos: monoestria sazonal, poliestria sazonal, poliestria assazonal e poliestria sazonal bimodal (Fleming *et al.*, 1972; Willig, 1985; Estrada e Coates-estrada, 2001).

Dessa forma, nas espécies de quirópteros que habitam em áreas da região Neotropical, e que se alimentam de frutos e insetos, Kunz (1982) enfatizou que os nascimentos podem acontecer no final do mês de setembro e começo de outubro que correspondem aos meses que antecedem o primeiro pico de chuva, bem como o parto pode ocorrer de maneira mais tardia, entre outubro e novembro. Ainda assim, Fleming *et al.* (1972) e Heithaus *et al.* (1975) reforçam que para as espécies frugívoras, já foi relatado o ciclo poliétrico bimodal com a ocorrência de parto durante a estação chuvosa, na qual a alimentação não é precária. Entretanto, atualmente, essas verificações são relativas e variam dependendo de diferentes fatores que devem ser analisados de forma individualizada.

Por conta disso, no Brasil, os aspectos reprodutivos dos morcegos, ainda apresentam diversas incongruências, sobretudo quando se considera a atividade reprodutiva das fêmeas, pois os estudos existentes definem o padrão reprodutivo destas com base apenas nas investigações das características morfológicas externas do seu corpo (abdômen dilatado,

mamas visíveis e com secreção, bem como ausência de pelos em torno dos mamilos) (Racey, 1988; Gannon e Willig, 1992; Esbérard, 2002).

Assim, definir a reprodução de uma espécie apenas com base nesses parâmetros, torna as informações, acerca da biologia reprodutiva, limitadas e, por vezes, pode induzir a conclusões imprecisas, pois uma fêmea que esteja inativa, de acordo com a morfologia externa, não necessariamente está em inatividade ovariana. Por isso é de suma importância associar esses achados as análises histológicas e morfométricas das gônadas. Em território brasileiro, constata-se que não existem trabalhos que abordem acerca da histologia e morfometria ovariana nas diferentes espécies de quirópteros, de forma que apenas algumas investigações com base nas características morfológicas externas foram realizadas (Duarte e Talamoni, 2010; Bordignon e França, 2012).

Dermanura cinerea (Gervais, 1856) é uma espécie frugívora e dispersora de sementes, pertencente à família Phyllostomidae e subfamília Stenodermatinae. Essa espécie anteriormente era conhecida como *Artibeus cinereus*, todavia por meio de estudos moleculares, houve mudanças na filogenia e atualmente *Dermanura* é considerado um gênero válido (Solari *et al.*, 2009; Reis *et al.*, 2011). No Brasil, há relatos de sua ocorrência na Região Norte, Nordeste, Sudeste e Sul. Essa espécie é amplamente distribuída em áreas de matas ciliares primárias e fragmentos de Mata Atlântica (Reis *et al.*, 2011; Scultori *et al.*, 2009).

As informações acerca do padrão reprodutivo de *D. cinerea* são escassas, de modo especial aquelas com dados histológicos e morfométricos dos ovários, são inexistentes. Tendo em vista esses aspectos, o presente trabalho objetivou analisar a condição reprodutiva e a histomorfometria ovariana de *D. cinerea* em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco, relacionando os dados reprodutivos com as precipitações pluviométricas mensais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas fêmeas adultas da espécie *D. cinerea*, coletadas na Reserva Biológica (REBIO) Saltinho (08° 44' 13" e 08° 43' 09" - Latitude Sul, 35° 10' 11" e 35° 11' 02" - Longitude Oeste). Essa reserva consiste em Unidade de Conservação de proteção integral composta pela Mata Atlântica (Rebio Saltinho, 2003).

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEUA da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Protocolo N°: 23076.037360/2014 – 92) e as coletas foram autorizadas pelo ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da

Biodiversidade, por meio do SISBIO – Sistema de Autorização e informação em Biodiversidade (Nº 26531-3).

Os animais foram capturados por redes de neblina 12 m de comprimento x 3 m de altura, sendo utilizadas dez redes em cada captura. As coletas ocorreram mensalmente ao longo dezoito meses (Junho/2014 a Novembro/2015), durante duas noites consecutivas. As redes eram estendidas às 17h00min e ficavam abertas até às 00h00min. O esforço total de captura foi de 90720 m².h. (Straube e Bianconi, 2002).

O Instituto Nacional de Meteorologia – INMET/ Seção de Observação e Meteorologia Aplicada – SEOMA, forneceu os dados da temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação (mm).

Com base na variação mensal da precipitação, as análises dos aspectos reprodutivos de *D. cinerea* foram organizadas em seis períodos de três meses cada: período I (Junho, julho e agosto/2014) – representando o final da estação chuvosa; período II (Setembro, outubro e novembro/2014) – indicando o início da estação seca, mas com uma particularidade das chuvas de setembro e outubro; período III (Dezembro/2014, janeiro e fevereiro/2015) – período característico da estação seca; período IV (Março, abril e maio/2015) – correspondendo ao início do período chuvoso do ano seguinte; período V (Junho, julho e agosto/2015) - representando o final da estação chuvosa do ano seguinte e período VI (Setembro, outubro e novembro/2015) – correspondendo ao início da estação seca.

O estágio reprodutivo das fêmeas foi determinado com base nas características da morfologia externa do seu corpo, de modo que foram classificadas em quatro grupos: inativas (quando não apresentavam mamas aparentemente visíveis, abdômen não dilatado e notoriamente a ausência de feto); grávidas (quando o abdômen estava elevado e saliente); lactantes (quando as mamas encontravam-se perceptivelmente com secreção, bem como quando os pelos em torno dos mamilos estavam ausentes); e pós lactantes (caso não estivessem produzindo secreção nos mamilos, bem como possuísem pouco pelos em volta das mamas) (Racey, 1988; Gannon e Willig, 1992; Esbérard, 2002).

Os animais selecionados para as análises histomorfométricas, foram eutanasiados de acordo com a metodologia de Morais *et al.* (2013b), sendo aplicada uma anestesia na região intraperitoneal do corpo, composta por pentobarbital sódico em uma concentração de 40 mg/kg⁻¹. Em seguida, foi injetada uma solução saturada de cloreto de potássio (Morais *et al.*, 2013b).

Foram selecionadas 10 fêmeas inativas para as análises histomorfométricas do ovário. Depois da eutanásia, os exemplares foram dissecados e tiveram os seus ovários removidos.

Para isso foi realizada uma pequena incisão com um bisturi na parede abdominal em direção à inguinal. Assim, houve divulsão do tecido subjacente até que estes órgãos fossem expostos e, conseqüentemente, coletados.

Os ovários foram fixados, durante 24 horas, em formalina a 10% neutra tamponada (NBF), conservados em álcool a 70% e glicerinado a 5%. Em seguida, foram processados seguindo a técnica histológica de rotina (Behmer *et al.*, 1976; Rieder e Schmidt, 1987), inclusos em blocos de Paraplast e cortados no micrótomo em espessura de 4 μm . A coloração utilizada foi Hematoxilina – Eosina e as lâminas histológicas foram submetidas as devidas análises em microscópio óptico.

Na análise morfométrica foram consideradas: a área do ovário (AO) que foi mensurada em milímetro (mm); a área de ocupação dos folículos primários unilaminar e multilaminar, área de ocupação dos folículos antrais e área de ocupação do folículo maduro ou de Graaf, que foram medidas em micrômetro (μm). Foram quantificados também os diferentes tipos de folículos ovarianos bem como o corpo lúteo. As lâminas histológicas foram fotografadas, através do programa *Motic Images Plus 2.0*. Para isso, foi acoplada uma câmara, entre o computador e ao microscópio óptico. As lâminas utilizadas para a AO e quantificação dos folículos foram fotografadas em aumento total de 40X, ao passo que as da área de ocupação desses folículos foram fotografadas em 100 X. Cada um desses parâmetros foram mensurados e contados por meio do programa *ImageJ*.

A análise estatística da AO foi realizada a partir dos resultados obtidos na morfometria, os quais foram submetidos ao teste *t* de *Student* do programa SPSS (*Statistical Package of the Social Sciences*, SPSS inc. Chicago, EUA) versão 15.0, de forma que os resultados de cada período foram comparados entre si. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de maio de 2014 a novembro de 2015, foi capturado um total de 25 fêmeas adultas de *Dermanura cinerea*. Esses espécimes foram classificados com base na morfologia externa das gônadas e organizados por mês. Houve maior número de exemplares capturados no mês de julho/2014 (n=11) (Fig.1).

Considerando o estágio reprodutivo em associação com os períodos, foram obtidos os seguintes resultados: período I (I=10 e L=04), período II (I=02), período III (L=01 e G=01), período IV (I = 02 e G=02), período V (I=01) e período VI (I=01 e G=01).

Uma maior ocorrência de fêmeas lactantes foi verificada no mês de julho/2014. E, em menor proporção, ocorreu à captura de fêmea lactante e grávida no mês de fevereiro/2015. Nos meses de abril/2015 e novembro/2015 também houve captura de fêmeas grávidas (Fig. 1).

Os índices pluviométricos foram bastante variáveis entre os meses dos períodos considerados, enquanto que a temperatura se apresentou com pequena variação (24,0 – 27,4 °C).

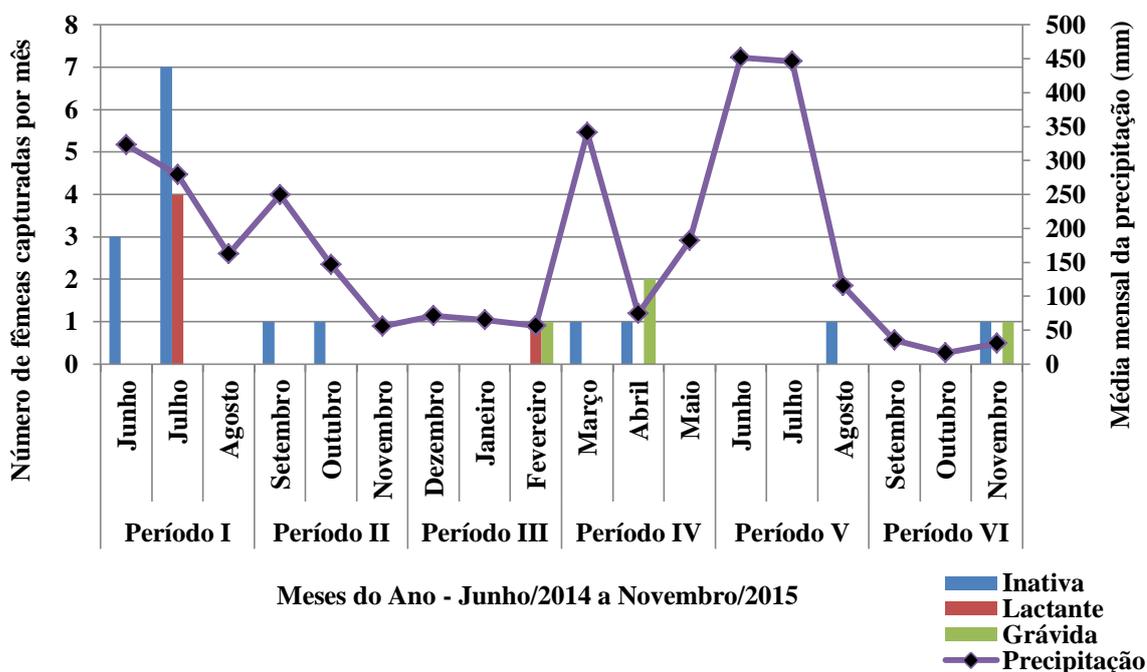


Figura 1: Relação entre a precipitação mensal, o número de espécimes e estágio reprodutivo de fêmeas de *Dermanura cinerea* coletadas no período de Junho/2014 a Novembro/2015 em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho.

Além das observações com base no estágio reprodutivo de *D. cinerea*, foi realizada também a análise histológica dos ovários. Porém, o período III das fêmeas não tem representação nas análises histomorfométricas do ovário, visto que nos meses de dezembro/2014 a fevereiro/2015 só houve capturas de fêmeas grávidas e lactantes, e para essas análises foram consideradas apenas as inativas.

Histologicamente, verificou-se que essa espécie apresenta ovários com simetria e mono-ovulados, cujo formato varia de circular a elipsoide. A superfície apresenta epitélio simples cúbico, e logo abaixo deste, a túnica albugínea de tecido conjuntivo denso. Subjacente a esta túnica foi observada a região cortical, contendo folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação. Internamente, evidencia-se a chamada medular, composta por tecido conjuntivo frouxo (Fig. 2).

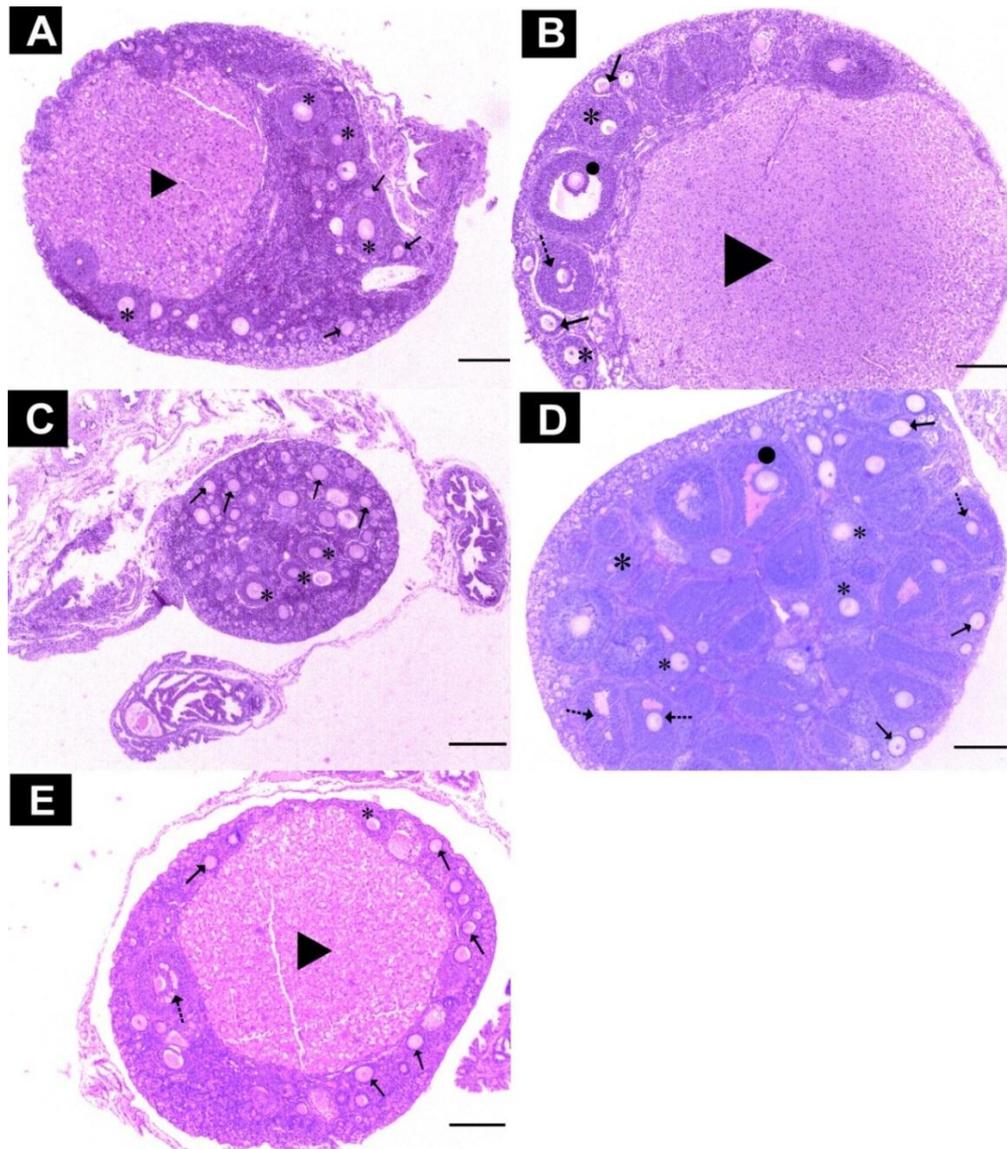


Figura 2: Fotomicrografia dos ovários de *Dermanura cinerea*. Observar os folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação (Seta: folículo primário unilaminar; asterisco preto: folículo primário multilaminar; seta pontilhada: folículo antral ou secundário; ponto preto: folículo maduro, de Graaf ou pré-ovulatório) e Corpo lúteo (Cabeça de seta) por período (Período I – A; Período II – B; Período IV – C; Período V – D; Período VI - E) Coloração: H. E. Aumento: 40 X. Barras de escala: 200 μ m

Foram identificados os seguintes tipos de folículos: primário unilaminar; primário multilaminar; antral e De Graaf, pré-ovulatório ou maduro, bem como corpo lúteo. Os folículos primários unilaminar e multilaminar estiveram presentes em todos os períodos considerados, já os antrais, maduros e corpo lúteo variaram de acordo com o período (Tab.2). A presença deste último indica a ocorrência de ovulação. Nos espécimes em que foi observada a presença do corpo lúteo, este ocupava sempre a maior parte do ovário (Fig. 2).

Tabela 1: Média e desvio padrão da área do ovário (AO) de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho

Parâmetro	Período I	Período II	Período IV	Período V	Período VI	Valor de p AO *
AO	0,66 ± 0,24	0,89 ± 0, 70	0,20 ± 0,11	2,30 ± 0,11	0,68 ± 0,03	0,173 ^a 0,001 ^b 0,001 ^c 0,745 ^d 0,001 ^e 0,001 ^f 0,188 ^g 0,001 ^h 0,001 ⁱ 0,001 ^j

* ^aPeríodos I e II; ^bPeríodos I e IV; ^cPeríodos I e V; ^dPeríodos I e VI; ^ePeríodos II e IV; ^fPeríodos II e V; ^gPeríodos II e VI; ^hPeríodos IV e V; ⁱPeríodos IV e VI; ^jPeríodos V e VI.

Valores de p diferem estatisticamente quando $p < 0,05$ para cada agrupamento analisado entre os seis períodos .

Na análise morfométrica, a média da área do ovário (AO) obtida em cada um dos períodos foi comparada entre si e os resultados estatísticos revelaram diferenças significativas na maioria das comparações realizadas (Tab.1). A maior média da AO ocorreu no período V (Junho a agosto/2015) e a menor média foi no período IV (março a maio/2015) (Fig. 3). Assim, a menor AO (0,2) coincide com o período de ocorrência de fêmeas grávidas (período IV) (Fig. 1).

Os folículos primários unilaminar e multilaminar, bem como os antrais e maduros ocuparam a maior área no ovário durante o período V (Tab.3) que compreendeu os meses nos quais houve igualmente a maior AO. Nesse período não foi identificada a presença de corpo lúteo, mas houve a presença de folículo de Graaf, (Tab. 2 e 3) e foi o período que apresentou os maiores índices pluviométricos dentre todos os períodos considerados, correspondendo, na área de estudo considerada, aos meses finais que compõe a estação chuvosa.

Tabela 2: Quantidade dos tipos de folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação e corpo lúteo de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho

Tipo de folículo	Período I			Período II			Período IV			Período V			Período VI		
	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov
Unilaminar	2	35		3	6		7	11				12			7
Multilaminar	6	11		1	4		3	2				9			4
Antral	2	0		1	1		2	0				8			1
De Graaf	0	0		0	1		1	0				1			0
Corpo Lúteo	1	4		1	1		0	0				0			1

Tabela 3: Média aritmética da área ocupada* por folículos ovarianos em diferentes estágios de maturação de *Dermanura cinerea* coletados entre junho/2014 a novembro/2015 em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco - Reserva Biológica de Saltinho

Folículos	Período I			Período II			Período IV			Período V			Período VI		
	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Mar	Abri	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov
Unilaminar	2.152.400	2.552.904		574.384	4.960.704		866.662	803.943				5.627.131			1.577.047
Multilaminar	7.883.558	7.668.148		**	19.887.449		10.448.000	3.108.088				20.357.935			8.774.373
Antral	26.308.560	**		15.322.832	27.226.080		19.075.947	**				57.956.640			22.460.080
De Graaf	**	**		**	60.041.120		26.639.240	**				105.613.440			**

* Área dos folículos mensurada em micrômetros (μm). ** Folículos ausentes

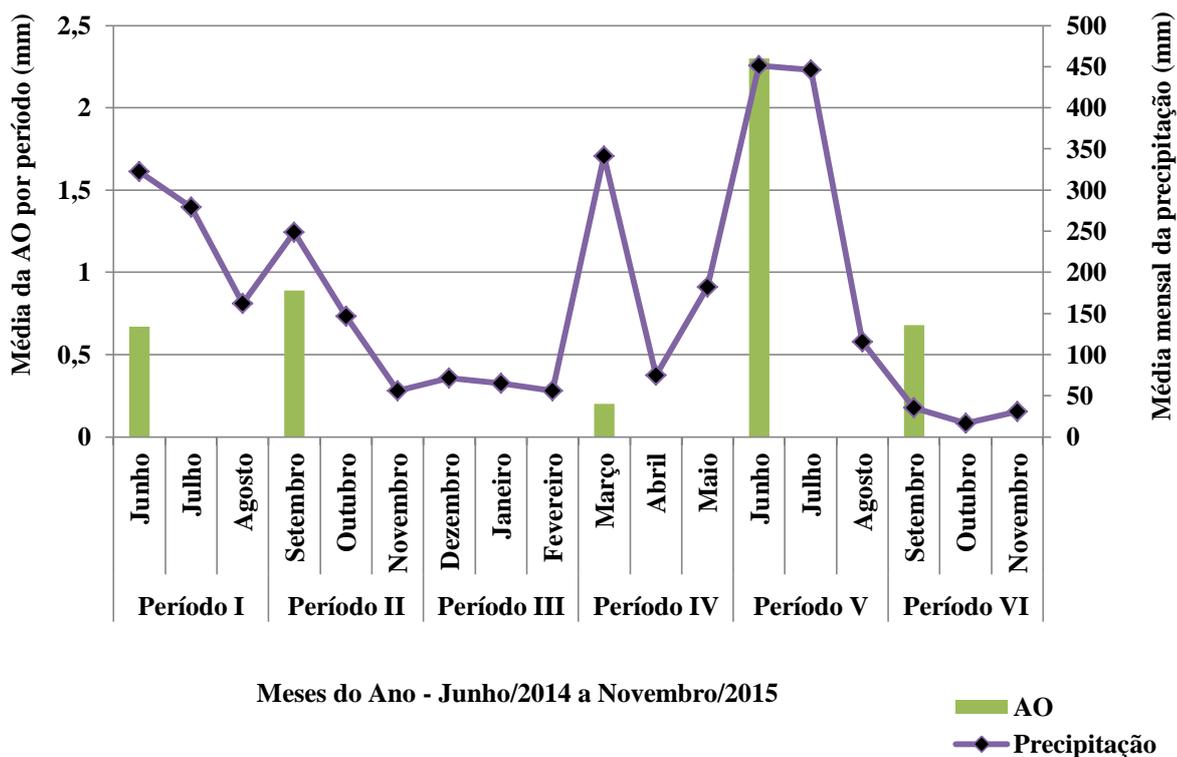


Figura 3: Relação entre as médias das precipitações mensais (mm) e as médias aritméticas da área do ovário (AO), por período, de *Dermanura cinerea* coletados entre Junho/ 2014 a Novembro/2015 em um fragmento de Mata Atlântica de Pernambuco – Reserva Biológica de Saltinho.

Durante o período reprodutivo, a lactação consiste no processo mais energeticamente dispendioso (Loudon e Racey, 1987). Assim, a ocorrência de fêmeas de *D. cinerea* lactantes em julho e fevereiro revela uma estratégia reprodutiva dessa espécie, já que a disponibilidade de alimentos é um fator importante na determinação da capacidade das fêmeas alocarem energia para a reprodução e onde há abundância de alimentos durante todo o ano, os animais podem ser capazes de iniciar a reprodução a qualquer momento (Thompson, 1992).

Arelada a essas informações, a quantidade de energia necessária durante o período de gravidez é mais baixa quando comparada com o quantitativo de energia gasto ao longo do período de lactação (Racey e Entwistle, 2000). Por isso, observou-se a maior ocorrência de fêmeas lactantes em período de maior índice pluviométrico e de grávidas em meses em que houve uma menor precipitação, já que para as espécies frugívoras, a precipitação está diretamente relacionada com a disponibilidade alimentar que fornecerá energia para os quirópteros exercerem suas atividades reprodutivas (Fleming *et al.*, 1972; Heithaus *et al.*, 1975).

Diante disso, o que se verifica é que as fêmeas de *D. cinerea* podem parir no final do período seco ou do início para a metade do período chuvoso devido a maior disponibilidade de recursos que possam garantir energia para a lactação e manutenção da prole. Ainda assim, os padrões reprodutivos anuais das fêmeas apresenta relação com os índices pluviométricos de maneira bastante estreita, de tal modo que as diferentes espécies adultas evitam desmamar os seus filhotes em períodos de maior estresse ao longo do ano (Willig, 1985).

A presença de corpo lúteo e ausência de folículo maduro, constatadas pelas análises histológicas, nos meses em que houve a ocorrência de fêmeas lactantes e grávidas reforçam a indicação de que houve ovulação nos períodos considerados para possibilitar a ocorrência de gravidez. Assim, o corpo lúteo formado após a ovulação, consiste em uma glândula endócrina temporária que tem relação com a produção do hormônio progesterona e possibilitará a preparação do útero para receber o embrião, bem como contribuirá na manutenção deste durante o período gestacional. Por outro lado, caso não ocorra à gravidez, essa glândula regride (Waelchli *et al.*, 1994; Bertan *et al.*, 2006).

Além disso, os folículos ovarianos alcançam os estágios finais de maturação e, conseqüentemente, ovulam dando origem aos corpos lúteos, induzidos pela liberação do hormônio luteinizante. Dessa forma, tanto o tamanho quanto a quantidade de folículos existentes nos ovários apresentam variações que estão relacionadas, sobretudo, ao padrão de desenvolvimento dos folículos de cada espécie (Nascimento *et al.*, 2003).

A elevação das médias na morfometria fornecem maiores inferências sobre a capacidade reprodutiva das fêmeas de *D. cinerea*, durante os meses de junho a agosto/2015. Isso indica uma possível preparação do córtex ovariano para a maturação dos folículos durante os meses de pluviosidade alta. Assim, os eventos do ciclo reprodutivo anual das fêmeas podem ser correlacionados com a dinâmica do ovário, através de variações no crescimento folicular (Komar *et al.*, 2007).

Os resultados significativos encontrados para *D. cinerea* na morfometria ovariana evidenciam mais uma vez que esse tipo de análise fornece dados seguros sobre a capacidade do animal, ou seja, se encontra em atividade reprodutiva ou não, desmistificando conclusões errôneas e limitadas obtidas apenas a partir da análise visual da morfologia externa do corpo, pois alguns estudos sobre reprodução em quirópteros consideram as fêmeas que não se encontram nem grávidas nem lactantes, como inativas (Bredt *et al.*, 1999; Gomes e Uieda, 2004; Ortêncio Filho *et al.*, 2007). E como foi constatado nesse estudo, houve variações entre os grupos, pois todas as fêmeas utilizadas na morfometria encontravam-se inativas de acordo

com a morfologia externa, porém foram verificadas diferenças elevadas na área do ovário e folículos, mesmo estando todas classificadas no mesmo estágio reprodutivo.

CONCLUSÕES

De acordo com essas informações, constata-se que as fêmeas de *D. cinerea*, na área de estudo considerada, apresentam mais de um pico reprodutivo. E pelas informações apresentadas, tem preferência em ajustar seu organismo para ovularem em períodos de maiores índices pluviométricos. Assim, podem parir no final do período seco ou do início para a metade do período chuvoso devido à maior disponibilidade de recursos que possam garantir energia para a lactação e manutenção da prole.

Portanto, tendo em vista os resultados do presente estudo, pode-se inferir que *D. cinerea* apresenta, em área de Mata Atlântica do estado de Pernambuco, uma reprodução com padrão poliétrico bimodal, o qual já foi relatado também relatado para essa mesma espécie nos estados de São Paulo e Sergipe - Brasil (Simmons e Voss, 1998; Scultori *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2010).

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor e a Reserva Biológica de Saltinho – Pernambuco por permitir a realização do presente estudo em suas propriedades.

REFERÊNCIAS

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica. 1ª ed. São Paulo: EDART – Ed. da Universidade de São Paulo, 1976.

BERTAN, C. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H.; TRALDI, A. S. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise - revisão de literatura. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, v. 43, n. 6, p. 824-840, 2006.

BORDIGNON, M. O.; FRANÇA, A. O. Reproduction of the greater bulldog bat *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae) in a mangrove area in southern Brazil. *Biota Neotrop.*, v. 12, n. 4, 2012.

BREDT, A.; UIEDA, W.; MAGALHÃES, E.D. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). *Rev. Bras. Zool.* v.16, n.3, p. 731-770, 1999.

DUARTE, A. P. G.; TALAMONI, S. A. Reproduction of the large fruit-eating bat *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Brazilian Atlantic forest area *Mamm. biol.*, v.75. p.320–325, 2010.

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

ESTRADA, A.; COATES-ESTRADA, R. Species composition and reproductive phenology of bats in a tropical landscape at Los Tuxtlas, México. *J. Trop. Ecol.*, v.17, p. 672-646, 2001.

FLEMING, T.H.; HOOPER, E.T.; WILSON, D.E. Three central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns. *Ecology*, v. 53, p. 555 – 569, 1972.

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

GOMES, M. N.; 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. *Rev. Bras. Zool.*, v.21, n.3, p. 629-638, 2004.

HEITHAUS E.R.; FLEMING T.H.; OPLER P.A. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* v.56, p. 841-854, 1975.

KOMAR, C. M.; ZACHARACHIS-JUTZ, F.; CRETEKOS, C. J. *et al.* Polarized Ovaries of the Long-Tongued Bat, *Glossophaga soricina*: A Novel Model for Studying Ovarian Development, Folliculogenesis, and Ovulation. *Anat. Rec.*, v.290, p.1439–1448, 2007.

LOUDON, A.S.I.; RACEY, P.A. Reproductive energetics in mammals. *Symposia of the Zoological Society of London*, n. 57, p 371, 1987.

KUNZ, T.H. Ecology of reproduction. In: KUNZ, T.H. (Ed). *Ecology of Bats* Plenum Press, New York.1982. p. 57- 93.

MORAIS, D. B.; PAULA, T. A. R.; BARROS, M. S.; BALARINI, M. K. *et al.* Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. *J. Anat.*, v.222, p. 372 - 379, 2013b.

NASCIMENTO, A. A.; PINHEIRO, N. L.; SALES, A.; VIANA, J. H. M. Correlação morfométrica do ovário de fêmeas bovinas em diferentes estádios reprodutivos. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*, v. 40, p.126-132, 2003.

ORTÊNCIO, FILHO. H.; REIS, N; R.; PINTO, D.; 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, p. 313-318, 2007.

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

RACEY, P.A.; ENTWISTLE., A.C. Life-history and reproductive strategies of bats. In: CRICHTON, E.G.; KRUTZCH, P.H. (Eds.) *Reproductive biology of bats*. Academic Press, San Diego, CA. 2000. P.363–414

REBIO SALTINHO. Reserva Biológica de Saltinho. Plano de Manejo. Brasília: IBAMA, 2003.

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

RIEDER, N.; SCHMIDT, K. Morphologische Arbeitsmethoden in der Biologie. Germany: Verlagsgesellschaft mbH, 1987.

ROCHA, P. A.; MIKALOUSKAS, J. S.; GOUVEIA, S. F.; SILVEIRA, V. V. B. *et al.* Morcegos (Mammalia, Chiroptera) capturados no Campus da Universidade Federal de Sergipe, com oito novos registros para o estado. *Biota Neotrop.*, v. 10, n. 3, 2010.

SCULTORI, C.; DIAS, D.; PERACCHI, A.L. Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae, *Artibeus cinereus*: First record in the state of Paraná, Southern Brazil. *Check List Journal of Species Lists and Distribution*, v.5, n.2, p.325–329, 2009.

SIMMONS, N. B.; VOSS, R. S. The mammals of Paracou, French Guiana: a neotropical lowland rainforest fauna. Part I. Bats. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v.273, p.1 - 219, 1998.

SOLARI, S.; HOOFER, S. R.; LARSEN, P. A.; BROWN, A. D. *et al.* Operational criteria for genetically defined species: analysis of the diversification of the small fruit-eating bats, *Dermanura* (Phyllostomidae: Stenodermatinae). *Acta Chiropt.*, v.11, n.2, p. 279–288, 2009.

STRAUBE, F. C.; BIANCONI, G. V. Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. *Chiropt. Neotrop.*, v.8, p.1-2, 2002.bb

THOMPSON, M. J. A. Roost philopatry in female pipistrelle bats *Pipistrellus pipistrellus*. *Journal of Zoology*, v.228, p.673–679, 1992.

WÄLCHLI, R. O.; KÄNZIG, M.; DÖBELI, M.; RÜSCH, P. Condition of the uterine cervix in relation to cycle stage, plasma progesterone and estradiol - 17 β concentrations in the mare. *Reprod. Dom. Anim.*, v. 29, n. 6, p. 404- 410, 1994.

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

DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

Foi verificada atividade reprodutiva nos machos de *D. cinerea* a partir das análises histomorfométricas dos testículos. Perante os resultados obtidos, constatou-se que os machos dessa espécie não apresentam um padrão reprodutivo totalmente definido, pois seu organismo é influenciado pelas alterações ambientais que ocorrem na Mata Atlântica do estado de Pernambuco. Apesar disso, em todos os períodos considerados, sempre foram verificadas espermatogônias, espermátocitos, espermátides, espermatozoides e células de Leydig nos compartimentos de sua gônada, independente se estavam na condição reprodutiva de testículo descendente ou não descendente.

Foram investigadas também variações histomorfométricas no epidídimo dessa espécie. Observou-se que esse órgão apresenta, morfologicamente, quatro regiões (Segmento inicial, cabeça, corpo e cauda) e dentre estas a região da cauda foi a que apresentou maiores variações morfométricas no que se refere ao diâmetro tubular, do epitélio e luminal. Isso foi relacionado ao fato dessa região ter como funcionalidade o armazenamento de espermatozoides ao longo do ciclo reprodutivo e ser bastante sensível aos efeitos e mudanças sazonais na área de estudo considerada. Assim, a altura do epitélio, diâmetro tubular e diâmetro do epitélio apresentaram um pico no período III, e outro no período V. Já nestes períodos, o diâmetro luminal se apresentou com médias baixas. De forma que estas observações foram relacionadas com uma menor quantidade de espermatozoides no ambiente luminal nesses períodos, enquanto que o aumento nas médias dos outros parâmetros condiz com uma possível preparação do epitélio e das células que o compõem. Constatou-se também sempre a presença de espermatozoides viáveis na cauda ao longo de todos os períodos analisados, inclusive no período que o testículo se apresentou em regressão.

Por fim, foi analisada a condição reprodutiva, morfometria e histologia dos ovários de *D. cinerea*, foi inferido que as fêmeas apresentam dois picos reprodutivos ao longo do ano. Essa característica é típica dessa espécie em outras áreas de ocorrência, bem como para outras espécies do mesmo gênero e subfamília de *D. cinerea*. Logo, essa espécie possivelmente tem preferência por parir no final do período seco ou do início para a metade do período chuvoso. Isso explica o fato dos machos desenvolverem uma estratégia para se reproduzirem em qualquer época do ano, bem como garante a estocagem de espermatozoides viáveis na cauda do epidídimo, posto que precisam lidar com os dois picos reprodutivos das fêmeas, além de necessitar manter o sistema de harém que é um comportamento típico de diferentes espécies de morcegos, em que um macho copula com várias fêmeas.

REFERÊNCIAS

ABHILASHA; KRISHNA A. High androgen production by ovarian thecal interstitial cells: a mechanism for delayed ovulation in a tropical vespertilionid bat, *Scotophilus heathi*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.106, p.207-211, 1996.

ADAMALI, H.I.; HERMO, L. Apical and narrow cells are distinct cell types differing in their structure, distribution, and functions in the adult rat epididymis. **J. Androl.**, v.17, p.208-222, 1996.

ANDRADE, J.R.; SANTOS, S. C. Estudo sobre o desmatamento da mata atlântica na Paraíba . **Revista Brasileira de Educação e Saúde**. , v. 4, n. 2, p. 24-33, 2014.

AGUIRRE, L.F.; LENS, L.; MATTHYSEN, E. Patterns of roost use by bats in a neotropical savanna: implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 111, n.3, p. 435-443, 2003.

ALTRINGHAM, J.D. Bats. **Biology and behavior**. Oxford Univ. Press, Oxford, 1996.

ANTONIO-RUBIO, N. R.; PORRAS-GÓMEZ, T. J.; MORENO-MENDOZA, N. Identification of cortical germ cells in adult ovaries from three phyllostomid bats: *Artibeus jamaicensis*, *Glossophaga soricina* and *Sturnira lilium*. **Reproduction, Fertility and Development**, v.25, p. 825–836, 2013.

ARANDAS, M. J. G. **Reprodução de *Artibeus lituratus* e *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) em fragmentos florestais na mata sul de Pernambuco**. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2013.

ARMSTRONG, D. T. et al. Gonadotropins stimulations regimens for follicular aspiration and in vitro embryo productions from calf oocytes. *Theriogenology*, Stoneham, v. 42, p. 1227-1236, 1994.

BAKER, R. J.; HAMILTON, M.; PARISH, D. A. Preparations of mammalian karyotypes under field condições. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University. n.228. Lubbock: 2003, p.1-8.

BARDIN, C.W. Androgens: early attempts to evaluate Leydig cell function in man. In: PAYNE, A. H.; HARDY, M. P., RUSSELL, L. D. (Eds.). **The Leydig cell**. Cache River Press, Vienna, 1996. p. 31-42.

BEGUELINI, M. R. **Estudo da espermatogênese e nucleologênese de morcegos**. 2008. 141 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2008.

BEGUELINI, M. R.; BUENO, L. M.; CAUN, D. L.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Ultrastructure of Spermatogenesis in the Short-Tailed Fruit Bat, *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae: Carollinae). **Journal of Morphology**, v. 275, n. 1, p. 111-123, 2013e.

BEGUELINI, M. R.; GOES, R. M.; RAHAL, P.; MORIELLE-VERSUTE, E., TABOGA, S. R. 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.; GOES, R. M.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Two periods of total testicular regression are peculiar events of the annual reproductive cycle of the black *Myotis* bat, *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae). **Reproduction, Fertility and Development**, v.26, p.834–846, 2013c.

BEGUELINI, M. R.; MOREIRA, P. R. L.; FARIA, K. C.; MARCHESIN, S. R.C.; MORIELLE-VERSUTE, E. Morphological Characterization of the Testicular Cells and Seminiferous Epithelium Cycle in Six Species of Neotropical Bats. **Journal of Morphology**, v. 270, p.943–953, 2009.

BEGUELINI, M. R.; PUGA, C. C. I.; MARTINS, F. F.; BETOLI, A. H. S.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Morphological Variation of Primary Reproductive Structures in Males of Five Families of Neotropical Bats. **The Anatomical Record**, v. 296, p.156–167, 2013a.

BEGUELINI, M. R.; PUGA, C. C. I.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Ultrastructure of spermatogenesis in the white-lined broad-nosed bat, *Platyrrhinus lineatus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Micron**, v.42, p.586–599, 2011.

BEGUELINI, M. R.; PUGA, C. C. I.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Annual reproductive cycle of males of the flat-faced fruit-eating bat, *Artibeus planirostris* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Gen Comp Endocrinol**, v.185, p.80–89, 2013b.

BEGUELINI, M. R.; SERGIO, B. F. S.; LEME, F. L. J.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Morphological and morphometric characteristics of the epididymis in the Neotropical bats *Eumops glaucinus* and *Molossus molossus* (Chiroptera: Molossidae). **Chiroptera Neotropical**, v.16, n.2, p. 769 – 779, 2010.

BEGUELINI, M. R.; TABOGA, S. R.; MORIELLE-VERSUTE, E. Ultrastructural characteristics of the spermatogenesis during the four phases of the annual reproductive cycle of the black *Myotis* bat, *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae). **Microsc Res Tech**, v.76, p.1035–1049, 2013d.

BEU, C. C.; ORSI, A.M. DOMENICONI, R. F. 2009. Structure of the lining epithelium of the cauda epididymis of the golden hamster. **Anatomia, Histologia and Embryologia**, v. 38, n.1, p.49-57, 2009.

BORDIGNON, M. O.; FRANÇA, A. O. Reproduction of the greater bulldog bat *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae) in a mangrove area in southern Brazil. **Biota Neotrop.**, v. 12, n. 4, 2012.

BREDT. A.; UIEDA. W.; MAGALHÃES, E.D. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, n.3, p. 731-770, 1999.

BRITO, J. L. M. **Caracterização histomorfométrica de testículos de quatro espécies de morcego frequentes na região de Cerrado do Distrito Federal nas estações seca e chuvosa**. 2014. 50f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, 2014.

BRITO, D. V.; BOCCHIGLIERI, A. Comunidade de morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Refúgio de Vida Silvestre Mata do Junco, Sergipe, nordeste do Brasil. **Biota Neotropical**, v. 12, n.3, p. 000-000, 2012.

BRITO, J.E.C.; GAZARINI, J.; ZAWADZKI, C.H. Abundância e frugivoria da quiropteroфаuna (Mammalia, chiroptera) de um fragmento no noroeste do Estado do Paraná, Brasil. **Acta Sci., Biol. Sci.**, v.32, p.265-271, 2010.

CAMPANILI, M.; SCHAFFER, W. B. Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros. MMA, Brasília, 2010.

CARTER, D. C. Chiropteran reproduction. In: SLAUGHTER, B. H.; WALTON, D. W. **About bats: a chiropteran symposium**. Dallas: Southern Methodist University Press, 1970, p.223-246.

CHARLES-DOMINIQUE, P. Feeding strategy and activity budget of the frugivorous bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in French Guiana. **J. Trop. Ecol.**, v 7, n. 243-256, 1991.

CHIARELLO, A.G., AGUIAR, L.M.S., CERQUEIRA, R., MELO, F.R., RODRIGUES, F.H.G.; SILVA, V.M.F. Mamíferos ameaçados de extinção no Brasil. In Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção (A.B.M. Machado, G.M. Drummond & A.P. Paglia, eds.). MMA, Brasília, Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, v. 2, p.680-882, 2008.

COSTA, L.P., LEITE, Y.L.R., MENDES, S.L.; DITCHFIELD, A.D. 2005. Conservação de mamíferos no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n.1, p.103-112, 2005.

CRICHTON, E. G.; KRUTZSCH, P. H. **Reproductive Biology of Bats**. Academic Press, 2000. 510 p.

DE ROOIJ, D. G. Stem cells in the testis. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 70, p.67-80, 1998.

DYM, M.; ROMRELL, L. J. Intraepithelial lymphocytes in the male reproductive tract of rats and rhesus monkeys. **J. Reprod. Fertil.**, v.42, p.1-7, 1975.

DUARTE, A. P. G.; TALAMONI, S. A. Reproduction of the large fruit-eating bat *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Brazilian Atlantic forest area **Mamm. Biol.**, v.75. p.320–325, 2010.

EMMONS, L. 1990. Neotropical rainforest mammals – A field guide. The University of Chicago Press, Chicago and London.

ENCARNAÇÃO, J.A.; DIETZ, M.; KIERDORF, U. Reproductive condition and activity pattern of male Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*) in the summer habitat. **Mammalian Biology**, v.69, p.163 -17, 2003.

ESTRADA, A.; COATES-ESTRADA, R. Species composition and reproductive phenology of bats in a tropical landscape at Los Tuxtlas, México. **J. Trop. Ecol.**, v.17, p. 672-646, 2001.

FARIA, D. Phyllostomid bats of a fragmented landscape in the North- Eastern Atlantic Forest, Brazil. **J. Trop. Ecol.** v.22, n.5, p.531-542, 2006.

FARIAS, T. O.; NOTINI, A. A., TALAMONI, S. A.; GODINHO, H. P. Testis Morphometry and Stages of the Seminiferous Epithelium Cycle in an Epididymal Sperm-storing Neotropical Vespertilionid, *Myotis levis* (Chiroptera). **Journal of Veterinary Medicine**, 2014.

FAZZOLARI - CORRÊA, S. **Aspectos sistemáticos, ecológicos e reprodutivos de morcegos na Mata Atlântica**. 1995. 158 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo, 1995.

FENTON, M. B.; ACHARYA, L.; AUDET, D.; HICKEY, M. B. C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M. K.; SYME, D. M. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the neotropics. **Biotropica**, v.24, n.3, p.440 - 446, 1992.

FERNANDES, C.R. 2003. Floresta Atlântica, reserva da biosfera. Tempo Integral Editora Ltda., Curitiba, PR, 112p.

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

FLEMING, T.H.; HOOPER, E.T.; WILSON, D.E. Three central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns. **Ecology**, v. 53, p. 555 – 569, 1972.

FRANÇA, L. R., RUSSELL, L. D., 1998. The testis of domestic mammals. In: REGADERA, J., MARTINEZ-GARCIA, F. (Eds.). **Male reproduction: a multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, 1998. p.197-219.

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

GARTNER, L.P; HIATT. J.L. **Atlas colorido de Histologia**. 3 ed: Guanabara Koogan. 2002. 413 p.

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

GILBERT, F.S. **Developmental Biology**. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2006. 751 p.

GORE-LANGTON, R.E; ARMSTRONG, D.T. Follicular steroidogenesis and its control. In: KNOBIL, E. NEIL, J.D. (eds.), **The Physiology of Reproduction**. New York, USA Raven Press, 1994. p.571-628.

GOUDET, G; BELIN, F; BEZAR, J; GERARD, N. Maturation-promoting factor (MFP) and mitogen activated protein kinase (MAPK) expression in relation to oocyte competence for *in vitro* maturation in the mare. **Molecular Human Reproduction**, v.4, p. 563-570. 1998.

GORDON, I. Oocyte recovery and maturation. In: **Laboratory Production of Cattle Embryos**. Cab International. Wallingford. Oxon. UK., p.30-142, 1994.

GOMES, M. N.; 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 de Zoologia**, v.21, n.3, p. 629-638, 2004.

GUERRA, D. Q. **Chiroptera de Pernambuco: Distribuição e aspectos biológicos**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Programa de pós-graduação em Biologia Animal. Centro de Ciências Biológicas – CCB, Recife – Pernambuco, 2007.

GUSTAFSON, A. W. Male reproductive patterns in hibernating bats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.56, p. 317–331, 1979.

HARPER, J. L. **Population biology of plants**. In. Academic Press, London, England, 1977.

HAFEZ, E.S.E. Anatomia da reprodução feminina. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo: Manole. 2004. 582 p.

HALL, L.; RICHARDS, G. Flying foxes: fruit and flying bats of Australia. Australia: **University of New South Wales Press**, 2000.

HEITHAUS, E.R.; FLEMING, T.H.; OPLER, P.A. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. **Ecology** 56: 841-854, 1975.

HERMO, L.; DWORKIN, J.; OKO, R. Role of epithelial clear cells of the rat epididymis in the disposal of the contents of cytoplasmic droplets detached from spermatozoa. **American Journal of Anatomy**, v.183, p.107-124, 1988.

HERMO, L.; ROBAIRE, P.S. Developmental expression. Of the Yf subunit of glutathione S-transferase P in epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the rat. **Anat. Rec.** 239: 421-440, 1994.

HESS, R.A; FRANÇA, L.R. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: CHENG, C. Y., editor. **Molecular Mechanisms in Spermatogenesis**. Landes Bioscience/Springer Science;2008, p. 186–211.

HIB, J., PONZIO, R.; VILAR, O. Contractility of the rat cauda epididymidis and vas deferens during seminal emission. **J. Reprod. Fertil.**, v.66, p. 47–50, 1982.

HIRSHFIELD, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. **International Review of cytology**. 1991.

HOSKEN D. J.; BLACKBERRY, M. A.; STEWART, T. B.; STUCK A. F. The male reproductive cycle of three species of Australian Vespertilionid bat. **J. Zool. Londor**, v.245, p. 261-270, 1998.

HULSHOF, S. C. J; FIGUEIREDO, J. R.; BEKERS, J. F.; BEVERS, M. M.; VAN DEN HURK, R. Isolation and Characterization of preantral follicles from foetal bovine ovaries. **Vet. Quart.**, v.2, n.16, p.78-80, 1994.

JOHNSON, L; VARNER, D.D; ROBERTS, M.E; SMITH, T,L; KEILLOR, G.E; SCRUTCHFIELD, W.L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.471–480, 2000.

JOLLY, S.E; BLACKSHAW, A.W. Testicular migration, spermatogenesis, temperature regulation and environment of the sheath-tail bat, *Taphozous georgianus*. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, p.447-455, 1988.

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, 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.

JORDANO, P.; GALETTI, M.; PIZO, M. A.; SILVA, W. R. Ligando Frugivoria e Dispersão de Sementes à Biologia da Conservação. Pages 41 1-436, In: Duarte, C.F.; Bergallo, H.G.; Dos Santos, M.A. and V a, A.E. (eds.). **Biologia da conservação: essências**. Editorial Rima, São Paulo, Brasil, 2006. p. 41 1-436.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12 .ed. Guanabara Koogan, 2013.

KALKO, E. K. V.; AGUIRRE, L. F. Comportamiento de Ecolocación para la Identificación de Especies y Evaluación de la Estructura de Comunidades de Murciélagos Insectívoros en Bolivia. In L. AGUIRRE (Ed.), **Historia Natural, Distribución y Conservación de los murciélagos de la Bolivia**, Santa Cruz: Ecología Simón I. Patiño, 2006. p. 41-52.

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

KRUTZSCH, P. H. Observations on the Mexican free-tailed bat, *Tadarida mexicana*. **Journal of Mammalogy**, v.36, p.236-242, 1955.

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

KRUTZSCH, P.H; CRICHTON, E.G. Reproductive biology of the male little mastiff bat *Mormopterus planiceps* (Chiroptera: Mollosidae) in Puerto Rico. **Journal of Zoology**, v.207, p.137-150, 1987.

KUNZ, T. H. Resource utilization:temporal and spatial components of bat activity in central Iowa. **Journal of Mammalogy**, v.54, p. 14-32, 1973.

KUNZ, T.H.; PIERSON, E.D. 1994. Bats of the World: an introduction. In: R.W. NOWAK (Eds). **Walker's bats of the World**. Baltimore, The Johns Hopkins University Press.1994, p. 1-46

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.**, v. 51, n. 3, p. 263-270, 2014.

LOH, H.S.F., GERMMELL, R.T. Changes in the fine structure of the testicular Leydic cells of the Seasonally-breeding bat, *Myotis adversus*. **Cell Tissue Research**, v. 210, p.339-347, 1980.

MARKSTRÖM, E.; SVENSSON, E. C.; SHAO, R.; SVANBERG, B.; BILLIG, H. Survival factors regulating ovarian apoptosis: dependence on follicle differentiation. **Reproduction**, v.123, p.23-30, 2002.

MARTINS, F. F.; PUGA,C. C.I.; BEGUELINI, M. R.; MORIELLE-VERSUTE, E.; VILAMAIOR, P. S. L.; TABOGA, S. R. Comparative Analysis of the Male Reproductive Accessory Glands of Bat Species From the Five Brazilian Subfamilies of the Family Phyllostomidae (Chiroptera). **Journal of Morphology**, v.00, p.1–12, 2014.

MARTINS, F. S.; VIANA, J. R.; RODRIGUES, A. P. R. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, n.1, p.36-49, 2008.

MELLO, M.A.R; FERNANDEZ, F.A.S. Reproduction ecology of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera, Phyllostomidae) in a fragment of the Brazilian Atlantic coastal forest. **Mammalian Biology**, v. 65, p. 340-349, 2000.

MITTERMEIER, R. A.; GIL, P. R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, J.; MIITERMEIER, C. G.; LAMOURUX, J.; FONSECA, G. A. B. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Cemex. Washington, DC, 2004.

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.; BARROS, M. S.; FREITAS, M.B.D.; PAULA, T.A.R.; MATTA, S. L. P. Histomorphometric characterization of the intertubular compartment in the testes of the bat *Sturnira lilium*. **Animal Reproduction Science**, 2014a.

MORAIS, D. B.; CUPERTINO, M. C.; GOULART, L. S.; FREITAS, K. M.; FREITAS, M. B. D.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P. Histomorphometric evaluation of the *Molossus molossus* (Chiroptera, Molossidae) testis: The tubular compartment and indices of sperm production. **Animal Reproduction Science**, p. 01-11, 2013c.

MORAIS, D. B.; OLIVEIRA, L. C.; CUPERTINO, M. C.; FREITAS, K. M.; FREITAS, M. B. D.; PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P. Organization and Seasonal Quantification of the Intertubular Compartment in the Bat *Molossus molossus* (Pallas, 1776) Testis. **Microscopy research and technique**, v. 76, p.94–101, 2013a.

MORAIS, D. B.; BARROS, M. S.; PAULA, T. A. R.; FREITAS, M. B. D.; GOMES, M. L. M.; MATTA, S. L. P. Evaluation of the Cell Population of the Seminiferous Epithelium and Spermatic Indexes of the Bat *Sturnira lilium* (Chiroptera: Phyllostomidae). **PLOS ONE**, v. 9, n.7, p. 1-9. 2014b.

MORAIS, D. B.; PAULA, T. A. R.; FREITAS, K. M.; MATTA, S. L. P. Cycle of the seminiferous epithelium of the bat *Molossus molossus*, characterized by tubular morphology and acrosomal development. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v.1, n.4, p.303-307, 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*. **J. Anat.**, v.222, p. 372 - 379, 2013b.

MOORE, H.D.M.; BEDFORD, J. M. The differential absorptive capacity of epithelial cells of the rat epididymis before and after castration. **Anat. Rec.**, v.193, p.313-328, 1979.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia clinica**. 7 ed. Rio de Janeiro. 2004. 609 p.

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

NOGUEIRA, M.R.; TAVARES, V.C.; PERACCHI, A.L. New records of *Uroderma magnirostrum* Davis (Mammalia, Chiroptera) from southeastern Brazil, with comments on its natural history. **Revista Brasileira de Zoologia** v.20, p. 691-697, 2003.

NOTINI, A. A.; FARIAS, T. O.; TALAMONI, S. A.; GODINHO, H. P. Annual male reproductive activity and stages of the seminiferous epithelium cycle of the large fruit-eating *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Zoologia**, v.32, n.3, p.195–200, 2015.

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

OLIVEIRA, N. Y. K. **Estrutura de comunidade, reprodução e dinâmica populacional de morcegos (Mammalia, Chiroptera) na Reserva Natural do Salto Morato, Guaraqueçaba, Paraná**. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

OXBERRY, B. A. Female reproductive patterns in hibernating bats. **J. Reprod. Fert.**, 56: 359-367, 1979.

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.

PARDINI, R. 2004. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. **Biodivers. Conserv.** v.13, p.2567-2586, 2004.

PARDINI, R., FARIA, D., ACCACIO, G.M., LAPS, R.R., MARIANO-NETO, E., PACIENCIA, M.L.B., DIXO, M.; BAUMGARTEN, J. The challenge of maintaining Atlantic Forest biodiversity: a multi-taxa conservation assessment of specialist and generalist species in an agroforestry mosaic in Southern Bahia. **Biol. Conserv.** v.142, n.6, p.1178-1190, 2009.

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.; LIMA, I.P.; REIS, N.R.; NOGUEIRA, M.R.; ORTÊNCIO-FILHO, H. Ordem Chiroptera. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. (Eds). **Mamíferos do Brasil**. Londrina, 2006. p. 153-230.

PÉREZ-RIVERO, J. J; RENDON-FRANCO, E.; PÉREZ-MARTÍNEZ, M.; ÁVALOS-RODRÍGUEZ, A.; ÁVILA-FLORES, R. Morphometric Differences in Testicular Tissue of *Tadarida brasiliensis* Bats from the Urban Area of Mexico City During Summer, Autumn, and Winter. **Int. J. Morphol.**,v.31, n.3, p. 932-936, 2013.

PICTON, H.; BRIGGS, D; GOSDEN, R. The molecular basis of oocyte growth and development. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.145, p.27-37, 1998.

PICTON, H.M. Activation of follicle development: the primordial follicle. **Theriogenology**,v. 55, p.1193-210, 2001.

RACEY, P.A. Ecology of bat reproduction. In: KUNZ, T.H [Ed.]. **Ecology of Bats**. New York: Plenum, 1982. 425p.

REBIO SALTINHO. **Reserva Biológica de Saltinho**. Plano de Manejo. Brasília: IBAMA, 2003.

REIS, N. R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P (Eds). **Morcegos do Brasil**. Londrina, 2007. 253 p.

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

REYNAUD, K.; DRIANCOURT, M. A.Oocyte attrition. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v.163, p. 101-108, 2000.

RÜSSE, I. Oogenesis in cattle and sheep. **Biblioteca Anatômica**. v.24, p.77-92., 1983.

REIS, N.R. dos; PERACCHI, A.L. Quirópteros da região de Manaus, Amazonas, Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Zoologia**, v.3, n.2, p. 161-182, 1987.

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, p.44-58, 2008.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biol. Conserv.** v.142, p.1141-1153, 2009.

RICHARZ, K.; LIMBRUNNER, A. **The world of bats: The flying goblins of the night**. New Jersey: T.F.H. Publ. 1993. 192p.

ROBAIRE, B.;HERMO, L. The Physiology of Reproduction, chapt 23. New York: Raven Press, 1988.

ROCHA, P. A.; MIKALOUSKAS, J. S.; GOUVEIA, S. F.; SILVEIRA, V. V. B.; PERACCHI A. L. Morcegos (Mammalia, Chiroptera) capturados no Campus da Universidade Federal de Sergipe, com oito novos registros para o estado. **Biota Neotropical**, v. 10, n. 3, 2010.

ROCHEL, S. S.; BRUNI - CARDOSO A.; TABOGA, S.R.; VILAMAIOR, P. S. L.; GÓES, R. M. Lobe identity in the Mongolian gerbil prostatic complex: a new rodent model for prostate study. **Anat Rec.**, v. 290, p. 1233 – 1247, 2007.

RUSSELL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, A.P., CLEGG, E.D. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, L.D., Ettlín, R. A., Sinha Hikim, A. P., Clegg, E. D. (Eds). **Histological and histopathological evaluation of the testis** Cache River Press, Clearwater, Florida, p. 1-40, 1990.

SASTRY; M. S.; PILLAI, S. B. Variations in the epithelial cords of the ovaries of a microchiropteran bat, *Hipposideros speoris* (Schneider) during reproductive cycle: An enzymic approach. **Journal of Cell and Animal Biology**, v. 7, n.11, p.132-137, 2013.

SADEU, J. C.; CORTVRINDT, R.; RON-EL, R. KASTERTEIN, E.; SMITZ, J. Morphological and ultrastructural evaluation of cultured froze-thawed human fetal ovarian tissue. **Fert. Ster.**, v.85, n.1, p.1130-1141, 2006.

SAUMANDE, J. Ovogênese et folliculogênese. **Research Medicine Veterinary**. v.157, n.1, p.29-38, 1981.

SCANLON, V.C; SANDERS, T. **Essentials of anatomy and physiology**. 5ª edição, 2007.

SCHULZE, M. D.; SEAVY, N. E.; WHITACRE, D. F. A comparison of the phyllostomid bat assemblages in undisturbed Neotropical forest and in forest fragments of a slash-and-burn farming mosaic in Peten, Guatemala. **Biotropica**, v. 32, n.1, p. 174-184. 2000.

SCULTORI, C.; DIAS, D.; PERACCHI, A.L. Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae, *Artibeus cinereus*: First record in the state of Paraná, Southern Brazil. **Check List Journal of Species Lists and Distribution**, v.5, n.2, p.325–329, 2009.

SEELEY, R.R; VANPUTTE, C; REGAN, J; RUSSO, A. **Seeley's anatomy and physiology**. Edição 10, 2014.

SERRE, V.; B. ROBAIRE. Segment-specific morphological changes in aging Brown Norway rat epididymis. **Biol. Reprod.**, v.58, p. 497–513, 1998.

SMITH, M. F.; MELNTUSH, E. W.; SMITH, G. W. Mechanisms Associated With Corpus Luteum Development. **Journal Animal Science**. v.72, p.1857-1872. 1994.

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, 2005. p.312 – 529.

SIMMONS, N. B.; VOSS, R. S. The mammals of Paracou, French Guiana: a neotropical lowland rainforest fauna. Part I. Bats. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v.273, p.1 - 219, 1998.

SOLARI, S.; HOOFER, 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.

TADDEI, V. A. Biologia reprodutiva de Chiroptera: Perspectivas e problemas. **Inter-Facies Escritos e Documentos**, v.6, p.1-18, 1980.

TEELING, E.C. Chiroptera. In: HEDGES, S.B.; KUMAR, S. (Editors). The Time Tree of life, **Oxford University Press**, 2009. p.499 – 503.

TEELING, E. C.; MADSEN, O.; VAN DEN BUSSCHE, R. A.; JONG, W. W.; STANHOPE, M. J.; SPRINGER, M. S. 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.; 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, p. 188-192, 2000.

TEELING, E. C.; SPRINGER, M. S.; MADSEN, O.; BATES, P.; O'BRIEN, S. J.; MURPHY, W. J. 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. **Journal of Mammology**, v. 85, n. 2, p. 321-330, 2004.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717-1751, 2005.

VAN FURTH R. Origin and turnover of promonocytes, monocytes and macrophages in normal mice. In: Van Furth R (ed.), *Mononuclear Phagocytes*. Oxford: Blackwell. p.151-165, 1970.

VIEIRA, M.V., FARIA, D.M., FERNANDEZ, F.A.S., FERRARI, S.F., FREITAS, S.R., GASPAR, D.A., MOURA, R.T., OLIFIERS, N., OLIVEIRA, P.P., PARDINI, R., PIRES, A.S., RAVETTA, A., MELLO, M.A.R., RUIZ, C.R. & SETZ, E.Z.F. 2003. Mamíferos. In *Fragmentação de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas* (D.M. Rambaldi & D.A. Suárez, orgs.). MMA, SBF, Brasília, p.125-151.

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.

YE, L.; SU, Z.J.; GE, R.S. Inhibitors of testosterone biosynthetic and metabolic activation enzymes. **Molecules**, v.16, n.12, p. 9983-10001, 2011.

WASSARMAN, P.M. The mammalian ovun. In: **The Physiology of Reproduction**. Raven press, USA, 1988.

WETTERER, A. L.; ROCKMAN, M. V.; SIMMONS, N. B. Phylogeny of Phyllostomid bats Mammalia: Chiroptera: data from diverse morphological systems, sex chromosomes, and restriction sites. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. n.248., p.1-200, 2000.

WILSON, D. E. Reproduction in neotropical bats. **Period. Biol.**, 75: 214-217, 1973.

WILSON, D. E. Reproductive patterns, p.317-318. In: BAKER, R.J.; JONES, J. K; CARTER D. C. (Ed.). **Biology of Bats of the New World – Family Phyllostomidae**. Special Publications Museum, Texas Tech University, 1979. 441 p.

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

ZORTÉA, M. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, n.1, p.159-168, 2003.

ANEXOS

ANEXO A

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8040 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 21 de janeiro de 2015.

Ofício nº 02/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Katharine Raquel Pereira dos Santos**
Centro Acadêmico de Vitória - CAV
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.037360/2014-92

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, "**Biologia reprodutiva de morcegos da Família Phyllostomidae, Molossidae e Vespertilionidae utilizando parâmetros morfométricos, imunohistoquímicos, hormonais, ultraestruturais e moleculares.**"

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: Áreas de Mata Atlântica na Reserva Biológica de Saltinho, localizada nos municípios de Rio Formoso e Tamandaré - PE; Animais: morcegos; Idade: adultos; Sexo: machos e fêmeas; Nº total de animais: 20.

Atenciosamente,


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

CCB: Integrar para desenvolver

ANEXO B

NORMAS DAS REVISTAS

ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivo e política editorial

A revista **ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS** encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

OBJETIVO E POLÍTICA EDITORIAL

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A

não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

TIPOS DE TRABALHOS

Revisões. Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos. Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar seu formato usual. Em certos casos pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves comunicações

Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitos nas provas. Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

PREPARO DOS ARTIGOS

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos. Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações. Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas. As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto. A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se

enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem deve ser endereçada toda correspondência e prova do artigo.

Agradecimentos. Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas. As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith et al. unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências. As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al. 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro seguido de et al. As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P AND LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the áreas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELANDSHEER E, GIUFFRIDA R AND CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

KNOWLES RG AND MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID AND SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

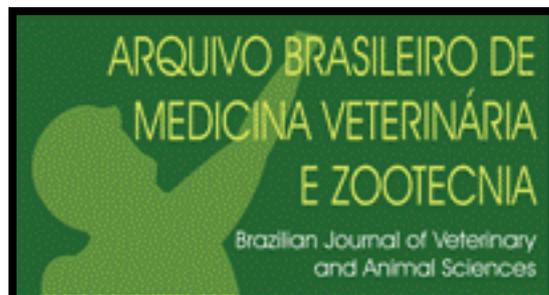
Livros e Capítulos de Livros

DAVIES M. 1947. *An outline of the development of Science*, Athinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5, Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W AND BURKE EAJ. 1971. *Tables for microscopic identification of minerals*, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Política Editorial

O periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science), ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços www.scielo.br/abmvz ou www.abmvz.org.br.

Orientação para tramitação de artigos

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do ABMVZ no endereço www.abmvz.org.br.
- Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.
- Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.
- A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.
- Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.
- O ABMVZ comunicará via eletrônica a cada autor, a sua participação no artigo. Caso, pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia do Certificado de aprovação do projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. Esclarecemos que o

referido documento deve constar como sendo a primeira página do texto em Word (não incluir no texto em pdf), além da menção, em Material e Métodos, do número do Certificado de aprovação do projeto.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 30.

Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 10, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico.

O texto, com título em português e em inglês, Autores e Filiação deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo científico", embora seguindo aquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

O número de páginas não deve exceder a 8, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

Formatação do texto

- O texto não deve conter subitens em qualquer das seções do artigo e deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3 cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.
- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

Título: Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.

Autores e Filiação: Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

Nota:

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação;
2. o texto do artigo em pdf **não** deve conter o nome dos autores e filiação.

Resumo e Abstract: Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords: No máximo cinco.

Introdução: Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.

Material e Métodos: Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do protocolo de aprovação do CEUA (verificar o Item Comitê de Ética).

Resultados: Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

Tabela: Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e

ponto (ex.: Tabela 1.). No texto a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é 8). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

Figura: Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é referida no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se referir a mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviadas no formato jpg com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão na tela de registro do artigo. As figuras devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

Nota:

Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

Discussão: Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes e sem subitens).

Conclusões: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, sem revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Agradecimentos: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando

indispensáveis. São adotadas as normas gerais ABNT, adaptadas para o ABMVZ conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- ù dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

Citação de citação: Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal: Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Nota:

Artigos que não estejam rigorosamente dentro das normas acima não serão aceitos para avaliação.

O Sistema reconhece, automaticamente, como "Desistência do Autor" artigos em diligência e/ou "Aguardando liberação do autor", que não tenha sido respondido no prazo dado pelo Sistema.

Recursos e diligências

No caso de o autor encaminhar resposta a diligências solicitadas pelo ABMVZ, ou documento de recurso, o mesmo deverá constar como a(s) primeira(s) página(s) do texto do artigo somente na versão em Word.

No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso, o mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.