

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de

01/03/2015.

Larissa Mayumi Bueno

Análise da espermatogênese e do cariótipo da espécie *Eptesicus furinalis* (d'Orbigny, 1847) Vespertilionidae, Chiroptera

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Morielle Versute.

Bueno, Larissa Mayumi.

Análise da espermatogênese e do cariótipo da espécie  
*Eptesicus furinalis* (d'Orbigny, 1847) Vespertilionidae, Chiroptera/  
Larissa Mayumi Bueno. -- São José do Rio Preto: [s.n.], 2014.  
126 f: il., tabs.

Orientador: Eliana Morielle Versute

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio  
de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências  
Exatas

1. Ecologia animal. 2. Espermatogênese em animais.  
3. Morcego - Classificação. 4. *Eptesicus*. 5. Biologia –  
Classificação.

I. Morielle-Versute, Eliana. II. Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e  
Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 591.471

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE  
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Larissa Mayumi Bueno

Análise da espermatogênese e do cariótipo da espécie  
*Eptesicus furinalis* (d'Orbigny, 1847) Vespertilionidae,  
Chiroptera

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Morielle Versute  
UNESP – São José do Rio Preto  
Orientadora

Prof. Dr. Wagner André Pedro  
UNESP - Araçatuba

Profa. Dra. Sandra Regina de Carvalho Marchesin  
UNIP – São José do Rio Preto

## **Agradeço especialmente...**

Aos meus pais (também conhecidos como meus pilares, meus heróis e meus ídolos), **Cesar e Sonia**, por todo apoio emocional (e financeiro) durante toda a minha jornada como estudante e ser humano, não só embaixo das suas asas, mas quando estou alguns km de distância. Agradeço por serem quem são e por me fazerem tornar tão similares a vocês a cada dia que passa. Agradeço pelo amor de vocês, puro e verdadeiro (não se bastando apenas ao Gene Egoísta), que me faz lembrar que o amor existe sim no mundo, sempre me dando esperanças.

À minha doce irmã, **Andressa**, com seu jeito calmo e delicado, por todo o incentivo e também o exemplo. Agradeço pelas risadas e todo apoio nos momentos tenebrosos que passei, que passamos.

Vocês três, que sempre torceram e torcerão incondicionalmente pelo meu sucesso.

## Agradeço...

À minha orientadora, **Profa. Dra. Eliana Morielle Versute**, por ser a minha maior inspiração no mundo científico por todo o seu conhecimento e forma de trabalhar. Ao longo desses anos, muitas vezes, fez um papel além de orientadora e agradeço por toda a amizade, paciência e confiança.

Ao meu co-orientador, **Dr. Mateus Rodrigues Beguelini**, por também ser uma inspiração, além de toda a ajuda e por todo o conhecimento passado.

Aos meus professores do IBILCE, por todas as oportunidades durante esses dois anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, por todo o apoio.

Aos meus companheiros de Laboratório:

**Bruno, Fábio, (a outra) Larissa**, por todo o conhecimento e ajuda.

**Manu, Fer e Di**, que se tornaram também grande amigas. Obrigada por todo o carinho, ajuda, conhecimento, risadas, lágrimas, consolo, xilol e formol. Sem vocês, a vida no Lab (e fora dele também, vai!) não seria tão incrível.

Ao **Jorge**, por toda a ajuda prestada, apoio e risadas.

Aos companheiros do LMM, principalmente **Cintia e Fabi**, que foram as peças-chaves da “mão na massa” de todo o meu trabalho. Vocês também me inspiram muito! Obrigada por toda a ajuda, carinho e amizade de vocês!

Ao **Luis Falleiros**, pela ajuda essencial e por todos os inúmeros motivos para dar risada todo dia. E a todo o resto do pessoal, por toda a ajuda e conhecimento.

Às patetas-colegas, **Carol Bertoque** e **Ana Luiza**, que desde o início da minha vida em Rio Preto foram essenciais. A amizade de vocês já faz tão parte de mim. Obrigada por tudo mesmo. “Onde você estiver, não se esqueça de mim, lapada!”.

Às SlowMotions, **Negrinha** e **Ju**, pelo convívio diário, e por toda a amizade e fraternidade. Já fazem parte de mim também! Obrigada por tudo, de verdade! Dá vontade de escrever todo dia na lousinha da geladeira o tanto que amo vocês! E aos agregados **Déia**, **Sazon**, **Ana Flor**, **Araxá**, **Plínio** e **Get**, por toda a amizade mais do que essencial, por toda a compreensão e broncas, por todos os motivos pra rir. Vocês são mais do que especiais pra mim e obrigada, do fundo do coração!

Ao casal exemplo, **Bruna** e **André**, por terem sido meus exemplos e inspiração durante toda minha graduação e pós. A ajuda, paciência e humildade de vocês não é desse mundo! Obrigada por serem quem são e por fazerem parte da minha vida!

Aos amigos em geral do IBILCE e de Rio Preto, que ao longo desses anos forneceram a NECESSÁRIA distração fora do mundo acadêmico, preenchendo meus dias com risadas, aventuras, histórias, carinho, amizade e amor.

**Rosi, Mari Bin e Marcela**, amigas de longa data, que mesmo distante, ainda conseguiram me dar todo o apoio e força. A longa amizade de vocês é de uma preciosidade imensa!

Agradeço também a todas as pessoas que foram coletar comigo, mesmo não tendo nada a ver com meu trabalho e isso inclui: os amigos pagando pela minha VALIOSA amizade e os (pobres) donos das chácaras/sítios/fazendas.

À Capes, pelo suporte financeiro.



*“A tarefa não é ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

*Arthur Schopenhauer*

## RESUMO

Chiroptera é a segunda maior ordem de mamíferos e possui distribuição mundial e, como consequência, apresenta uma grande diversidade de comportamento, hábito alimentar e estratégias reprodutivas. Entretanto, a maioria dos estudos relativos à reprodução é feita com espécies de morcegos de clima temperado, pouco se sabendo sobre a reprodução de morcegos de clima tropical. Vespertilionidae é a família que apresenta a maior distribuição dentro da Ordem. No Brasil, são referenciados cinco gêneros da família, entre eles, o gênero *Eptesicus*, com espécies exclusivamente insetívoras. São seis espécies brasileiras de *Eptesicus*, sendo essas simpátricas e com grande semelhança morfológica entre si, e para as quais há poucas informações sobre os aspectos reprodutivos e até mesmo sobre a variação morfológica, o que dificulta a identificação precisa de cada espécie. *Eptesicus furinalis* é a espécie que possui a maior distribuição entre as seis espécies brasileiras do gênero. Portanto, foram objetivos desse trabalho, analisar o processo da espermatogênese, o ciclo do epitélio seminífero e a ultraestrutura do espermatozoide, e analisar a variação morfológica do crânio, a morfologia do báculo e do cariótipo, contribuindo não só para o entendimento dos padrões reprodutivos das espécies de morcegos tropicais, mas também na taxonomia do gênero. O epitélio seminífero apresentou o padrão básico de mamíferos, e a espermiogênese pode ser dividida em sete estádios (na microscopia de luz) ou doze estádios (na microscopia eletrônica de transmissão), de acordo com os parâmetros da condensação e distribuição da cromatina e pelo método da formação do acrossomo, respectivamente. A espécie apresentou um processo de regressão testicular, similar ao observado em morcegos hibernantes de clima temperado, fato intrigante, uma vez que *E. furinalis* é uma espécie exclusivamente tropical e não hibernante. O ciclo do epitélio seminífero dessa espécie não apresentou as associações celulares fixas ao longo do túbulo seminífero, como é esperado em mamíferos, contudo, puderam ser reconhecidos oito estádios mais frequentes quando analisados pelo método da morfologia tubular. Os resultados indicam que tanto o processo de regressão testicular como o ciclo do epitélio seminífero nessa espécie merecem atenção e maiores investigações. A ultraestrutura do espermatozoide apresentou diferenças com relação às outras espécies de morcegos avaliadas, diferindo da espécie congênica, *E. fuscus* no tamanho do perfuratório. O crânio de *E. furinalis* apresentou a forma típica relatada para espécie, com ocorrência de

dimorfismo sexual. Foram reconhecidas sete medidas que melhor agruparam os indivíduos da espécie, quando analisados os sexos separadamente: quatro para machos e quatro para fêmeas, havendo sobreposição de uma medida. O báculo apresentou a morfologia típica observada no gênero, ou seja, de ponta de seta, com algumas variações nas partes que o compõe (comprimento e espessura dos lobos), as quais podem ser utilizadas nas comparações interespecíficas. O tamanho do báculo não apresentou relação direta com o tamanho do animal apresentando em média 0,63mm. O cariótipo não variou em relação aos dados da literatura ( $2n=50$  e  $NF= 48$ ) confirmando a localização e o número de regiões organizadoras de nucléolos (um par), e a localização centromérica da heterocromatina constitutiva. As informações obtidas nesse trabalho contribuem não só para a taxonomia de *E. furinalis*, bem como para o conhecimento da reprodução dessa espécie de grande importância biológica, atuando no controle populacional de insetos.

**Palavras-chave:** Craniometria, báculo, cariótipo, espermatogênese, espermatozoide.

## ABSTRACT

Chiroptera is the second largest mammalian order with worldwide distribution and, as a result, present a great diversity of reproductive strategies. Indeed, most studies on reproduction are performed with bat species from temperate zones, and little is known about the tropical bats reproduction. Vespertilionidae is the family with the largest distribution within the Order. Five genera occur in Brazil and among them there are the genus *Eptesicus*, with exclusively insectivorous species. Six species of *Eptesicus* occur in Brazil, and these are sympatric and has great morphological resemblance to each other, and there is little information on the reproductive aspects of them and even of morphological variation, making it difficult to accurately identify each species. *E. furinalis* is the most disperse species of *Eptesicus* in Brazil. Thus, the aims of this work was to analyse the process of spermatogenesis, the seminiferous epithelium cycle and the ultrastructure of the spermatozoon, and analyse the morphological variation of the skull, *baculum* and karyotype, in order to increase informations about the reproductive patterns of tropical bat species and about the taxonomy of *Eptesicus*. The seminiferous epithelium showed the basic mammalian pattern and the spermiogenesis could be divided into seven steps (light microscopy) or twelve steps (PAS method and transmission electron microscopy), when analyzed by the parameters of the chromatin distribution and condensation and by the acrosome method, respectively. *E. furinalis* showed a process of testicular regression similar to testicular regression in hibernating bats of temperate zones, which is an intriguing fact, since *E. furinalis* is an exclusive tropical species and does not hibernates. The seminiferous epithelium cycle presented no fixed cell associations throughout the seminiferous tubule, as is expected in mammals, however, exhibited eight frequent stages when analyzed by the tubular morphology method. Thus, both testicular regression and seminiferous epithelium cycle needs more attention and further investigation. The ultrastructure of the spermatozoon showed differences from other bat species evaluated, differing from the congeneric species, *E. fuscus*, in the perforatorium size. The skull of *E. furinalis* presented the typical format of this species, with sexual dimorphism. Seven characters best gathered the individuals in the analyses, when treated in separate sexes: four for female and four for males. The *baculum* presented the typical morphology of the genus, the arrowhead shape, with some variations in the parts that compose it (length and thickness of the

lobes), which can be used in interspecific comparisons. The size of the baculum showed no direct relation to the size of the animal, with 0,63mm in average. The karyotype presented no variation in relation to literature data ( $2n=50$  and  $FN= 48$ ), confirming the location and number of nucleolar organizer regions (one pair), and the location of centromeric heterochromatin. The data obtained in this study can contribute, not only to the taxonomy of *E. furinalis*, as well as knowledge of the reproduction of this species, which has a great biological importance, acting in the control of insects populations.

**Keywords:** *E. furinalis*, craniometry, baculum, karyotype, spermatogenesis, spermatozoon.

## I. INTRODUÇÃO

A ordem Chiroptera, representada pelos morcegos, possui aproximadamente 1200 espécies e constitui a segunda maior ordem de Mammalia, representando mais de 20% da diversidade atual de mamíferos (SIMMONS, 2005; 2010). As modificações dos membros anteriores em asas os tornaram os únicos mamíferos com capacidade de voo verdadeiro, o que resultou a esses animais a sua grande distribuição mundial (Figura 01), ocorrendo em regiões tropicais e temperadas, com exceção de algumas ilhas oceânicas remotas e da Antártica (NOWAK, 1999).

Como consequência dessa ampla distribuição geográfica, os morcegos ocuparam diferentes tipos de habitats, fato que contribuiu significativamente para a evolução dos diversos tipos de comportamento, hábitos alimentares e padrões reprodutivos, entre outros, tornando-os animais de extrema importância biológica, econômica e médico-sanitária, por serem importantes dispersores de sementes, agentes de polinização, controladores de insetos e vetores de doenças (REIS et al., 2007; MELLO et al. 2008; CARVALHO-COSTA et al., 2012).



**Figura 01.** Mapa da distribuição de Chiroptera (área em negro) evidenciando a ampla distribuição geográfica, excetuando-se os polos (área clara). (Fonte: <http://www.saudeanimal.com.br/distr.htm>).

Tradicionalmente a ordem está dividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera (KOOPMAN, 1994; SIMMONS & GEISLER, 1998), onde os Megachiroptera são considerados basais e constituídos pelas grandes formas de morcegos da família Pteropodidae, enquanto os Microchiroptera representam as outras 17 famílias reconhecidas e constituídas por espécies, em geral, menores e com ampla distribuição mundial. Embora esta classificação tenha sido baseada principalmente em dados morfológicos e paleontológicos, ela também considera a diferença no modo de percepção sensorial entre os mega e microquiróteros, ou seja, a especialização da ecolocalização (SIMMONS & GEISLER, 1998).

Estudos recentes envolvendo abordagens multidisciplinares, isto é, a associação de informações morfológicas, moleculares, de fósseis, citogenéticas, entre outras, têm proposto novas classificações para os Chiroptera. De forma geral as propostas têm apresentado novas ordenações para o nível interfamiliar, e alguns estudos não apoiam a monofilia dos Microchiroptera (TEELING et al., 2005). Com base em dados moleculares, Teeling et al. (2005) propuseram uma nova classificação, dividindo a ordem Chiroptera, ainda monofilética, nas subordens: Yinpterochiroptera e Yangochiroptera. Nesta proposta, a subordem Yinpterochiroptera é composta pelas famílias: Pteropodidae, Rhinolophidae, Megadermatidae, Rhinopomatidae, Hipposideridae e Craseonycteridae (todas restritas ao Velho Mundo), enquanto a subordem Yangochiroptera é composta pelo restante das famílias de Chiroptera. Esta nova classificação também coloca em debate a origem da ecolocalização e levanta duas hipóteses. Na primeira, a ecolocalização pode ter surgido uma única vez no ancestral de Chiroptera e teria sido perdida somente em Pteropodidae (TEELING, 2009). Já na segunda hipótese, a ecolocalização teria evoluído independentemente nas novas subordens propostas e fora perdida somente nos Pteropodidae (TEELING, 2009).

No Brasil são encontrados representantes de nove famílias de morcegos, incluindo as três de maior representação em número de espécies: Phyllostomidae, Molossidae e Vespertilionidae, e ainda, Emballonuridae, Furipteridae, Mormoopidae, Natalidae, Noctilionidae e Thyropteridae (REIS et al., 2011).

Vespertilionidae apresenta a maior distribuição geográfica e diversidade entre os morcegos, apresentando 48 gêneros e 407 espécies no mundo (NOWAK, 1999; SIMMONS, 2005). A característica mais evidente dos morcegos dessa família é a presença de um uropatágio em forma de V e a cauda completamente contida no mesmo,

raramente ultrapassando sua borda distal em uma vértebra (Figura 02). Além disso, possuem olhos pequenos, ausência de folha nasal ou qualquer ornamento facial, e as orelhas apresentam grande variedade de forma e tamanho, sendo característica diagnóstica para gêneros (GOODWIN & GREENHALL, 1961; VIZOTTO & TADDEI, 1973; EISENBERG & REDFORD, 1999).



**Figura 02.** Exemplar de *Eptesicus innoxius*. Notar o uropatágio em V e a cauda extendendo-se uma vértebra da borda distal do uropatágio (seta), a ausência de folha nasal e ornamentos faciais, e olhos pequenos.

(Fonte: <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/mamiferos/FichaEspecie.aspx?Id=2020>)

Os vespertilionídeos apresentam grande importância biológica no controle de insetos uma vez que são predominantemente insetívoros (NOWAK, 1994). Podem ser encontrados sozinhos ou formando colônias, estas variando de pequeno a grande tamanho, ocupando diversos tipos de abrigos, como grutas, cavernas, fendas em rochas, árvores (folhagens, ocos e cascas), folhas secas de palmeiras, barrancos de rios, construções humanas, entre outros (PATTERSON, 1992; ALMEIDA et al., 2002; FALCÃO et al., 2003).

No Brasil, Vespertilionidae é representada por 24 espécies distribuídas em cinco gêneros: *Eptesicus*, *Myotis*, *Histiotus*, *Lasiurus* e *Rhogeessa*, sendo os dois primeiros, os mais representativos em número de espécies (REIS et al., 2011). O gênero *Eptesicus* é



constituído por 23 espécies no mundo (SIMMONS, 2005), e que apresentam coloração variando de pardo-avermelhada a negra no dorso e ventre em tons mais claros (REDFORD & EISENBERG, 1992). O peso pode variar de 7 a 30g, a envergadura das asas de 250 a 320 mm e comprimento total de 69 a 135 mm (NOWAK, 1994; BARQUEZ, 1999).

No Brasil são registradas seis espécies de *Eptesicus*: *E. andinus* J. A. Allen, 1914; *E. brasiliensis* (Desmarest, 1819); *E. chiriquinus* Thomas, 1920; *E. diminutus* Osgood, 1915; *E. furinalis* (D'Orbigny, 1847) e *E. taddeii* (Miranda, Bernardi & Passos, 2006). Elas ocorrem em simpatria (Figura 03), e apresentam grande similaridade morfológica; por esta razão, existe grande dificuldade referente à identificação taxonômica das seis espécies.

Os caracteres taxonômicos tradicionalmente utilizados para a identificação de quirópteros apresentam grande sobreposição nos seis táxons reconhecidos (REIS et al. 2005; REIS et al. 2011; DAVIS & GARDNER, 2007), e a última e mais abrangente revisão feita para o gênero com espécimes brasileiros, não encontrou diferenças morfológicas externas e necessidades de estudos ao nível molecular (GONÇALVES, 2001). Tendo em vista que a mais nova espécie foi descrita para o Brasil, a partir da análise de espécimes principalmente dos táxons *E. brasiliensis* e *E. furinalis*, é possível reforçar que a revisão do gênero é de extrema importância, concordando com Tavares & Gregorin (2008).



**Figura 03.** Mapa de distribuição das seis espécies brasileiras do gênero *Eptesicus*, evidenciando a ocorrência de simpatria entre elas. (Fonte: <http://www.iucnredlist.org> (Adaptado); Miranda, Bernardi & Passos, 2005).

Assim como para outros táxons de Chiroptera, os estudos moleculares também têm se mostrado úteis na caracterização dos táxons de *Eptesicus*, evidenciando até mesmo, a possível ocorrência de hibridização interespecífica entre *E. serotinus* e *E. nilssonii*, além de outras informações de relacionamentos entre algumas espécies não brasileiras do gênero (NEUBAUM et al., 2007; ARTYUSHIN et al., 2009, 2012a, 2012b). Além desses, as análises de outras características também podem ser utilizadas como ferramentas taxonômicas para a melhor identificação de caracteres diagnósticos de diversos táxons. Entre elas, estão as informações citogenéticas, a morfologia do báculo e da glândula peniana e a morfologia das células reprodutivas, em especial, do espermatozoide (FEDYK & RUPRECHTK, 1983; MORALES et al., 1991; VOLLETH et al., 2001; KEARNEY et al., 2002; BEGUELINI et al., 2012; ARAÚJO et al., 2013).

O espermatozoide é uma célula altamente especializada e, portanto, apresenta uma morfologia específica para cada espécie ou uma morfologia semelhante entre espécies proximamente relacionadas. Sendo assim, diferenças estruturais podem indicar diferenças taxonômicas. A ultraestrutura do espermatozoide tem sido utilizada no

auxílio na identificação e classificação dos táxons de vários grupos de organismos, como anfíbios (GARDA et al., 2002; COSTA et al., 2004; GARDA et al., 2004), répteis (TEIXEIRA et al., 1999a, 1999b, 1999c; GIUGLIANO et al., 2002; TEIXEIRA et al., 2002; VIEIRA et al., 2005) e mamíferos (MORI, 1994; SOONJEONG et al., 2006), incluindo Chiroptera (ROUSE & ROBSON, 1986; PHILLIPS et al., 1997; BEGUELINI et al., 2011, 2012 a,b; 2013, 2014).

O espermatozoide é formado a partir das espermatogônias, durante o processo da espermatogênese (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Embora a composição e função dos testículos sejam similares entre os mamíferos, alguns estudos têm observado que o processo espermatogênico apresenta algumas diferenças interespecíficas, as quais têm sido relacionadas à diferentes estratégias reprodutivas, e algumas delas parecem ser determinadas filogeneticamente (FAWCETT et al., 1973; FRANÇA et al., 2005).

Beguelini et al. (2009) ao analisarem representantes de espécies de morcegos neotropicais de Phyllostomidae e Vespertilionidae, verificaram que há grande similaridade na morfologia das células testiculares e no ciclo do epitélio seminífero entre algumas espécies de Phyllostomidae (*Artibeus lituratus*, *A. planirostris*, *Carollia perspicillata*, *Platyrrhinus lineatus* e *Sturnira lilium*), contudo, quando essas foram comparadas com uma espécie de Vespertilionidae (*Myotis nigricans*) os autores verificaram diferenças morfológicas entre os táxons das duas famílias.

Além da variação na morfologia dos espermatozoides, os demais aspectos reprodutivos em morcegos também apresentam padrões variáveis entre as espécies, estes primariamente ligados ao ambiente ao qual o animal pertence, ou seja, se a áreas temperadas ou áreas tropicais (GUSTAFSON, 1979; KRUTZSCH, 1979).

De maneira geral, os morcegos de regiões temperadas possuem reprodução sazonal, sendo monoestros, devido a um período de hibernação relacionado às baixas temperaturas (KRUTZSCH, 1979). São várias as estratégias relacionadas aos animais hibernantes, tais como, regressão testicular; armazenamento prolongado de espermatozoides na cauda do epidídimo nos machos e no corno uterino das fêmeas; assincronia entre a espermatogênese e a cópula; atraso na ovulação, fertilização e implantação no trato reprodutivo das fêmeas (GUSTAFSON, 1979; KRUTZSCH, 1979; CRICHTON & KRUTZSCH, 2000).

Diferente dos animais de áreas temperadas, os morcegos tropicais não hibernam (FLEMING et al., 1972; TADDEI, 1976) e o ciclo reprodutivo sofre influência da

temperatura e precipitação e, por consequência, da disponibilidade de alimentos (FLEMING et al., 1972; TADDEI, 1976). Por esta razão e pelo fato de que há variação no hábito alimentar entre os morcegos tropicais, a sazonalidade reprodutiva não é generalizada.

A morfologia da glândula peniana também apresenta grande importância taxonômica, entretanto, poucos são os estudos em quirópteros utilizando essa característica como ferramenta para propor relações entre os táxons de morcegos (RYAN, 1991). Para a glândula peniana em Microchiroptera há registros da existência de dois padrões básicos: glândulas alongadas, com estrutura complexa e prepúcio fino e retrátil; e glândulas menores, com estrutura mais simples e prepúcio espesso e vascular, sendo que os vespertilionídeos estão incluídos no segundo padrão (MATTHEWS, 1941).

Assim como a glândula, outra característica negligenciada até recentemente, apesar da sua utilidade ter sido constatada desde a década de setenta, é a presença e variação morfológica do báculo ou osso penial (*os penis* ou *baculum*), que se mostrou útil na caracterização de alguns táxons de Chiroptera.

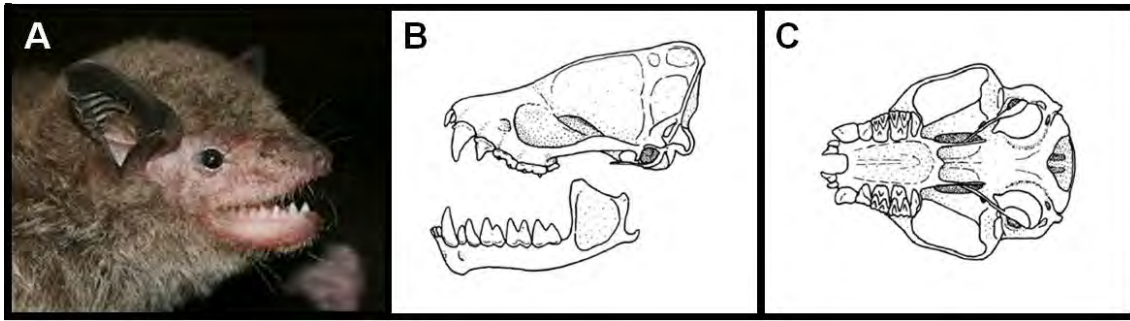
O nome *baculum* foi proposto por Thomas (1915), o primeiro mastozoólogo a reconhecer o seu valor como um caráter taxonômico. Ele ocorre em pelo menos cinco ordens de mamíferos: Insectivora, Chiroptera, Primates, Carnivora e Rodentia (BURT, 1936; DIXSON, 1987, 1995; THOMAS et al., 1994). Recentemente ele reassumiu o papel importante que tem como uma característica morfológica distintiva na caracterização dos táxons de mamíferos e na biologia reprodutiva dos grupos (RYAN, 1991; LARIVIÈRE & FERGUSON, 2002). Em Chiroptera os estudos da presença e morfologia do báculo são utilizados para a determinação da idade dos organismos e para verificar a associação entre morfologia genital e a seleção sexual. Sua aplicabilidade torna-se evidente nas situações onde a similaridade morfológica dos táxons é grande e as espécies são simpátricas (HAMILTON, 1949; BROWN, 1967; BROWN et al., 1971; HOSKEN et al., 2001).

Os estudos citogenéticos também têm fornecido informações importantes que vem sendo utilizadas nas interpretações sistemáticas e propostas de relacionamentos entre os táxons de Vespertilionidae (VOLLETH, 1992; VOLLETH & HELLER, 1994). As informações obtidas com base nos estudos dos padrões de bandas G dos cariótipos das espécies, na distribuição da heterocromatina e localização das regiões organizadoras

nucleolares (RONS), bem como por meio da hibridização *in situ* com sondas cromossômicas, têm propiciado aos pesquisadores concluírem que os eventos do tipo translocações Robertsonianas são os principais responsáveis pela evolução dos cariótipos de Vespertilionidae, juntamente com a adição de material heterocromático e variação no número de sítios ou regiões organizadoras nucleolares (RONS) (VOLLETH et al., 2001; KEARNEY et al., 2002; BICKHAM et al., 2004; AO et al., 2006). Apesar das interpretações estarem embasadas principalmente em resultados obtidos para espécies européias de vespertilionídeos, elas evidenciam que os eventos ocorridos, em geral, são característicos de determinados táxons de diferentes níveis hierárquicos, ou seja, especialmente entre gêneros e tribos (VOLLETH et al., 2001).

Conforme já referenciado, no Brasil há registros para 23 espécies de vespertilionídeos, das quais seis são de *Eptesicus*. A espécie com maior distribuição é *E. furinalis*, que ocorre desde o México ao norte da Argentina, Paraguai, Bolívia, Brasil, Guianas e leste do Peru (MIES et al., 1996; SIMMONS, 2005). No Brasil, está distribuída nos estados de AM, AP, CE, DF, ES, MG, MS, MT, PA, PR, RJ, SC, SP, TO (REIS et al., 2007). A dieta é insetívora, como as demais espécies da família, e capturam as presas durante o voo (LaVAL & FITCH, 1977). São representados por animais de tamanho pequeno a médio (REIS et al., 2007), com nariz largo, orelhas finas e convexas na borda frontal, o trago é longo e pontudo (ou pontiagudo), tendo a metade da altura total da orelha (Figura 4A). As orelhas e as membranas são desprovidas de pelos e são de coloração marrom-escura a preta, sendo que as membranas das asas começam na base dos dedos. A pelagem dorsal é mais escura que a pelagem ventral, entretanto, a coloração varia entre as estações do ano e os diferentes habitats (MIES, KURTA & KING, 1996).

O crânio (Figura 4 B-C) apresenta a forma típica para o gênero, ou seja, o rosto é achatado e a crista sagital é pouco distinta. A fórmula dentária é:  $3/2i, 1/1c, 1/2pm, 3/3m \times 2 = 32$ , com o primeiro incisivo superior bem desenvolvido e uma cúspide secundária, enquanto que o segundo incisivo superior não tem cúspide e possui metade do tamanho do primeiro, sendo esta uma característica diagnóstica para o gênero (MIES, KURTA & KING, 1996; REIS et al., 2007).



**Figura 04.** Imagens da face (A) e representação esquemática do crânio (B e C) de *Eptesicus furinalis*. **A.** Orelhas finas e trago pontiagudo. **B.** Vista lateral do crânio, mostrando a crista sagital pouco desenvolvida. **C.** Vista ventral do crânio, mostrando o segundo incisivo superior com metade do tamanho do primeiro (Referências: [www.mbopiparaguay.wordpress.com](http://www.mbopiparaguay.wordpress.com); Mies, Kurta & King, 1996).

As informações sobre os aspectos reprodutivos de *Eptesicus furinalis* além de serem escassas, são muitas vezes controversas. Alguns dados apontam que essa espécie se reproduz uma vez ao ano (DAVIS, 1966), enquanto outros apontam reprodução duas vezes ano, tendo a gestação uma duração em torno de dois meses (MYERS, 1977; GONZÁLEZ, 2001). Essas variações parecem estar associadas mais à variação geográfica, do que específica. Animais de Belize (América Central), durante a estação reprodutiva, formam hárens, sendo que o macho abriga-se fora do grupo das fêmeas, e os nascimentos ocorrem no final de maio (geralmente com dois filhotes); contudo, algumas fêmeas parem novamente entre julho e agosto, gerando apenas um único filhote (MCCARTHY, 1980). No Paraguai, o primeiro parto ocorre no mês de julho e agosto e o segundo no mês de janeiro (MEYERS, 1977). Na Argentina, já foi registrado estro pós-parto (com fêmeas prenhas amamentando em novembro) e machos capturados com testículo escrotado nos meses de maio e novembro (BARQUEZ et al., 1999).

Além disso, existem outros fatores que aumentam a complexidade do padrão reprodutivo da espécie, como a ocorrência de armazenamento de espermatozoides no corno uterino, bem como regressão no tamanho e peso dos testículos duas vezes ao ano nos machos (MYERS, 1977). Estes fatos sugerem que o estudo da espermatogênese de *E. furinalis* é importante, não só para a obtenção de dados para análises evolutivas nas espécies de *Eptesicus*, mas também para o entendimento dos padrões reprodutivos de Chiroptera.

As informações citogenéticas para essa espécie resumem-se apenas na descrição da morfologia e número de cromossomos e da localização da região organizadora nucleolar (MARCHESIN, 2002; MORATELLI & MORIELLE-VERSUTE, 2007),

informações estas que contribuem pouco para o estabelecimento dos eventos cromossômicos que participaram da evolução dos táxons de *Eptesicus*.

Os dados citogenéticos para *E. furinalis* apontam um número diplóide de cromossomos de  $2n=50$  para a espécie, com a maioria dos cromossomos acrocêntricos, e um par cromossômico organizador nucleolar. Para alguns autores um cariótipo com  $2n=50$ , como o observado em *Eptesicus*, pode representar a condição ancestral para Vespertilionidae (BAKER & PATTON, 1967; WILLIAMS, 1978; VARELLA-GARCIA et al., 1989, MARCHESIN, 2002). Por este motivo, a caracterização do cariótipo de *E. furinalis* por meio de técnicas citogenéticas convencionais e citogenética molecular constituem um aspecto importante para ser estudado, com a finalidade de contribuir com os estudos de Vespertilionidae.

## VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

### Quanto à espermatogênese e células reprodutivas

- a morfologia do epitélio seminífero em *E. furinalis* apresenta o padrão típico dos mamíferos. A espermiogênese ocorre em sete estádios, quando analisada pelos parâmetros da condensação da cromatina e posição da célula no epitélio semífero (Hematoxilina-eosina), e em 12 estádios, quando analisada pelo método da formação do acrossomo (Método de PAS contracorado com Hematoxilina).

- o ciclo do epitélio seminífero nessa espécie não apresenta um padrão repetido de associações celulares, como esperado para os mamíferos. Porém, apresentou oito estádios mais frequentes nos cortes transversais do túbulo seminífero. O método da morfologia tubular, frequentemente utilizado para a análise do ciclo de epitélio seminífero em mamíferos, aparentemente não é suficiente para classificar o ciclo nessa espécie, sendo necessárias então, futuras análises através de outros métodos.

- *E. furinalis* apresenta um processo de regressão testicular similar à regressão testicular típica em morcegos hibernantes de clima temperado. Esse fato é extremamente interessante, uma vez que essa espécie é exclusivamente tropical e não apresenta um período de hibernação, merecendo, portanto, maiores investigações.

**Com isso, concluímos que o ciclo reprodutivo de *E. furinalis* é diferenciado, não só pelo fato de essa espécie apresentar um processo de regressão testicular, como também por não apresentar o ciclo do epitélio seminífero com associações definidas, não estando dentro do padrão de mamíferos.**

### Quanto à ultraestrutura do espermatozoide

- *Eptesicus furinalis* apresenta o espermatozoide, assim como outros morcegos, similar ao de humanos. Contudo, a morfologia do espermatozoide dessa espécie apresenta diferenças com o espermatozoide de táxons de outras famílias e também com a espécie congênica, *E. fuscus*.



**Concluimos assim, que a ultraestrutura do espermatozoide pode ser utilizada como uma importante ferramenta para a análise taxonômica entre espécies não só de morcegos, como de diferentes grupos.**

#### **Quanto à variação morfológica**

- o crânio de *E. furinalis* apresenta a forma típica da espécie descrita na literatura, com a presença de dimorfismo sexual. Pelo menos quatro medidas cranianas são informativas no reconhecimento do dimorfismo sexual e também para a separação deste táxon de outros do mesmo gênero.

- o tamanho do báculo não apresenta relação direta com o tamanho do animal. Sua morfologia apresenta a extremidade (distal) arredondada e a região mediana com uma curvatura ventral (região côncava ventral), além de apresentar dois lóbulos laterais. Em seu interior, apresenta um canal medular que percorre toda sua extensão.

- o cariótipo apresentou similaridade com as descrições da literatura ( $2n=50$  e  $NF=48$ ). A heterocromatina, que é apenas centromérica difere na composição de bases, de acordo com a marcação pelo fluorocromo.

**Assim, concluimos que o báculo, apesar de ser uma estrutura que não tem sido investigada nos últimos anos, pode ser utilizado como um carácter diagnóstico para o gênero. Além disso, as medidas cranianas encontradas nesse trabalho que agruparam as espécies podem ser utilizadas como medidas diagnósticas para as espécies, quando considerados os sexos separadamente. O cariótipo de *Eptesicus furinalis* retém condições consideradas mais próximas às ancestrais.**