

Morfologia do útero e ovários de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) durante as fases do ciclo reprodutivo

Dianelli Lisboa Caun

MESTRADO

PÓS GRADUAÇÃO
EM BIOLOGIA ANIMAL

2016



Dianelli Lisboa Caun

Morfologia do útero e ovários de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) durante as fases do ciclo reprodutivo

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.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Eliana Morielle Versute

Co-orientador: Prof. Dr. Mateus Rodrigues Beguelini

São José do Rio Preto

2016

Caun, Dianelli Lisboa.

Morfologia do útero e ovários de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) durante as fases do ciclo reprodutivo / Dianelli Lisboa Caun. -- São José do Rio Preto, 2016

56 f. : gráfs. tabs.

Orientador: Eliana Morielle Versute

Coorientador: Mateus Rodrigues Beguelini

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Biologia. 2. Morcego - Morfologia. 3. Morcego - Reprodução. 4. Phyllostomidae. 5. Menstruação. 6. Ovários. I. Morielle-Versute, Eliana. II. Beguelini, Mateus Rodrigues. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 599.4

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

Dianelli Lisboa Caun

Morfologia do útero e ovários de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) durante as fases do ciclo reprodutivo

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^a. Dr^a. Eliana Morielle Versute

UNESP – São José do Rio Preto

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Daniela Dias

Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro

Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Cherici Camargo

UNESP – Assis

São José do Rio Preto

25 de fevereiro de 2016

Dedico a...

Vó Ana, que sempre intercede por mim!

Agradeço...

Aos meus pais, **Rosemeire e Aparecido**, por todo apoio, compreensão e AMOR. Se cheguei até aqui, devo a vocês. E aonde quer que eu chegue, será sempre por vocês.

Aos meus irmãos, **Diego e Daiane**, um agradecimento com algo que aprendi esse ano: irmãos são fundamentais se você pretende qualificar no dia do seu aniversário. Muito obrigada!

A minha orientadora Profa. Dra. **Eliana Morielle Versute**, pela paciência e ensinamentos. Sou muita grata pela orientação e me orgulho de fazer parte de um ciclo da sua vida que logo se encerrará.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. **Mateus Rodrigues Beguelini**, pelos conhecimentos compartilhados e pelos vários meses de coleta, sempre regada a ensinamentos.

Ao apoio financeiro concedido pela CAPES.

Ao Prof. Dr. **Sebastião Roberto Taboga** pela disponibilização dos recursos de seu laboratório e pelas sugestões dadas ao trabalho no exame geral de qualificação, juntamente com a Prof. Dra. **Rejane Matra Góes**.

Ao técnico **Luiz Roberto Falleiros Junior e Jorge Buchdid** por toda ajuda, paciência e ensinamentos práticos.

As pessoas que passaram pela minha vida por esses 7 anos de IBILCE, na graduação ou na pós, e que fizeram com que tudo isso valesse a pena. Aos que permanecem, comemorarão comigo!

Ao pessoal do LMM, em especial ao **Luiz Henrique Guerra** pelo estágio básico oferecido e por compartilhar de sua sabedoria!

A **Manu** e a **Fer**, amigas que a faculdade e o laboratório me deram e que a vida fará questão de eternizar.

Um agradecimento especial a **Lari**, que mesmo tão longe, esteve tão perto. E assim permanecerá!

Ao **Nego**, pelo rosário de todos os dias. Foi o que me manteve de pé!

E a **Deus**, SEMPRE!

Sumário

Resumo.....	5
Abstract.....	6
I. Introdução Geral.....	7
II. Objetivos.....	10
III. Referências.....	11
IV. Capítulo 1.....	15
“Morfologia dos ovários de <i>Artibeus planirostris</i> (Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do ciclo reprodutivo, com ênfase no processo de foliculogênese”	
Resumo.....	16
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos.....	19
2.1. Espécimes analisados, coletas e licença.....	19
2.2. Delineamento experimental.....	20
2.3. Análise histológica.....	20
2.4. Análise biométrica e morfométrica.....	20
2.5. Análise estatística.....	21
3. Resultados.....	21
3.1. Histologia geral do ovário.....	21
3.2. Foliculogênese.....	22
3.3. Quantificação folicular.....	23
3.4. Análises biométricas e morfométricas.....	25
4. Discussão.....	30
5. Referências.....	33
V. Capítulo 2.....	42
“Morfologia do útero de <i>Artibeus planirostris</i> (Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do ciclo reprodutivo”	
Resumo.....	43
1. Introdução.....	44
2. Material e Métodos.....	45
2.1. Área de estudo e método de captura.....	45
2.2. Espécimes analisados.....	46
2.3. Processamento dos animais.....	46

2.4. Análise histológica.....	46
2.5. Análise estatística.....	47
3. Resultados.....	47
3.1. Condição geral das fêmeas.....	47
3.2. Histologia geral do útero.....	48
4. Discussão.....	49
5. Referências.....	52

RESUMO

Apesar das diferentes estratégias reprodutivas apresentadas pelos morcegos, relativamente pouca atenção tem sido dada aos estudos morfológicos das estruturas reprodutivas nesses animais. Com o intuito de gerar informações que propiciem uma descrição mais detalhada dos aspectos reprodutivos em Chiroptera, o objetivo do presente estudo foi descrever a morfologia dos órgãos reprodutivos (útero e ovários) das fêmeas de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae) durante quatro fases do ciclo reprodutivo e analisar o processo de foliculogênese. As fêmeas de *A. planirostris* possuem um útero simples de histologia semelhante ao padrão geral dos mamíferos, com a parede uterina sendo composta por três camadas, na qual a mais interna, o endométrio, demonstrou um processo de descamação e necrose, que ao ser associada com sangramento, caracteriza a menstruação. *Artibeus planirostris* produz apenas um filhote por gestação e exibe um padrão poliétrico, evidenciado pela captura de fêmeas concomitantemente grávidas e lactantes, demonstrando a existência de um estro pós-parto. Os ovários de *A. planirostris*, apresentaram uma polaridade aparente, com os folículos primordiais restritos a uma zona localizada em apenas um lado do ovário, a partir da qual os folículos são recrutados para posterior crescimento e desenvolvimento. Ambos os ovários são funcionais, confirmados pela presença do corpo lúteo, mas constatamos que eles não podem ser considerados bilateralmente simétricos, uma vez que o corpo lúteo foi encontrado preferencialmente no ovário esquerdo (76,2%). Os ovários durante a gravidez apresentam diferenças significativas entre si, evidenciando um processo de regressão por parte do ovário sem corpo lúteo, que apresenta grandes quantidades de folículos atrésicos, e valores de diâmetro, área e volume significativamente menores do que o ovário que ovulou (com corpo lúteo). Quanto ao processo de foliculogênese, *A. planirostris* segue o padrão básico dos mamíferos e outros morcegos, tendo início com o recrutamento de folículos primordiais, visando seu crescimento e desenvolvimento, podendo se tornar um folículo maduro (de Graaf) ou morrer por um processo de atresia. Com esses resultados, fornecemos detalhes sobre o ciclo reprodutivo de *A. planirostris*, evidenciando características reprodutivas típicas dessa espécie.

Palavras-chave: Phyllostomidae, ciclo reprodutivo, menstruação, ovário polarizado, foliculogênese.

ABSTRACT

Despite the many reproductive strategies employed by bats, there is not enough attention being given to the morphological studies of reproductive structures of the Chiroptera. Aiming to generate informations that enable a more detailed explanation of the reproductive aspects of Chiroptera, the purpose of this study is to describe the morphology of the reproductive organs (uterus and ovaries) of female *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae) during four phases of the reproductive cycle and analyse the folliculogenesis. The *A. planirostris* female has a simple uterus, histologically similar to the mammalian general pattern, uterine wall formed by three layers, of which, the inner layer, the endometrium, has showed process of necrosis and scaling that, when combined with bleeding, typifies menstruation. *Artibeus planirostris* produces only one offspring per gestation and presents a poliestric pattern, corroborated by the capture of females concomitantly pregnant and lactating, desmonstrating the existence of a postpartum estrus. The ovaries of *A. planirostris* showed an apparent polarity, with the primary follicles restricted to an area located in only one side of the ovary, from which the follicles are recruited to the consequent growth and development. Both ovaries are functional, confirmed by the presence of the corpus luteum and it was found, however, that they can not be considered bilaterally simetrical, for the corpus luteum was predominantly found in the left ovary (76,2%). The ovaries, during pregnancy, showed significant differences among each other, evincing a regression process of the ovary that did not present corpus luteum and showing great quantity of atretic follicles, and with diameter, area and volume significantly smaller than the ovary which presented corpus luteum, i.e., which has ovulated. As for the folliculogenesis process, *A. planirostris* follows the basic mammalian pattern as well as other bats, starting with primary follicle recruiting, growing and developing it, and enabling it to become a mature follicle (graafian foliclle) or dying of a process of atresia. With such results, we provide details on the reproductive cycle of *A. planirostris*, evincing typical reproductive characteristics for this species.

Keywords: Phyllostomidae, reproductive cycle, menstruation, polaryzed ovary, folliculogenesis

I. INTRODUÇÃO GERAL

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). Apresenta-se amplamente distribuída nas regiões tropicais e temperadas do mundo, não sendo encontrada apenas nas regiões polares (REIS et al., 2006). No Brasil há registros de 68 gêneros e 178 espécies de morcegos, pertencentes a nove famílias (REIS et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2014).

A família Phyllostomidae é a mais diversificada da região Neotropical, contando atualmente com cerca de 160 espécies divididas em 57 gêneros (SIMMONS, 2005). Trata-se de um clado endêmico do Novo Mundo, com registros que se estendem do sudoeste dos Estados Unidos da América até o norte da Argentina. No Brasil, os filostomídeos estão representados por 92 espécies e 43 gêneros, que correspondem a 51,68% e 63,23%, respectivamente, dos morcegos já registrados no país (REIS et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2014). É, dentre todas as famílias de mamíferos, a mais diversificada em termos de estratégias alimentares (insetívoros, onívoros, frugívoros, carnívoros, nectarívoros e hematófagos). Dentre os frugívoros, as espécies do gênero *Artibeus* Leach, 1821, incluída na subfamília Stenodermatinae, destacam-se em muitas áreas em que ocorrem pela sua intensa participação na dispersão de sementes dos gêneros *Ficus*, que é um recurso-chave para muitas outras espécies de mamíferos (LOPEZ e VAUGHAN, 2004), e *Cecropia*, uma espécie pioneira importante no processo de sucessão ecológica e na recuperação de ambientes degradados (LOBOVA et al., 2003).

Artibeus apresenta uma ampla distribuição, ocorrendo desde o México até o norte da Argentina e sul do Brasil (KOOPMAN, 1982). São conhecidas 19 espécies na região Neotropical (SIMMONS, 2005), das quais cinco ocorrem no Brasil: *Artibeus concolor* Peters, 1865; *A. fimbriatus* Gray, 1838; *A. lituratus* (Olfers, 1818); *A. obscurus* (Schinz, 1821) e *A. planirostris* (Spix, 1823) (HANDLEY, 1987; AGUIAR e TADDEI, 1995; NOGUEIRA et al., 2014). Dessas cinco espécies, quatro (exceto *A. concolor*) ocorrem na maior parte do território brasileiro, sendo que *A. lituratus* e *A. planirostris* são numericamente ricas no noroeste do estado de São Paulo.

Artibeus planirostris ocorre desde a porção sul do rio Orinoco (Venezuela) e leste dos Andes até o norte da Argentina. É um animal de porte médio, com uma variação de 62 a 73mm para o antebraço (HOLLIS, 2005), peso de 40 a 69 gramas (BARQUEZ et al., 1993) e listras faciais, em geral, pouco perceptíveis.

Por sua ampla distribuição geográfica, os morcegos sofrem considerável influência dos fatores abióticos sobre suas estratégias reprodutivas. Vários estudos têm apontado que a maioria dos morcegos se reproduzem sazonalmente (GUSTAFSON, 1979; KRUTZSCH, 1979; CRICHTON e KRUTZSCH, 2000). Quase invariavelmente, morcegos de regiões temperadas são reprodutores sazonais, reproduzindo apenas uma vez por ano (monoéstrico), com essa característica diretamente associada com a hibernação e baixas temperaturas (KRUTZSCH, 1979). Para sobreviver nestes ambientes agressivos estes animais evoluíram várias características únicas, tais como: regressão testicular; prolongado armazenamento de espermatozoides na cauda do epidídimo nos machos e no corno uterino nas fêmeas; assincronia entre a espermatogênese e o período de cópula, e retardos na ovulação, fertilização e implantação no trato reprodutivo feminino (GUSTAFSON, 1979; KRUTZSCH, 1979; CRICHTON e KRUTZSCH, 2000).

Morcegos tropicais não hibernam e, segundo alguns autores (FLEMING et al., 1972; TADDEI, 1976), sua reprodução é fortemente influenciada por mudanças sazonais na temperatura, precipitação e recursos alimentares. Assim, os morcegos tropicais podem apresentar padrões monoéstricos ou poliéstricos ou reprodução contínua ao longo do ano em algumas espécies (REIS, 1980; TADDEI, 1980; FAZZOLARI-CORRÊA, 1995; ZORTÉA, 2003).

É amplamente relatado que os testículos de morcegos apresentam diferenças significativas em sua relação epitélio-lúmen-estroma e produtividade de espermatozoides durante o ano (KRUTZSCH, 1955; MARSHALL e CORBET, 1959; KRUTZSCH e CRICHTON, 1987; JOLLY e BLACKSHAW, 1988; PACHECO, 2001). Segundo JOLLY e BLACKSHAW (1988), existe uma alta correlação entre a máxima temperatura ambiental e o número de espermatogônias, sugerindo que a temperatura exerce íntima influência sobre a reprodução de morcegos. Para BEASLEY e ZUCKER (1984), a temperatura em certas épocas do ano exerce maior influência sobre o ciclo reprodutivo de morcegos que o fotoperíodo.

No entanto, estudos recentes têm mostrado que mudanças no ambiente parecem pouco afetar o processo reprodutivo nos machos (BEGUELINI et al., 2013a; 2013b). Morcegos tropicais parecem apresentar espermatogênese contínua durante todo o ano, apenas com picos de produção de espermatozoides ligados ao período de cópula (BEGUELINI et al., 2013a; CRICHTON e KRUTZSCH, 2000; MORAIS et al., 2012; 2013). Alguns estudos têm apontado para um modelo de regressão testicular em espécies vespertilionídeos mesmo em áreas tropicais (ARAÚJO et al., 2013; BEGUELINI et al.,

2013b, 2013c, 2013d). No entanto, novamente esse padrão reprodutivo parece ser pouco correlacionado a mudanças ambientais (BEGUELINI et al., 2013b).

A partir desses dados é possível admitir que o ambiente parece afetar diferentemente os gêneros e espécies de morcegos, agindo e regulando mais fortemente as fêmeas (disponibilidade de alimentos - amamentação) e, indiretamente, regulando a reprodução masculina via receptividade feminina à cópula.

Estudos recentes têm demonstrado interessantes características no padrão reprodutivo feminino em morcegos tropicais, especialmente nas famílias Molossidae e Phyllostomidae, que vão desde a grande variação morfológica no formato do útero - duplo, bipartido, bicórneo e simples (CRICHTON e KRUTZSCH, 2000; KOMAR et al., 2007); casos de menstruação verdadeira (RASWEILER, 1991; RASWEILER e BONILLA, 1992; KOMAR et al., 2007; WANG et al., 2008; RASWEILER et al., 2010); ovários polarizados (KOMAR et al., 2007); ovulação preferencial (sempre o mesmo ovário), alternada ou dupla (CRICHTON e KRUTZSCH, 2000); até casos de ovulação tardia (ABHILASHA e KRISHNA, 1996) e retardos no desenvolvimento embrionário (FLEMING, 1971; RASWEILER IV e BADWAIK, 1997).

Estudos anteriores sobre a reprodução de *A. planirostris* no Brasil, analisando machos e fêmeas, indicam um padrão poliétrico bimodal para a espécie (WILLIG, 1985). No entanto, GRAHAM (1987) e TADDEI (1976) postularam que a espécie é capaz de se reproduzir durante todo o ano. BEGUELINI et al. (2013a) ao analisarem machos adultos da espécie, observaram um padrão continuamente ativo da espermatogênese ao longo do ano, com espermatozoides dentro da cauda do epidídimo em todos os meses, mas com dois picos pronunciados de produção espermática, um em setembro e outro em fevereiro. Os autores postularam que se a reprodução de machos de *A. planirostris* é influenciada/regulada por fatores abióticos essa regulação parece ser indireta, uma vez que mudanças na atividade espermatogênica não estão associadas diretamente à nenhuma mudança ambiental. Assim os autores acreditam que a reprodução de machos de *A. planirostris* é regulada baseada no ciclo reprodutivo feminino, via receptividade da fêmea à cópula, o qual seguiria as mudanças ambientais.

Apesar dessa possível ligação, a maioria dos estudos sobre a reprodução de fêmeas de *A. planirostris* tem sido conduzido a partir de observações no nível ecológico, visualizando apenas sinais de gestação e lactação no campo, sendo que, por essa metodologia, os estágios iniciais de gestação não são percebidos pelo pesquisador. Por essas razões, estudos de cunho morfológico, incluindo a anatomia e histologia dos órgãos

reprodutivos femininos de *A. planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) é interessante e pode gerar informações que possibilitem um melhor entendimento do ciclo reprodutivo dessa espécie.

II. OBJETIVOS

Diante das informações destacadas, o objetivo do presente estudo foi descrever a morfologia dos órgãos reprodutivos (útero e ovários) das fêmeas de *Artibeus planirostris* durante diferentes fases do ciclo reprodutivo, a fim de gerar informações que possibilitem um melhor entendimento do ciclo reprodutivo dessa espécie.

Objetivos Específicos

- Caracterizar morfologicamente os órgãos reprodutivos femininos (útero e ovário) de *A. planirostris*, através de análises anatômicas e histológicas.
- Avaliar as mudanças na morfologia dos ovários por meio de análises morfométricas, nos diferentes estágios reprodutivos;
- Analisar o processo de foliculogênese em *A. planirostris*.

Os resultados obtidos foram organizados em dois capítulos, representados por dois manuscritos que foram elaborados de forma a atender especificações de revistas científicas com interesse na área:

Capítulo 1 – Manuscrito: “**Morfologia dos ovários de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do ciclo reprodutivo, com ênfase no processo de foliculogênese**”.

Capítulo 2 – Manuscrito: “**Morfologia do útero de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do ciclo reprodutivo**”.

III. REFERÊNCIAS

- ABHILASHA S.; 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.
- AGUIAR, M. S.; TADDEI, V. A. A newsletter of the neotropical section of the IUCN/SSC Chiroptera specialist group. **Chiroptera Neotropical**. Belo Horizonte. v. 1(2), p. 24, 1995.
- ARAÚJO, R. A.; AMARO, B. D.; TALAMONI, S. A.; GODINHO, H. P. Seasonal Reproduction of Yellowish *Myotis*, *Myotis levis* (Chiroptera: Vespertilionidae), from a Neotropical Highland. **Journal of Morphology**. 2013.
- BARQUEZ, R. M.; GIANNINI, N. P.; MARES, M. A. Guide to the bats of Argentina (Guía de los murciélagos de Argentina). **Special Publications, Oklahoma Museum of Natural History**. 119p, 1993.
- BEASLEY, L. J.; ZUCKER, I. Photoperiod influences the annual reproductive cycle of the male pallid bat (*Antrozous pallidus*). **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 70, p. 567-573, 1984.
- 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). **General and Comparative Endocrinology**. v. 185, p. 80–89, 2013a.
- BEGUELINI, M. R.; GÓES, 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**. 2013b.
- 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. **Anatomical Record**. v. 296, p. 156-167, 2013c.
- 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). **Microscopy Research and Technique**. v. 76, p. 1035–1049, 2013d.
- CRICHTON, E. G.; KRUTZSCH, P. H. Reproductive biology of bats. London: Academic Press. 2000.
- FAZZOLARI-CORRÊA, S. Aspectos sistemáticos, ecológicos e reprodutivos de morcegos na Mata Atlântica. **Tese Doutorado**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 158f, 1995.
- FLEMING, T. H. *Artibeus jamaicensis*: Delayed Embryonic Development in a Neotropical Bat. **Science, New Series**. v. 171, p. 402-404, 1971.

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.

GRAHAM, G. L. Seasonality of reproduction in Peruvian bats. Pp. 173–181 in Studies in Neotropical mammalogy, essays in honor of Philip Hershkovitz (B. D. Patterson and R. M. Timm, eds.). **Fieldiana: Zoology (New Series)**. v. 39, p. 1–506, 1987.

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

HANDLEY, C. O. New species of mammals from Northern South America: fruit-eating bats, genus *Artibeus* Leach. **Fieldiana: Zoology**. Chicago. v. 39, p. 163-172, 1987.

HOLLIS, L. *Artibeus planirostris*. **Mammalian Species**. New York. v. 775, p.1-6, 2005.

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.

KOMAR, C. M.; ZACHARACHIS-JUTZ, F.; CRETEKOS, C. J.; BEHRINGER, R. R.; RASWEILER IV, J. J. Polarized ovaries of the long-tongued bat, *Glossophaga soricina*: a novel model for studying ovarian development, folliculogenesis, and ovulation. **Anatomical Record**. v. 290, p. 1439–1448, 2007.

KOOPMAN, K. F. Biogeography of the bats of South America, p. 273-302. In: **Mammalian Biology in South America**. Mares, M. A.; Genaways, H. H. (Eds.). Special Publication Series Pymatuning Laboratory of Ecology, University of Pittsburgh. v. 6, 539p, 1982.

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

KRUTZSCH, P. H. Male reproductive patterns in nonhibernating bats. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 56, p. 333-344, 1979.

KRUTZSCH, P. H.; CRICHTON, E. G. Reproductive biology of the male little mastiff bat, *Mormopterus planiceps* (Chiroptera: Molossidae), in southeast Australia. **American Journal of Anatomy**. v. 178(4), p. 352-368, 1987.

LOBOVA, T. A.; MORI, S. A.; BLANCHARD, F.; PECKHAM, H.; CHARLES-DOMINIQUE, P. *Cecropia* as a food resource for bats in French Guiana and the significance of fruit structure in seed dispersal and longevity. **American Journal of Botany**. v. 90(3), p. 388-403, 2003.

LOPEZ, L. E.; VAUGHAN, C. Observations on the role of frugivorous bats as seed dispersers in Costa Rican secondary humid forests. **Acta Chiropterologica**. v. 6(1), p. 111-119, 2004.

MARSHALL, A. J.; CORBET, P. S. The breeding biology of equatorial vertebrates: reproduction of the bat *Chaerephon hindei* Thomas at latitude 0°26'N. **Proceedings of the Zoological Society**. v. 132, p. 607-616, 1959.

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(4), p. 303-307, 2012.

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, 2013.

NOGUEIRA, M. R.; de LIMA, I. P.; MORATELLI, R.; TAVARES, V. C.; GREGORIN, R.; PERACCHI, A. L. Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. **Check List**. v. 10, p. 808-821, 2014.

PACHECO, S. M. Biologia reprodutiva, desenvolvimento pré e pós-natal e maturidade sexual em morcegos da região sul, Brasil (Chiroptera, Phyllostomidae, Vespertilionidae, Molossidae). **Tese Doutorado**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 115p, 2001.

RASWEILER IV, J.J. Spontaneous decidual reactions and menstruation in the black mastiff bat, *Molossus ater*. **The American Journal of Anatomy**. v. 191, p. 1-22, 1991.

RASWEILER IV, J. J.; BADWAIK, N. K. Delayed development in the short-tailed fruit bat, *Carollia perspicillata*. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 109, p. 7-20, 1997.

RASWEILER IV, J. J.; BADWAIK, N. K.; MECHINENI, K.V. Selectivity in the transport of spermatozoa to oviductal reservoirs in the menstruating fruit bat, *Carollia perspicillata*. **Reproduction**. v. 140, p. 743-757, 2010.

RASWEILER IV, J. J.; BONILLA, H. Menstruation in short-tailed fruit bats (*Carollia* spp.). **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 95, p. 231-248, 1992.

REIS, S.F. Biologia reprodutiva de *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (Chiroptera, Phyllostomidae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1980

REIS, N. L.; PERACCHI, A. I.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. Ordem Chiroptera. In: **Mamíferos do Brasil**. Universidade Estadual de Londrina. v. 1, p. 153-230, 2006.

SIMMONS, N.B. Order Chiroptera. In: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference. 3ª ed. Baltimore: John Hopkins University Press. v. 1, p. 312-529, 2005.

SIMMONS, N.B. Estimating diversity: How many species of bats are there? In: **Proceedings of the 15th International Bat Research Conference**. Prague, Czech Republic. August 2010.

TADDEI, V. A. The reproduction of some Phyllostomidae (Chiroptera) from the northwestern region of the State of São Paulo. **Boletim de Zoologia, Universidade de São Paulo**. v. 1, p. 313-330, 1976.

TADDEI, V. A. Biologia reprodutiva de Chiroptera: perspectivas e problemas. **Interfaces**. v. 6, p. 1-18, 1980.

WANG, Z.; LIANG, B.; RACEY, P.; WANG, Y. L.; ZHANG, S. Y. Sperm storage, delayed ovulation and menstruation of the female Rickett's big-footed bat (*Myotis ricketti*). **Zoological Studies**. v. 47, p. 215-221, 2008.

WILLIG, M. R. Reproductive patterns of bats from Caatingas and Cerrado biomes of Northeast Brazil. **Journal of Mammalogy**. 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.

IV. CAPÍTULO 1

**Morfologia dos ovários de *Artibeus planirostris*
(Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do
ciclo reprodutivo, com ênfase no processo de
foliculogênese**

Artigo a ser submetido à publicação na revista “Journal of Morphology”.

Morfologia dos ovários de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do ciclo reprodutivo, com ênfase no processo de foliculogênese

Dianelli Lisboa Caun^a; Larissa Mayumi Bueno^a; Sebastião Roberto Taboga^b; Mateus Rodrigues Beguelini^c; Eliana Morielle-Versute^a

^aDepartamento de Zoologia e Botânica, UNESP – Univ. Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil;

^bDepartamento de Biologia, UNESP – Univ. Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil;

^cCentro das Ciências Biológicas e da Saúde, UFOB – Univ. Federal do Oeste da Bahia, Barreiras, Bahia, Brasil.

*Autor Correspondente: morielle@ibilce.unesp.br (E. Morielle-Versute).

Resumo

Estudos recentes têm demonstrado interessantes características no padrão reprodutivo feminino em morcegos tropicais, que vão desde ovários polarizados, ovulação preferencial, alternada ou dupla e ovulação tardia e retardos no desenvolvimento embrionário. Considerando a diversidade morfológica e fisiológica dos padrões reprodutivos encontrados em morcegos, ainda permanecem como um dos grupos menos conhecidos em relação a esses aspectos. O objetivo do presente estudo foi caracterizar as variações morfológicas dos ovários durante diferentes fases do ciclo reprodutivo de *Artibeus planirostris* por meio de análises anatômicas, histológicas, biométricas e morfométricas, com ênfase no processo de foliculogênese. Os ovários de *A. planirostris*, apresentaram polaridade aparente, com os folículos primordiais restritos a uma zona localizada em apenas um lado do ovário, a partir da qual os folículos são recrutados para posterior crescimento e desenvolvimento. Ambos os ovários apresentaram corpo lúteo, indicando que são funcionais, porém não podem ser considerados bilateralmente simétricos, sendo o corpo lúteo encontrado preferencialmente no ovário esquerdo. Os ovários durante a gravidez apresentaram diferenças significativas entre si, evidenciando regressão ovariana do ovário sem corpo lúteo. Quanto à foliculogênese, *A. planirostris* seguiu o padrão básico dos mamíferos, tendo início com o recrutamento de folículos primordiais, visando seu crescimento e desenvolvimento, podendo se tornar um folículo maduro ou morrer por atresia.

Palavras-chave: Phyllostomidae, ciclo reprodutivo, ovário polarizado, assimetria ovariana, foliculogênese.

1. Introdução

A ampla distribuição geográfica dos morcegos e a variação dos fatores abióticos como chuvas, temperatura e disponibilidade de alimentos, influenciam diretamente as características reprodutivas desses mamíferos (Fleming et al., 1972). A diversidade morfológica e fisiológica dos padrões reprodutivos exibidos pelas espécies de Chiroptera constituem evidências da grande plasticidade no seu comportamento reprodutivo. Contudo, poucos são os estudos caracterizando detalhadamente as estruturas anatômicas reprodutivas internas das espécies (Fazzolari-Corrêa, 1995).

Artibeus planirostris (Spix, 1823) pertence a Phyllostomidae que, dentre todas as famílias de mamíferos, é a mais diversificada em termos de estratégias alimentares. É um morcego frugívoro, considerado responsável pela dispersão de sementes de numerosas plantas, cumprindo um importante papel na manutenção da heterogeneidade de alguns ecossistemas (Hollis, 2005).

As espécies de morcegos desta família são caracterizadas por apresentar variações nas suas estratégias reprodutivas (Hood e Smith, 1983). A análise das estruturas reprodutivas em machos de *A. planirostris* (Beguelini et al., 2013) revelou um padrão continuamente ativo na produção de espermatozoides durante todo ano, embora apresentem dois picos, um em setembro e outro em fevereiro. Os autores propõem que os machos desenvolveram estes picos de espermatogênese para sincronizar com o ciclo reprodutivo da fêmea, caracterizado por um padrão poliétrico bimodal (Willig, 1985).

Existem várias especializações reprodutivas desenvolvidas pelas fêmeas de morcegos. Uma das especializações é a polarização dos ovários (Komar et al., 2007), nos quais os folículos primordiais encontram-se restritos a uma área específica, de onde são recrutados para o crescimento e desenvolvimento. Outra especialização é a ovulação preferencial, alternada ou dupla (Crichton e Kruttsch, 2000), na qual são exemplos a dominância do ovário direito em Molossidae, a dominância completa do lado esquerdo em Megadermatidae, ou, no caso dos Phyllostomidae, uma forte tendência de o ovário direito e esquerdo ovularem alternadamente em ciclos sucessivos (Wimsatt, 1979). Há ainda a ovulação tardia (Abhilasha e Krishna, 1996) e os retardos no desenvolvimento embrionário, comum em algumas espécies hibernantes e relatado para *Artibeus jamaicensis* Leach, 1821 (Fleming, 1971; Rasweiler e Badwaik, 1997), com a utilização de alguns mecanismos, entre eles, o armazenamento de espermatozoides, o retardo na implantação do embrião e a diapausa no desenvolvimento embrionário. Essas estratégias visam retardar o nascimento dos filhotes para épocas mais favoráveis, com maior

disponibilidade de alimentos e melhores condições climáticas (Taddei, 1996). Não há até o presente estudo qualquer informação deste tipo para *A. planirostris*.

Na maioria dos mamíferos, incluindo morcegos, o ovário é caracterizado por constituir-se histologicamente de duas regiões principais, o córtex e a medula. Em indivíduos adultos o córtex é constituído principalmente pelos folículos e pelo corpo lúteo (quando presente); e a medula, por sua vez, contém vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. A produção de gametas (ovogênese) e de hormônios esteroides são as duas funções principais do ovário (Crichton e Krutzsch, 2000).

A foliculogênese é o processo que envolve o crescimento e desenvolvimento de um folículo primordial até alcançar a maturidade total e ser liberado do ovário. Este processo é dividido em três passos principais, a iniciação, o crescimento do folículo, e a seleção e maturação do folículo pré-ovulatório (Gougeon, 2004). O crescimento se dá por proliferação celular e formação do antro folicular, e o desenvolvimento (maturação), por citodiferenciação de células e tecidos do folículo. Os folículos não selecionados (maioria) não completam o processo e acabam morrendo por atresia - processo apoptótico (Gougeon, 2004; Erickson, 2012).

As transformações ocorridas nos folículos no processo de maturação são reconhecidas como estágios foliculares de maturação, e no esforço de entender os eventos da foliculogênese em mamíferos, foram propostos alguns modelos de classificação para esse evento em animais, contudo os vários estudos mostram que há algumas variações entre as espécies, o que ocasiona uma variação no número de estágios reconhecidos (Pedersen e Peters, 1968; Myers et al., 2004; Gougeon, 2004; Griffin et al., 2006).

No modelo de classificação de Pedersen e Peters (1969), proposto para o ovário de camundongos, foram reconhecidos oito tipos foliculares, levando em conta, principalmente o diâmetro do oócito, a morfologia e o envoltório dos folículos (número de células foliculares). Os estudos mais recentes, têm preferido utilizar outras características para diferenciar os estágios, e nessas, além do número de camadas de células na granulosa, tem sido considerada a morfologia das células que compõem a camada, bem como o tamanho e presença do antro (Myers et al., 2004; Gougeon, 2004; Griffin et al., 2006). De forma geral em um mamífero modelo serão reconhecidas quatro categorias para os folículos, primordial, primário, secundário e terciário, sendo este último subdividido em vários estágios de acordo com a presença e tamanho do antro (Griffin et al., 2006; Erickson, 2012).

Os folículos também são responsáveis pela produção de hormônios esteroides e proteicos requeridos para a manutenção do ciclo ovariano, das características sexuais

secundárias e preparação do útero para a implantação e, após a ovulação, o corpo lúteo fornece os hormônios essenciais para a manutenção da gravidez. A manutenção desse padrão cíclico funcional é controlada por gonadotrofinas hipofisárias (FSH e LH) e hormônios esteroides ovarianos (estradiol e progesterona) que se ligam aos seus receptores específicos no ovário (Findlay et al., 2009).

As análises desses eventos em espécies de morcegos têm revelado que o desenvolvimento dos folículos segue o padrão típico dos mamíferos eutherianos, como é o caso de *Miniopterus fraterculus* Thomas e Schwann, 1906 (Bernard, 1980) e de muitos filostomídeos, entre eles *A. jamaicensis*, *Glossophaga soricina* (Pallas, 1766) e *Sturnira lilium* (E. Geoffroy, 1810) (Antonio-Rubio, et al., 2013).

Considerando a diversidade morfológica e fisiológica dos padrões reprodutivos encontrados em Chiroptera e a escassez de informações para *A. planirostris*, o objetivo do presente estudo foi caracterizar as variações morfológicas dos ovários durante diferentes fases do ciclo reprodutivo de *Artibeus planirostris* por meio de análises anatômicas, histológicas, biométricas e morfométricas, com ênfase no processo de foliculogênese.

2. Material e Métodos

2.1. Espécimes Analisados, Coletas e Licença

Foram utilizadas 32 fêmeas sexualmente adultas de *A. planirostris*, capturadas em coletas realizadas entre setembro de 2013 a setembro de 2014, no noroeste do estado de São Paulo - Brasil (20°49'11'' S, 49°22'45''W), autorizadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente – IBAMA (Processo: 02027.001957/2006-02). Estas coletas foram realizadas no período noturno e consistiram na montagem de “redes de espera”, também conhecidas como redes de neblina ou “mist nets”, onde os morcegos, ao se chocarem, ficam retidos. A condição adulta dos espécimes foi confirmada com base no peso corporal e completa ossificação das epífises das falanges e metacarpos (de KNEGT et al., 2005).

Após a captura e identificação dos animais, as fêmeas foram devidamente acondicionadas em gaiolas individuais (40 x 20 x 20 cm) com água *ad libitum*, durante o tempo mínimo necessário aos procedimentos em laboratório (geralmente uma noite). Na manhã posterior, as amostras foram coletadas para as análises, sendo os procedimentos experimentais autorizados pela Comissão de Ética no Uso do Animal do IBILCE/UNESP (Processo: 013/09-CEEA).

2.2. Delineamento Experimental

A condição reprodutiva de cada fêmea foi avaliada, e as mesmas separadas em três grupos amostrais: lactantes (glândulas mamárias e mamilos evidentes, com secreção de leite após leve compressão das mamas), grávidas (gravidez detectada por inspeção/exame abdominal e após dissecação) e não ativas reprodutivamente (abdome normal e mamilos não evidentes) (Zortéa, 2003). As fêmeas grávidas, por sua vez, foram divididas em três subgrupos de acordo com o peso do complexo útero-ovários: grávida I (média dos pesos: $0,16\text{g} \pm 0,02$); grávida II (média: $2,59\text{g} \pm 0,13$) e grávida III (peso do complexo maior que cinco gramas). Este último subgrupo, com maior peso do complexo, não foi utilizado nas análises estatísticas por apresentarem um número de indivíduos abaixo do aceitável para as análises ($n > 5$).

Após a morte dos animais pelo aprofundamento da anestesia (80mg ketamina + 20mg de xilasina por quilograma do animal), foi feita uma incisão no terço inferior do abdome e os ovários foram retirados, pesados, fixados em solução de metanol: clorofórmio: ácido acético (6:3:1) durante três horas a 4°C , desidratados em série graduada de etanol, clarificados em xilol e então incluídos em parafina. Posteriormente foram obtidas secções seriadas de 5 μm de espessura, as quais foram submetidas às análises histológicas e morfométricas.

Os animais foram fixados com formol, preservados em álcool 70°GL e depositados como espécimes-testemunho na Coleção Científica de Chiroptera (DZSJRP) do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas (IBILCE/UNESP) de São José do Rio Preto, SP.

2.3. Análise Histológica

As secções foram coradas com Hematoxilina-Eosina (Ribeiro e Lima, 2000) e Periodic – Acid & Schiff (PAS), e as lâminas foram primeiramente analisadas e fotografadas em microscopia óptica (Scanner de imagens Olympus BX-VCB), com auxílio de software de captura e análise de imagem (*software* VS-ASW), para visualização completa do ovário e, posteriormente, analisadas e fotodocumentadas em fotomicroscópio Olympus BX60 com analisador de imagens Image-Pro-Plus para Windows, para análise específica dos componentes da estrutura ovariana.

2.4. Análise Biométrica e Morfométrica

Foram avaliados para cada animal os pesos: corporal, do complexo útero-ovários e dos ovários direito e esquerdo. Foram registrados também, para cada ovário, os seguintes parâmetros: diâmetro, área e volume dos ovários e do corpo lúteo (quando presente), e frequência de cada tipo de folículo.

Utilizando-se o software para análise de imagens, Image-Pro-Plus, versão 6.0 (© Media Cybernetics) para Windows®, e assumindo o formato esférico dos ovários e do corpo lúteo, foram calculados os diâmetros usando a seguinte equação:

$$\text{Diâmetro (D) (mm)} = \sqrt{ab}$$

Onde (a) refere-se a medida do diâmetro dos ovários e do corpo lúteo, e (b) o diâmetro no ângulo de 90° (Willians, 1977). A média do diâmetro (D) foi calculada para cada ovário e corpo lúteo e posteriormente utilizada para o cálculo da área e do volume.

$$\text{Área do ovário/corpo lúteo (mm}^2\text{)} = 4\pi r^2, \text{ onde } r = \frac{D}{2}$$

$$\text{Volume do ovário/corpo lúteo (mm}^3\text{)} = \frac{4}{3} \pi r^3$$

A frequência dos tipos de folículos foi avaliada em no mínimo cinco cortes para cada animal, com início no primeiro corte e os demais a cada múltiplo de cinco, ou seja, no 1º, 5º, 10º e assim por diante. A frequência foi estimada pela contagem de folículos (primordial, primário, secundário, antral, etc.), com o núcleo do ovócito incluído no plano de corte, e expressa como percentagem da população total.

2.5. Análise Estatística

Os valores dos pesos e medidas foram representados pelas médias e desvios padrão, e analisados inicialmente pela Análise de Variância (One-way ANOVA) e, posteriormente pelo teste de Tukey para comparações múltiplas, com nível de significância $P < 0.05$, usando o programa Statistica 6.0 (Copyright©Statsoft, Inc. 1984-1996).

3. Resultados

3.1. Histologia geral do ovário

O ovário de *A. planirostris* é constituído por duas regiões distintas: a medula, na porção central do ovário, formada por tecido conjuntivo frouxo contendo uma massa de vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos; e o córtex (periférico), circundando a medula, contendo folículos ováricos em diversos estágios de maturação inseridos em tecido conjuntivo, e o corpo

lúteo (quando presente) (Figura 1A e 1B). Cabe destacar que o limite entre a medula e o córtex é indistinto. A superfície do ovário é revestida por um epitélio, que varia do tipo cúbico a pavimentoso, e uma camada de tecido conjuntivo denominada túnica albugínea, pode ser vista entre o epitélio do ovário e o córtex subjacente (Figura 1C e 1D).

Foi observada uma regionalização (polaridade) aparente quanto à localização dos folículos, de tal forma que todos os folículos primordiais se dispõem ou concentram-se (restritos) em uma zona localizada em apenas um lado do ovário, a partir da qual são recrutados para posterior crescimento e desenvolvimento (Figura 1A e 1B).

O corpo lúteo foi observado nos dois ovários, ou seja, no direito ou no esquerdo, indicando que ambos os ovários são funcionais (aptos a ovular). Contudo houve diferença entre os ovários quanto à presença de corpo lúteo. Dos 32 animais analisados, 21 apresentaram ovário com corpo lúteo, e destes 16 foram observados no ovário esquerdo (76,2%), contra apenas cinco no ovário direito (23,8%).

3.2. Foliculogênese

Segundo Erickson (2012), foram reconhecidos cinco tipos/categorias para os folículos: primordiais, primários, secundários, terciários e antral.

Os folículos primordiais (Figura 2A), são caracterizados por apresentar uma única camada de células foliculares pavimentosas envolvendo um pequeno oócito, e a superfície externa limitada por uma lâmina basal. Foram encontrados em grandes quantidades nos ovários direito e esquerdo, localizados logo abaixo da túnica albugínea, em uma região específica do ovário. Com o desenvolvimento, o folículo passa a ser denominado primário, e nesses as células achatadas circunvizinhas proliferam e tornam-se cúbicas, mas ainda permanecem arrançadas em uma única camada, podendo ser visível o aumento de tamanho do oócito (Figuras 2B e C, 3A).

Após sucessivas divisões mitóticas, a única camada de células foliculares forma um epitélio estratificado, com múltiplas camadas de células granulosas dispostas circundando o núcleo, caracterizando um folículo secundário. Nesse estágio o folículo encontra-se envolto por uma bainha de células de tecido conjuntivo, conhecida como teca folicular (Figuras 2D e E, 3B e C). A porção interna dessa bainha é denominada teca interna e a porção externa é denominada teca externa. A teca interna é a camada mais fina constituída de células secretoras cúbicas e é ricamente vascularizada. A teca externa contém, principalmente, células de músculo liso e feixes de fibras colágenas; o oócito, por sua vez, segrega a zona pelúcida, rica em glicosaminoglicanas evidenciada pela reação com PAS (Figura 3B-D).

No folículo terciário, o folículo e o oócito aumentam de tamanho e forma-se uma pequena cavidade nas células da granulosa caracterizada pelo acúmulo de líquido folicular (Figura 2F).

Os folículos nesses estágios iniciais de desenvolvimento, ou seja, primário, secundário e terciário também podem ser denominados folículos pré-antrais, pois não há ainda a formação do antro, e são divididos com base no número de células da camada da granulosa, no desenvolvimento das camadas da teca e na formação de uma pequena cavidade.

À medida que o folículo aumenta, o acúmulo de líquido folicular também aumenta, resultando na formação de uma cavidade interna denominada antro. A presença do antro é característica de um folículo pré-ovulatório, também denominado folículo antral (Figura 2G). Este sofre um aumento progressivo de tamanho, mas mantém a mesma complexidade morfológica, até tornar-se um folículo maduro, em que o oócito encontra-se incrustado no *cumulus oophorus*, cujas células permanecem após a ovulação, formando a corona radiata (Figura 2H).

As análises histológicas evidenciaram a existência do corpo hemorrágico, consequente do rompimento de um folículo pré-ovulatório, em que a membrana basal se rompe, os vasos sanguíneos da teca interna invadem a camada de células foliculares e a cavidade antral é preenchida por sangue (Figura 4A). Em *A. planirostris* apenas um folículo torna-se maduro e os outros, que não atingiram a maturidade, foram reconhecidos como folículos atrésicos. O processo de atresia pode ser observado em diferentes estágios da foliculogênese, apresentando algumas características citológicas de morte celular, incluindo a presença de núcleos picnóticos, condensação de cromatina e liberação de corpos apoptóticos, muitas vezes, espalhados por todo o antro (Figura 4B). Além disso, a atresia pode ser observada em folículos que apresentam uma lacuna entre a camada da granulosa e a zona pelúcida (Figura 4C), o que não ocorreu nos folículos saudáveis, pois as camadas encontravam-se adjacentes; ou pela permanência da zona pelúcida no local onde havia o folículo, por ser mais resistente que as células da granulosa (Figura 4D).

3.3. Quantificação folicular

A composição dos folículos mostrou-se importante na diferenciação das fases do ciclo reprodutivo. Nas fêmeas não ativas reprodutivamente, os ovários direito e esquerdo mostraram um padrão semelhante na sua composição, apresentando um aglomerado de folículos primordiais (cerca de 80% do total de folículos), bem como folículos nos diferentes estágios de maturação (pré-antrais e antrais) migrando em direção à região medular. Ambos os ovários se

apresentaram ativos, ou seja, passíveis de ovular, mas também exibiram quantidades significativas de folículos atrésicos (cerca de 10% do total) (Figura 5A e B).

As análises das fêmeas grávidas I e II mostraram diferenças acentuadas nos ovários durante gravidez. No ovário em que a ovulação ocorreu o corpo lúteo foi observado. No ovário que não ovulou, não houve formação do corpo lúteo, ocorrendo um processo de regressão. Isto fez com que houvesse uma diferença na composição de folículos entre esses ovários, principalmente quanto ao número de folículos atrésicos, que no ovário com corpo lúteo chegou a 20% (Figura 6 A-D), enquanto no regredido alcançou valores próximos a 30% (Figura 5 C-F).

No ovário com corpo lúteo notou-se que este ocupa uma porção considerável do ovário durante a gravidez, chegando a 70% do volume total e, portanto, reduzindo o espaço ocupado pelos folículos. Em consequência foi encontrado um número menor de folículos, em todos os estágios de maturação, no ovário com corpo lúteo, quando comparado ao ovário regredido (sem corpo lúteo) (Tabela 1).

Tabela 1. Número total de folículos, em todos os estágios de maturação, presentes nos ovários com e sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* nas quatro fases do ciclo reprodutivo.

Grupos amostrais	Número de Folículos	
	Ovário sem Corpo Lúteo	Ovário com Corpo Lúteo
Não ativas reprodutivamente	1104	-
Grávida I	1023	642
Grávida II	875	559
Lactantes	679	420

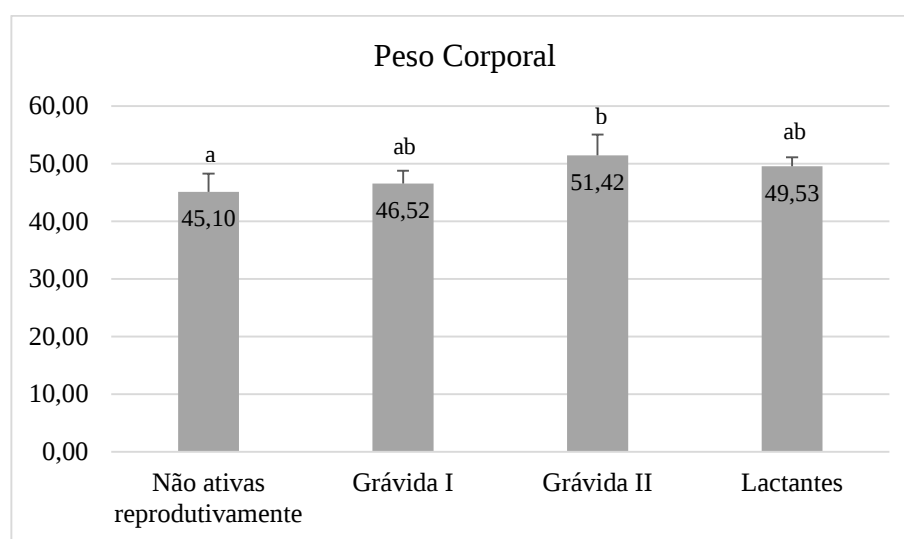
A diferença entre os ovários durante a gravidez, persistiu na fase de lactação, ou seja, o ovário que sofreu a regressão apresentou um número maior de folículos atrésicos (cerca de 40%) (Figura 5G e 5H) se comparado ao ovário que ovulou (quase 30%) (Figura 6E e 6F).

A comparação das variações nos ovários entre as três condições analisadas (não ativas reprodutivamente, grávidas e lactantes), mostrou um aumento significativo de folículos atrésicos em ambos os ovários (em proporções diferentes no ovário com e sem corpo lúteo, como visto acima), acompanhado de uma redução, também significativa, da porcentagem de folículos primordiais (Figuras 5 e 6).

3.4. Análises Biométricas e Morfométricas

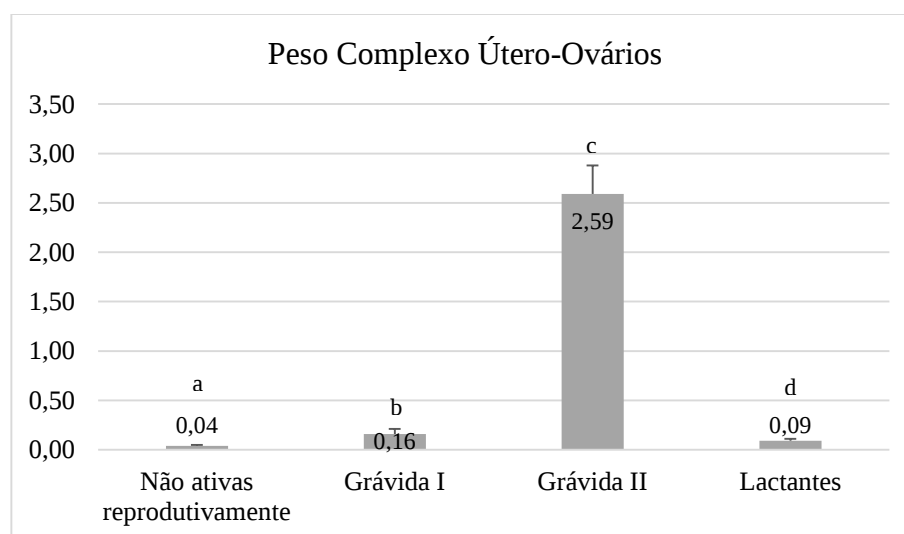
O peso dos animais diferiu significativamente apenas entre os grupos de fêmeas não ativas reprodutivamente e fêmeas grávidas II (Figura 7), ou seja, aquelas que apresentavam o peso do complexo útero-ovários próximo a 2,5 gramas. Os pesos observados nas duas categorias apresentaram valores máximos para o peso corporal de 50,09g e 55,64g respectivamente.

Em relação aos pesos do complexo útero-ovários houve diferença significativa entre todos os grupos amostrais (Figura 8), o que já era esperado, uma vez que o peso do complexo aumenta à medida que a gravidez se desenvolve.



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$).

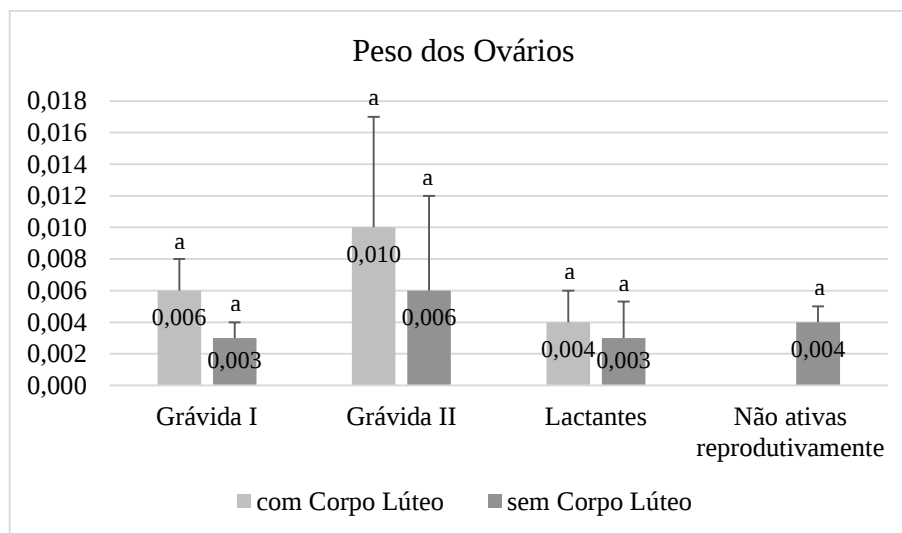
Figura 7. Comparação dos pesos corporais (gramas) das fêmeas de *Artibeus planirostris* nas quatro fases do ciclo reprodutivo.



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$).

Figura 8. Comparação dos pesos (gramas) do complexo útero-ovários das fêmeas de *Artibeus planirostris* nas quatro fases do ciclo reprodutivo.

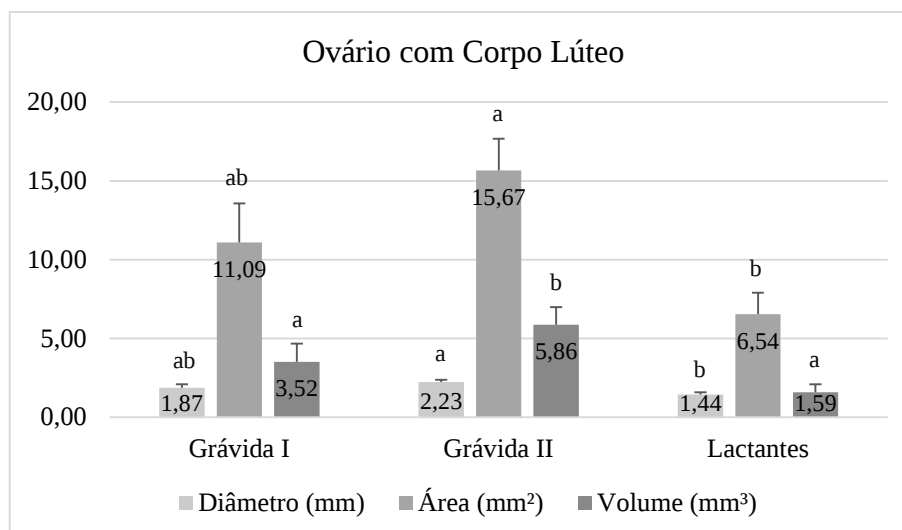
Em relação aos pesos dos ovários é possível notar que não houve diferença significativa entre os grupos amostrais (Figura 9). Cabe ressaltar que os ovários com corpo lúteo apresentam um peso relativamente maior quando comparados com os ovários sem corpo lúteo, tanto nas grávidas quanto nas fêmeas lactantes, evidenciando o processo de regressão do ovário que não ovulou (sem corpo lúteo).



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$).

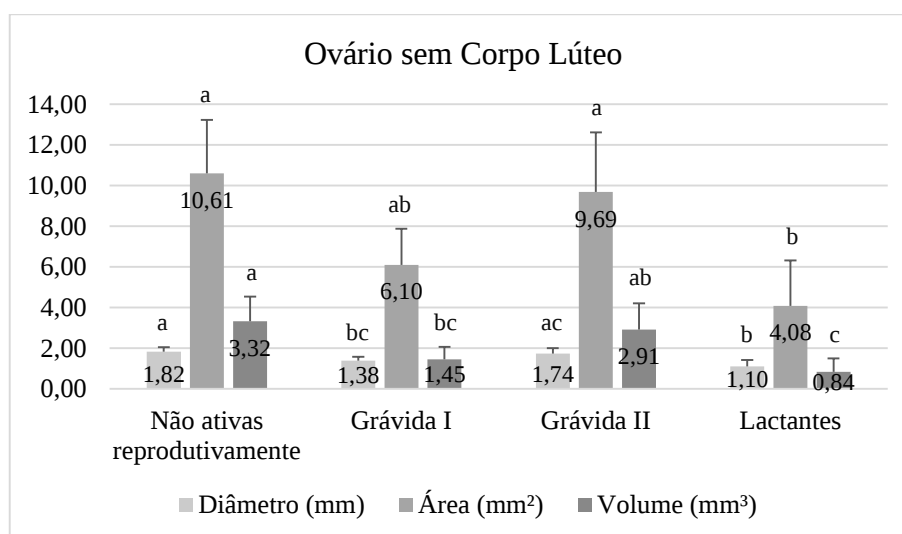
Figura 9. Comparação dos pesos (gramas) dos ovários com e sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* nas quatro fases do ciclo reprodutivo.

No ovário com corpo lúteo, onde ocorreu a ovulação, percebe-se um pequeno aumento no diâmetro e na área durante a gravidez, tornando-se significativo se avaliarmos o volume. Com o desenvolvimento da gravidez, o corpo lúteo regride, e os ovários sofrem uma redução significativa do diâmetro, área e volume no período de lactação. Já no ovário sem corpo lúteo, onde não ocorreu a ovulação, o processo de regressão do ovário é antecipado, ou seja, ocorre uma diminuição do diâmetro, área e volume no início da gravidez e na fase de lactação, característica do processo de regressão.



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$).

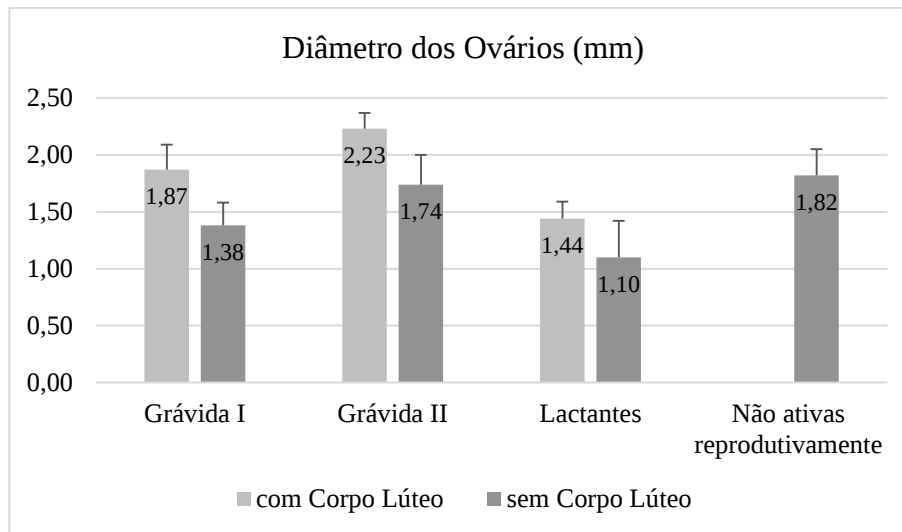
Figura 10. Comparação do diâmetro, área e volume dos ovários com corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* durante três fases do ciclo reprodutivo.



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$).

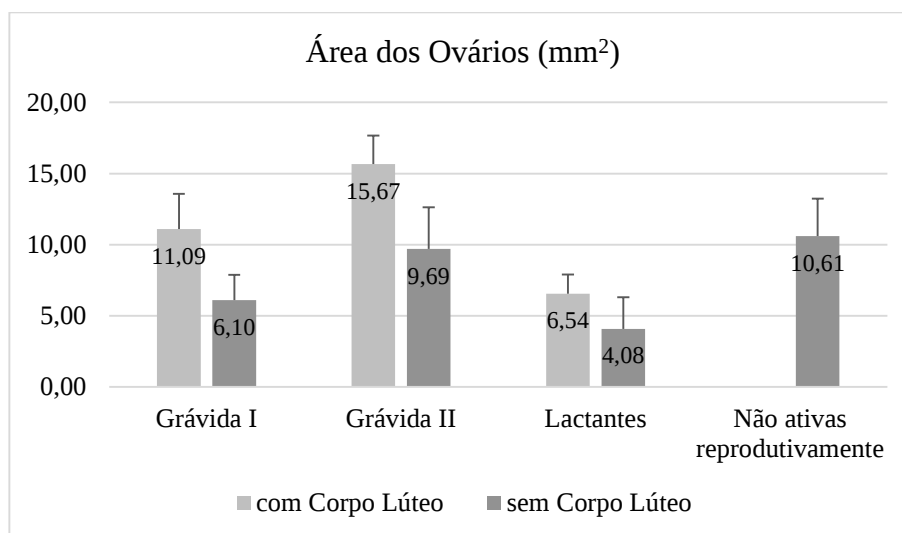
Figura 11. Comparação entre o diâmetro, área e volume dos ovários sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* nas quatro fases do ciclo reprodutivo.

Na comparação entre os ovários com e sem corpo lúteo na mesma fase do ciclo reprodutivo, percebe-se que o diâmetro, área e volume do ovário sem corpo lúteo são menores que do ovário com corpo lúteo, evidenciando, mais uma vez, o processo de regressão do ovário que não ovulou (Figuras 12, 13 e 14).



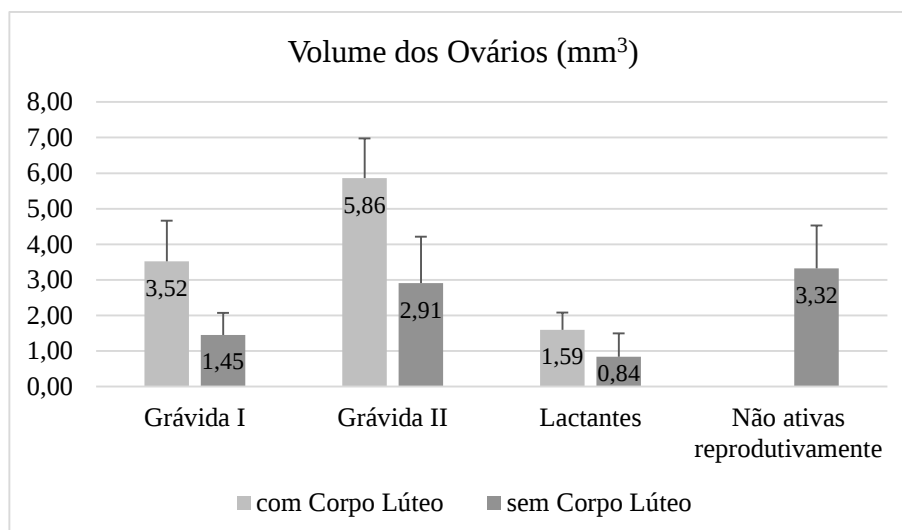
Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os ovários das fêmeas grávidas I e II.

Figura 12. Comparação do diâmetro dos ovários com e sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* em cada fase do ciclo reprodutivo.



Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os ovários das fêmeas grávidas I e II.

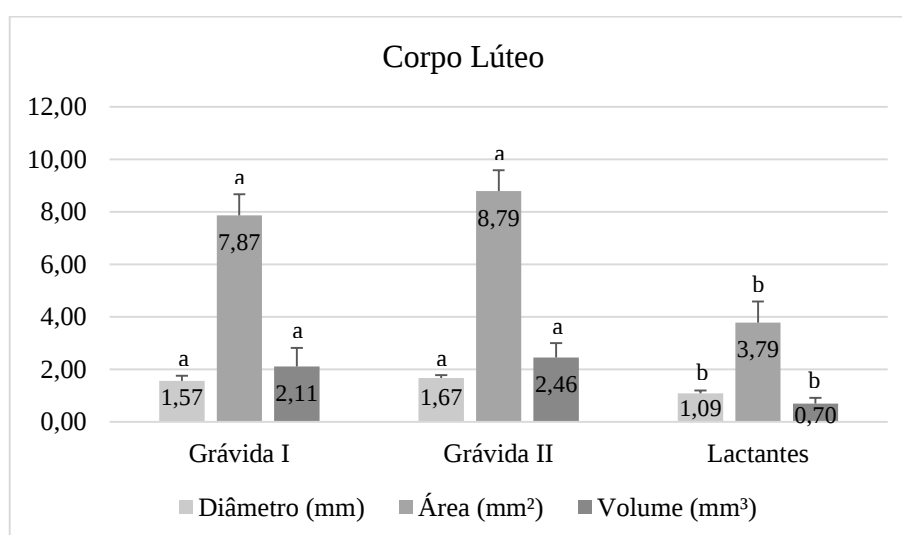
Figura 13. Comparação da área dos ovários com e sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* em cada fase do ciclo reprodutivo.



Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os ovários das fêmeas grávidas I e II.

Figura 14. Comparação do volume dos ovários com e sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris* em cada fase do ciclo reprodutivo.

Em relação ao corpo lúteo, verifica-se que eles mostram um pequeno aumento nos estágios iniciais da gravidez e uma diminuição significativa durante a fase de lactação (Figura 15), confirmando que o aumento e a posterior redução encontrados nos ovários com corpo lúteo se devem ao aumento e a redução do mesmo. Cabe ressaltar que durante a gravidez o corpo lúteo chegou a ocupar cerca de 70% do ovário.



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$).

Figura 15. Comparação do diâmetro, área e volume do corpo lúteo nos ovários das fêmeas de *Artibeus planirostris* durante três fases do ciclo reprodutivo.

4. Discussão

A estrutura do ovário de mamíferos apresenta um padrão geral bem definido, com uma região medular formada por tecido conjuntivo, onde se encontram células intersticiais, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos; e um córtex amplo, que circunda a medula, formado por tecido conjuntivo, onde se encontram os folículos em diversos estágios de maturação (Junqueira e Carneiro, 2008; Crichton e Krutzsch, 2000). Este padrão também é encontrado em muitas espécies de morcegos (Crichton e Krutzsch, 2000), como em *Pteropus giganteus* Brünnich, 1782 (Dorlikar et al., 2013), *Sturnira lilium*, *Sturnira tildae* de la Torre, 1959, *Artibeus fimbriatus*, *Artibeus lituratus* e *Artibeus obscurus* (Fazzolari-Corrêa, 1995).

No entanto, algumas espécies de morcegos desviam-se desse padrão geral, como é o caso de *G. soricina* que exibe uma polaridade ovariana, caracterizada por apresentar apenas uma porção do ovário recoberta por epitélio e ao fato de todos os folículos primordiais ficarem restritos a essa área. É dessa parte específica do ovário que os folículos são recrutados para o desenvolvimento e onde ocorre a ruptura folicular no momento da ovulação (Komar et al., 2007). Essa distribuição restrita dos folículos primordiais é encontrada em outros morcegos da família Phyllostomidae, como *Leptonycteris curasoae* Miller, 1900 (Hood e Smith, 1983) e da família Pteropodidae, como *Ptenochirus jagori* (Peters, 1861) (Heideman e Powell, 1998).

Artibeus planirostris, assim como outros filostomídeos, entre eles *A. jamaicensis*, *G. soricina* e *S. lilium* (Antonio-Rubio et al., 2013) apresentou ovários com uma polaridade aparente, com os folículos primordiais restritos a uma zona localizada em apenas um lado do ovário, a partir da qual os folículos são recrutados para posterior crescimento e desenvolvimento. Apesar disso, esse padrão não ocorre em todos os filostomídeos, pois os ovários das fêmeas de *C. perspicillata* e *Desmodus rotundus* não se mostraram polarizados (Bonilla e Rasweiler, 1974; Quintero e Rasweiler, 1973).

A organização anatômica do ovário de forma polarizada, pode ser interessante para analisar os fatores responsáveis pelo recrutamento e desenvolvimento dos folículos, bem como da ruptura folicular, pois nos animais que apresentam essa polaridade, todos esses eventos são restritos a áreas específicas, o que facilitaria o estudo (Crichton e Krutzsch, 2000).

Essa variação no arranjo dos ovários das diferentes espécies de morcegos não é surpresa, tendo em vista que os quirópteros apresentam características variadas no ciclo reprodutivo, bem como inúmeras especializações, entre as quais pode-se destacar a assimetria dos órgãos reprodutivos, caracterizada pela dominância unilateral de um ovário, do útero ou de ambos (Wimsatt, 1979). Padrões de assimetria foram documentados em diversas espécies de morcegos, com casos de dominância completa ou parcial do ovário direito em espécies das

famílias Molossidae, Emballonuridae, Mormoopidae, Rhinolophidae; e do ovário esquerdo em Emballonuridae, Megadermatidae, Mormoopidae, Natalidae, Rhinolophidae (Pillai e Sastry, 2012). A assimetria também tem sido verificada em outras espécies de mamíferos, como, por exemplo, um roedor da Patagônia que ovulava apenas pelo ovário direito (Weir, 1971). Embora tenha sido documentada em outros ordens de mamíferos (Mossman e Duke, 1973) em nenhuma delas o padrão de assimetria foi tão frequente quanto os registrados em morcegos (Wimsatt, 1979; Pillai e Sastry, 2012).

Essa assimetria reprodutiva observada em Chiroptera, tem sido interpretada como estando diretamente relacionada ao número de filhotes, que em geral é um por gestação, uma vez que, as poucas espécies que tem mais de um filhote são consideradas bilateralmente simétricas, ou seja, ambos os ovários são funcionais e ovulam com a mesma frequência (Pillai e Sastry, 2012).

Apesar de Wimsatt (1979) ter pressuposto que existe uma forte tendência em filostomídeos de que os ovários direito e esquerdo ovulem alternadamente em ciclos sucessivos, como observado em *G. soricina* (Rasweiler, 1974), *C. perspicillata* (Bonilla e Rasweiler, 1974) e *D. rotundus* (Quintero e Rasweiler, 1973), algumas espécies são assimétricas, apresentando dominância do lado direito, como é o caso de *Macrotus californicus* (Bradshaw, 1962) (Crichton e Krutzsch, 1985) e *Macrotus mexicans* Wimsatt (citado por Rasweiler e Badwaik, 2000)

A funcionalidade de ambos os ovários em *A. planirostris* (Vicente et al., 2006) foi confirmada pela presença de corpo lúteo tanto no ovário esquerdo (76,2%), quanto no ovário direito (23,8%). Mesmo apresentando ambos os ovários funcionais, estes não ovularam na mesma frequência revelando um padrão preferencial, caracterizado pela dominância, ao menos parcial, do ovário esquerdo, o que poderia caracterizar uma assimetria parcial para os ovários, ou seja, *A. planirostris* não pode ser considerado bilateralmente simétrico.

De acordo com Erickson (2012) o processo de foliculogênese ocorre no córtex ovariano, onde é possível encontrar folículos nas diferentes fases de maturação, e está pautado em quatro eventos regulatórios que tem início com o recrutamento, crescimento e desenvolvimento de folículos primordiais, alcançados por meio de proliferação celular; o desenvolvimento do folículo pré-antral, envolvendo a citodiferenciação das células e tecidos do folículo e a formação do antro folicular. Por fim, após o desenvolvimento e maturação, o folículo pode ser selecionado e ter o oócito (circundado por células do cumulus e corona radiata) liberado do ovário, ou então morrer, por um mecanismo de morte programada chamado apoptose.

As análises histológicas realizadas em *A. planirostris* demonstraram que o crescimento e desenvolvimento dos folículos segue o padrão típico dos mamíferos, bem como o de outros morcegos, como *P. giganteus* (Dorlikar et al., 2013) e *Miniopterus fraterculus* Thomas e Schwann, 1906 (Bernard, 1980), sendo muito semelhante ao padrão observado em outras espécies de Stenodermatinae, como *S. lilium*, *S. tildae*, *A. fimbriatus*, *A. lituratus* e *A. obscurus* (Fazzolari-Corrêa, 1995). Nesses casos, o processo de foliculogênese dá-se início com um folículo primordial, onde o ovócito é envolto por uma única camada de células achatadas, que, ao tornarem-se cúbicas, dão origem ao folículo primário. A multiplicação dessas células formando uma camada (granulosa) origina um folículo secundário e, por fim, o acúmulo de líquido folicular entre essa camada, formando uma cavidade (antro), caracteriza um folículo terciário ou antral (Mossman e Duke 1973).

Os resultados do presente estudo mostraram que as fêmeas de *A. planirostris*, assim como outras espécies de morcegos (Fazzolari-Corrêa, 1995), são monovulares, uma vez que apenas um folículo torna-se maduro. Temos, então, a formação do corpo hemorrágico, consequente do rompimento do folículo pré-ovulatório, que sofrerá alterações morfofuncionais para originar o corpo lúteo. Dos inúmeros folículos observados no ovário, poucos atingem a maturidade, ou seja, a maioria acaba morrendo por um mecanismo de morte celular programada denominado apoptose. Os folículos em apoptose são denominados folículos atrésicos e são reconhecidos por apresentarem algumas alterações estruturais e funcionais, como, por exemplo, a formação de uma lacuna entre a camada da granulosa e a zona pelúcida; a permanência da zona pelúcida no local onde havia o folículo, por ser mais resistente que as células da granulosa; ou a presença de núcleos picnóticos, condensação de cromatina e liberação de corpos apoptóticos encontrados espalhados pelo antro (Bernard, 1980; Fazzolari-Corrêa, 1995; Krishna e Abhilasha, 2000; Dorlikar et al., 2013).

Após a ruptura do único folículo maduro, ocorre, por consequência, a formação de um único corpo lúteo, uma glândula endócrina e transitória, formada a partir do folículo ovulado, responsável pela manutenção inicial da gravidez. O corpo lúteo pode permanecer até o final da gravidez ou início da lactação, chegando a ocupar mais de 70% da área em corte do ovário (Fazzolari-Corrêa, 1995; Junqueira e Carneiro, 2008; Dorlikar et al., 2013).

A composição de folículos encontrada nas fêmeas grávidas de *A. planirostris* mostrou-se semelhante à encontrada em outras espécies de *Artibeus*, como em *A. fimbriatus*, *A. lituratus* e *A. obscurus*; e também em *Sturnira* (*S. lilium* e *S. tildae*) (Fazzolari-Corrêa, 1995). No ovário com corpo lúteo foram encontradas grandes quantidades de folículos primordiais, menor número de folículos primários e secundários, alguns folículos antrais, geralmente em atresia e

inúmeras cicatrizes de folículos atrésicos, com os restos de zona pelúcida no centro. O ovário sem corpo lúteo é menor e apresenta folículos primordiais, primários e secundários, além de uma grande quantidade de folículos antrais em atresia e de cicatrizes de corpos atrésicos.

Algumas características do ovário sem corpo lúteo (que não ovulou) foram semelhantes a outras espécies de morcegos: grande quantidade de folículos atrésicos, tamanho relativamente menor do que o ovário com corpo lúteo (Fazzolari-Corrêa 1995) e diminuição significativa do diâmetro, área e volume no início da gravidez, tanto em *P. giganteus* (Dorlikar et al., 2013), como em *A. planirostris* (presente estudo). Essas semelhanças revelam um processo de regressão sofrido por esse ovário, uma vez que, a manutenção inicial da gravidez se dá pelo corpo lúteo (Tomic et al., 2011) e, por consequência, pelo ovário que ovulou.

A análise conjunta dos resultados demonstrou algumas características reprodutivas típicas de *A. planirostris*, como a polarização dos ovários, o processo de regressão ovariana, bem como a assimetria reprodutiva, com dominância, ao menos parcial, do ovário esquerdo. Quanto ao processo de desenvolvimento dos folículos, *A. planirostris* segue o padrão básico dos mamíferos em geral e de outros morcegos, em particular.

5. Referências

- Abhilasha S, Krishna A. 1996. 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* 106:207-211.
- Antonio-Rubio NR, Porras-Gómez TJ, Moreno-Mendoza N. 2013. Identification of cortical germ cells in adult ovaries from three phyllostomid bats: *Artibeus jamaicensis*, *Glossophaga soricina* and *Sturnira lilium*. *Reproduction Fertility and Development* 25:825–836.
- Beguelini MR, Puga CCI, Taboga SR, Morielle-Versute E. 2013. Annual reproductive cycle of males of the flat-faced fruit-eating bat, *Artibeus planirostris* (Chiroptera: Phyllostomidae). *General and Comparative Endocrinology* 185:80–89.
- Bernard RTF. 1980. Female reproductive anatomy and development of ovarian follicles in *Miniopterus fraterculus*. *South African Journal of Zoology* 15:111-116.
- Bonilla H, Rasweiler IV JJ. 1974. Breeding activity, preimplantation development, and oviduct histology of the short-tailed fruit bat, *Carollia*, in captivity. *The Anatomical Record* 179:385–404.
- Crichton EG, Krutzsch PH. 1985. Reproductive biology of the female leaf-nosed bat, *Macrotus californicus*, in southwestern United States: I. A morphometric analysis of the annual ovarian cycle. *Am. J. Anat* 173:69-87.
- Crichton EG, Krutzsch PH. 2000. Reproductive biology of bats. London: Academic Press.

de Knecht LV, Silva JA, Moreira EC, Sales GL. 2005. Morcegos capturados no município de Belo Horizonte, 1999–2003. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 57:576–583.

Dorlikar AV, Dhamani AA, Charde PN, Mohite AS. 2013. Morphometric and histoarchitectural changes in the ovary of *Pteropus giganteus* (Brunnich) during various phases of reproductive cycle. *International Journal of Molecular Zoology* 3:32–41.

Erickson GF. 2002. Follicle growth and development. In: Gynecology and Obstetrics, Sciarra JJ, v. 5, c. 12.

Fazzolari-Corrêa S. 1995. Aspectos sistemáticos, ecológicos e reprodutivos de morcegos na Mata Atlântica [tese]. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 158p.

Findlay JK, Kerr JB, Britt K, Liew SH, Simpson ER, Rosario D, Drummond A. 2009. Ovarian physiology: follicle development, oocyte and hormone relationships. *Animal Reproduction* 6:16–19.

Fleming, TH. 1971. *Artibeus jamaicensis*: delayed embryonic development in a neotropical bat. *Science, New Series* 171:402–404.

Fleming TH, Hooper ET, Wilson DE. 1972. Three Central American bat communities: structure, reproductive cycles, and movements. *Ecology* 53:555–569.

Gougeon A. 2004. Dynamics of human follicular growth: morphologic, dynamic, and functional aspects. In: Leung P, Adashi E (eds). *The Ovary Elsevier Academic Press*.

Griffin J, Emery BR, Huang I, Peterson CM, Carrell DT. 2006. Comparative analysis of follicle morphology and oocyte diameter in four mammalian species (mouse, hamster, pig and human). *J Exp Clin Assisted Reprod* 3.

Heideman PD, Powell KS. 1998. Age-specific reproductive strategies and delayed embryonic development in an Old World fruit bat, *Ptenochirus jagori*. *Journal of Mammalogy* 79:295–311.

Hollis L. 2005. *Artibeus planirostris*. *Mammalian Species* 775:1–6.

Hood CS, Smith JD. 1983. Histomorphology of the female reproductive tract in phyllostomid bats. *Occasional Papers The Museum, Texas Tech University* 86:1–38.

Junqueira LCU, Carneiro J. 2008. *Histologia Básica*. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 524p.

Komar CM, Zacharachis-Jutz F, Cretekos CJ, Behringer RR, Rasweiler IV JJ. 2007. Polarized ovaries of the long-tongued bat, *Glossophaga soricina*: a novel model for studying ovarian development, folliculogenesis, and ovulation. *Anatomical Record* 290:1439–1448.

Krishna A, Abhilasha S. 2000. Proliferative activity of follicles and serum steroid concentration in *Scotophilus heathi* (vespertilionid bat) during periods of delayed ovulation. *Canadian Journal of Zoology* 78:1301–1308.

- Mossman HW, Duke KL. 1973. Comparative morphology of the mammalian ovary. The University of Wisconsin Press, Madison.
- Myers M, Britt KL, Wreford NGM, Ebling FJP, Kerr, JB. 2004. Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary. *Reproduction* 127, 569–580.
- Pedersen T, Peters H. 1968. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J Reprod Fertil* 17:555–557.
- Pedersen T. 1969. Follicle growth in the immature mouse ovary. *Acta Endocrinologica* (Copenh) 62, 117–132.
- Pillai S, Sastry M. 2012. A mini review of female reproductive asymmetry in microchiropteran bats with a special approach to the leaf-nosed bat, *Hipposideros speoris*. *International Journal of Current Science* 4:96–111.
- Ribeiro MG, Lima SR. 2000. Iniciação às técnicas de preparação de material para o estudo e pesquisa em morfologia. Belo Horizonte: SEGRAC-Editora e Gráfica Limitada. 106p.
- Taddei VA. 1996. Sistemática de Quirópteros. Bol. Inst. Pasteur, São Paulo 1:3-15.
- Tomac J, Cekinović D, Arapović J. 2011. Biology of the corpus luteum. *Periodicum Biologorum* 113:43–49.
- Zortéa M. 2003. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian cerrado. *Brazilian Journal of Biology* 63:159-168.
- Weir BJ. 1971. Some notes on reproduction in the Patagonian Mountain viscacha *Lagidium boxi* (Mammalia: Rodentia). *Journal of Zoology* 164:463- 467.
- Williams M. 1977. Quantitative methods in Biology, Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical.
- Willig MR. 1985. Reproductive patterns of bats from Caatingas and Cerrado biomes of Northeast Brazil. *Journal of Mammalogy* 66:668-681.
- Wimsatt WA. 1979. Reproductive asymmetry and unilateral pregnancy in Chiroptera. *Journal of Reproduction and Fertility* 56:345-357.

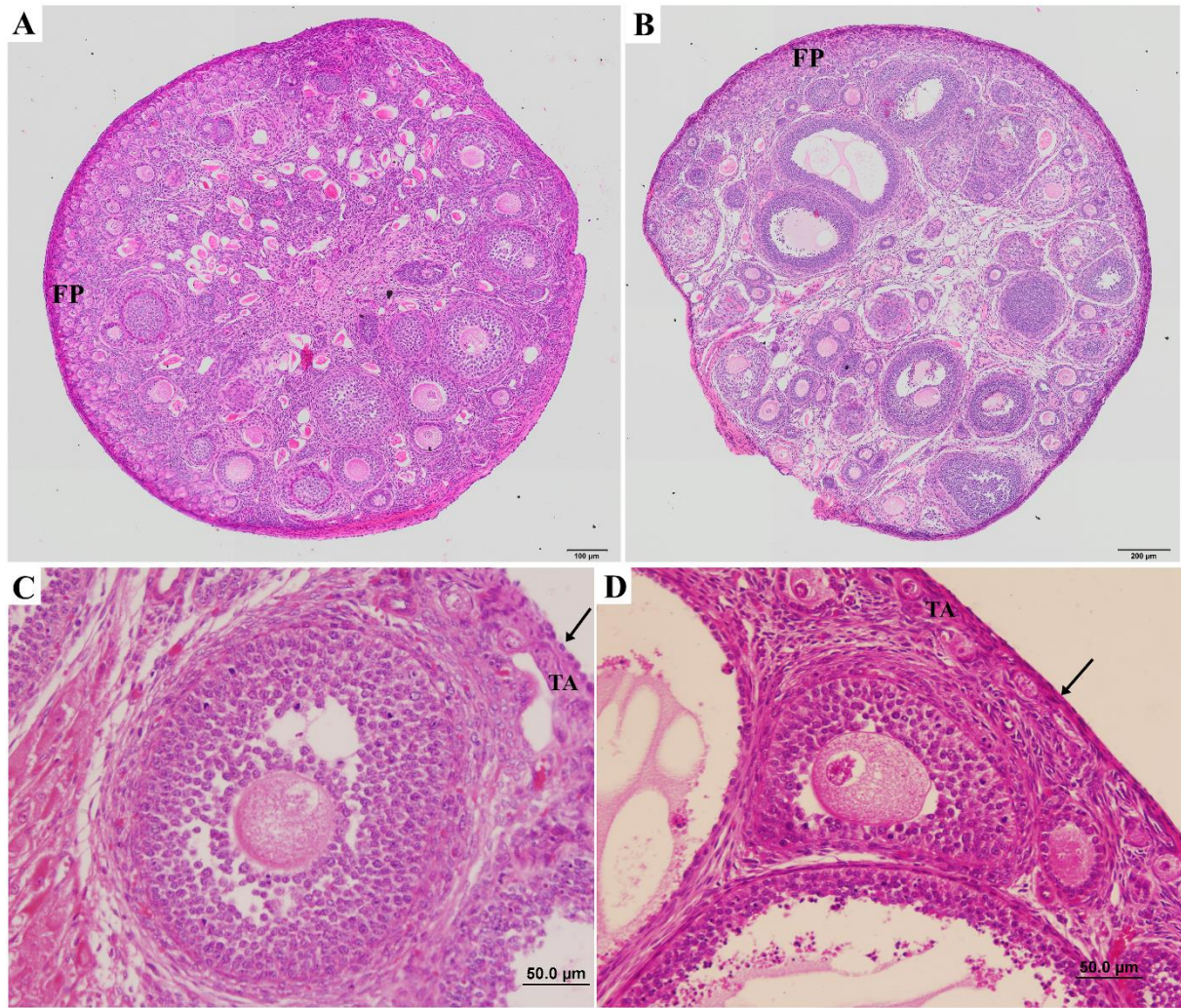


Figura 1. Cortes transversais de regiões medianas do ovário de fêmeas não-reprodutivas de *Artibeus planirostris* corados com Hematoxilina-Eosina. A e B. Ovário constituído por duas regiões: a medula, na porção central, e o córtex, periférico, onde se encontram os folículos. Nota-se os folículos primordiais (FP) restritos a regiões específicas, caracterizando um ovário polarizado. C e D. Destaque para o córtex com estruturas foliculares e superfície gonadal com revestimento epitelial simples do tipo cúbico (C) ou pavimentoso (D), e túnica albugínea em posição subepitelial.

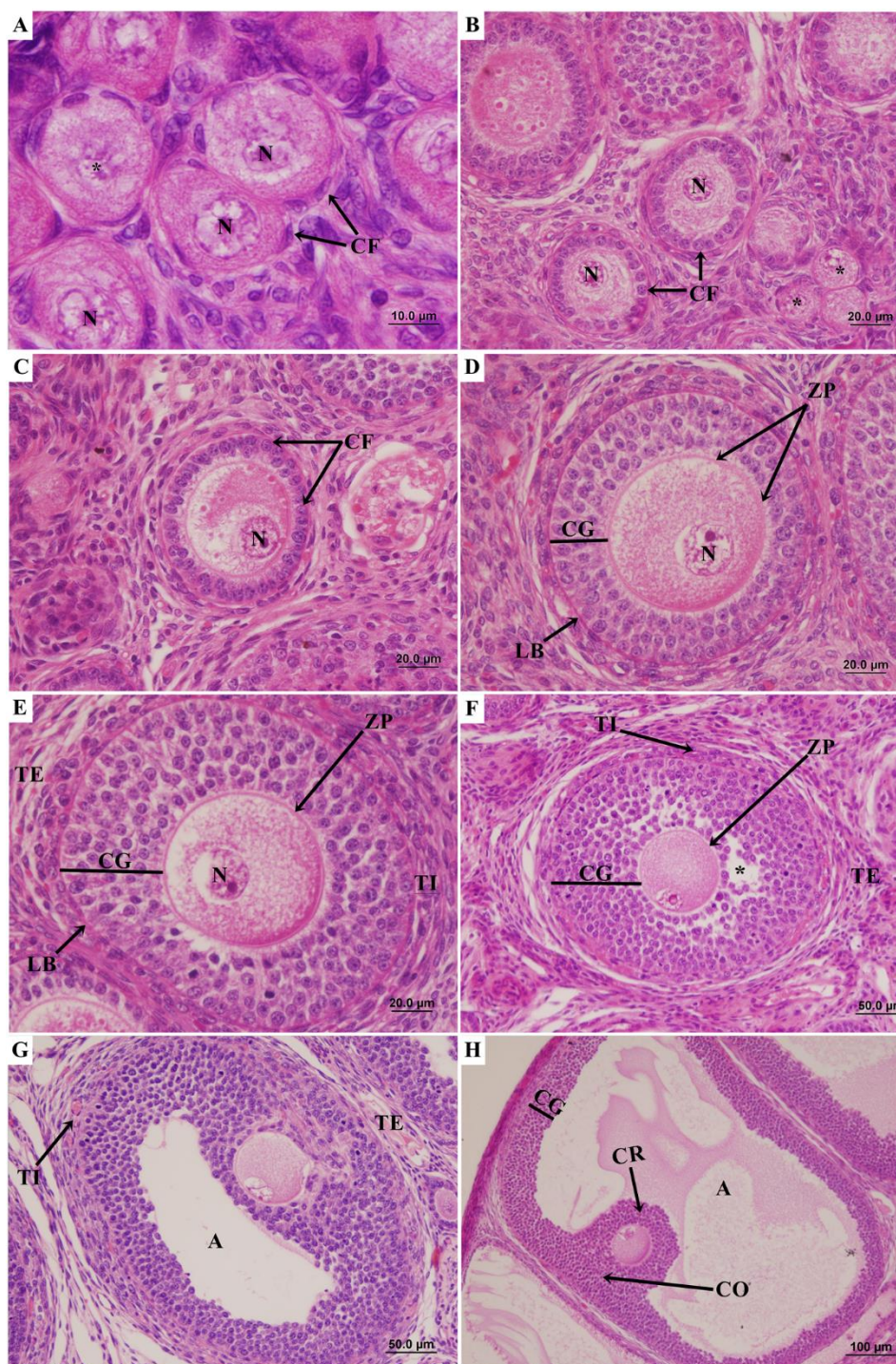


Figura 2. Etapas da foliculogênese em *Artibeus planirostris*. A. Folículo primordial circundado por células foliculares (CF) pavimentosas com ou sem o núcleo (N) do ovócito incluído no plano de corte. B. Folículo primário com uma camada de células foliculares (CF) cúbicas. Folículos primordiais podem ser vistos no canto direito (asteriscos). C. Folículo primário com células foliculares em proliferação mitótica. D. Folículo secundário, circundado pela camada da granulosa (CG), cuja superfície externa é limitada pela lâmina basal (LB) e a interna pela zona pelúcida (ZP). E. Folículo secundário envolto por uma bainha de células de tecido conjuntivo: a teca interna (TI) e a teca externa (TE). F. Folículo terciário com uma pequena cavidade (asterisco) nas células da granulosa. G. Folículo antral contendo uma cavidade em forma de crescente lunar, o antro (A). H. Folículo pré-ovulatório, com destaque para o antro (A), o cumulus oophorus (CO) e a corona radiata (CR).

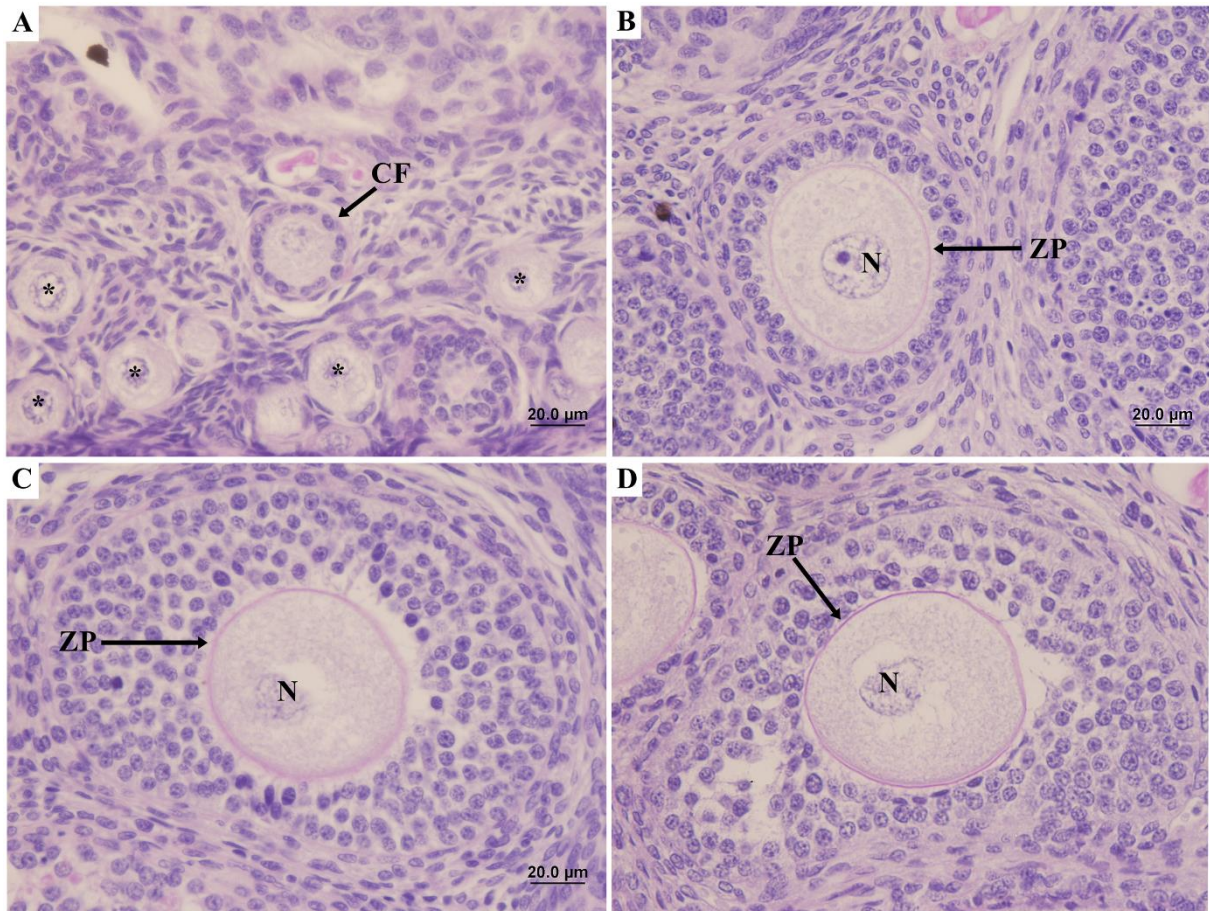


Figura 3. Folículos em diferentes estágios de maturação corados pela reação com PAS. A. Folículo primário circundado por uma camada de células foliculares (CF) cúbicas. Alguns folículos primordiais (asterisco) podem ser vistos ao redor do folículo primário. B e C. Folículos secundários. D. Folículo terciário. Note em B, C e D a zona pelúcida (ZP).

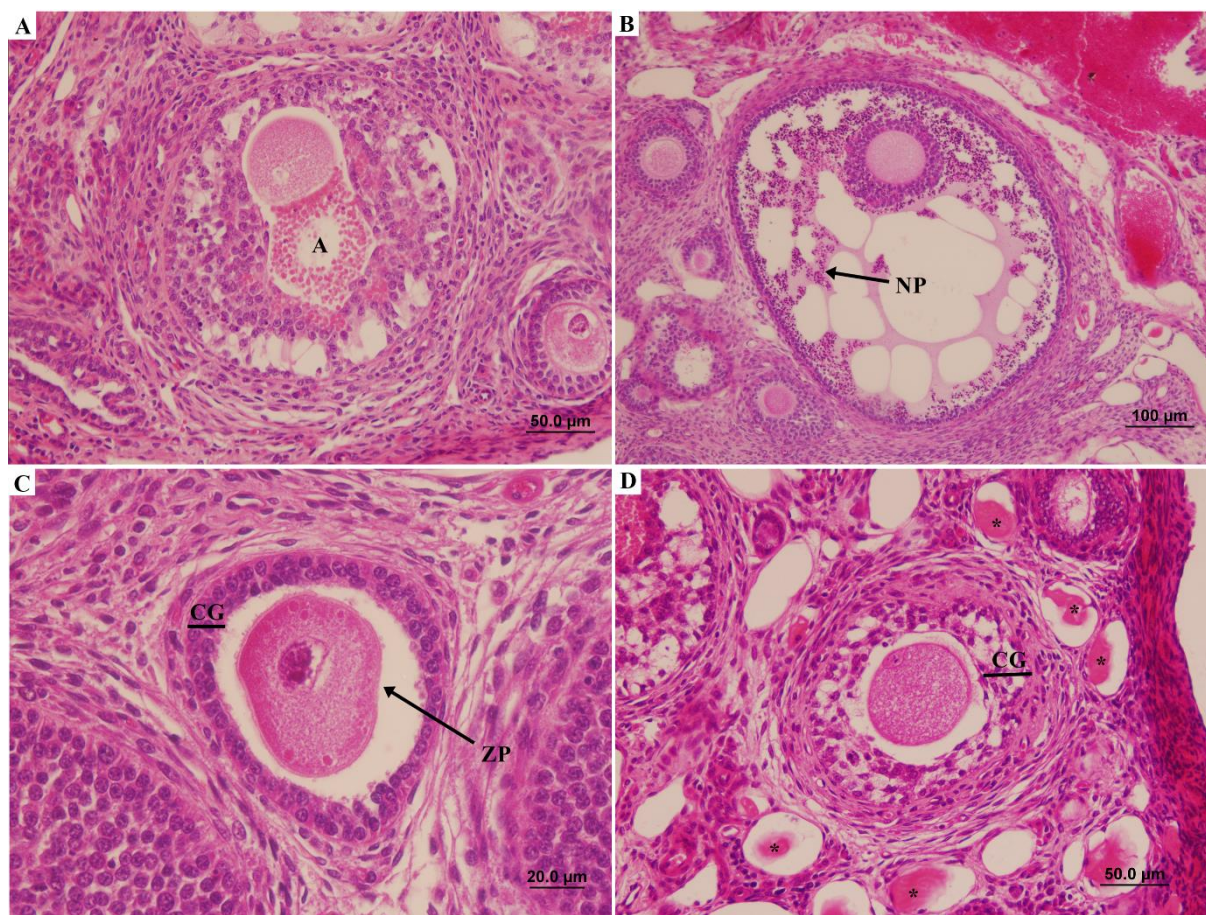


Figura 4. Corpo hemorrágico e folículos atrésicos. A. Corpo hemorrágico, cuja cavidade antral (A) é preenchida por sangue. B. Folículo pré-ovulatório em atresia, evidenciada pelos núcleos picnóticos (NP) encontrados espalhados por todo o antro. C. Folículo atrésico com a formação de uma lacuna entre a camada da granulosa (CG) e a zona pelúcida (ZP). D. Folículo secundário, cujas células foliculares da camada da granulosa (CG) encontram-se em apoptose. Por ser mais resistente que as células da granulosa, a zona pelúcida permanece nos locais onde antes havia folículos (asteriscos).

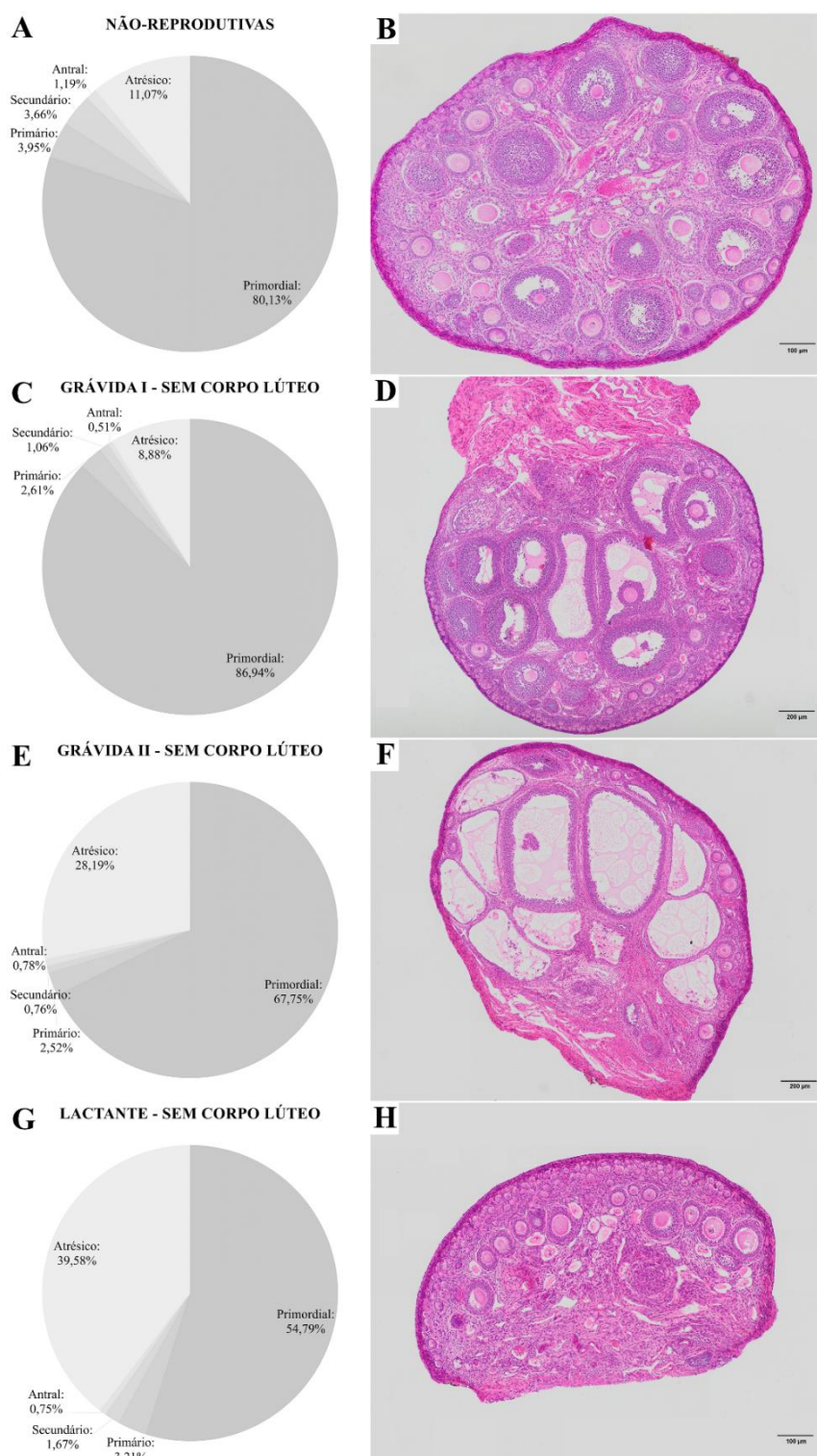


Figura 5. Frequência dos folículos em porcentagem e cortes transversais de regiões medianas do ovário sem corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris*. A e B. Fêmea não-reprodutiva apresentando folículos em vários estágios de maturação. C e D. Fêmea grávida I. E e F. Fêmea grávida II com uma elevada quantidade de folículos atrésicos. G e H. Fêmea lactante com ovário regredido, evidenciando a abundância de folículos atrésicos e primordiais (não se vê folículos antrais).

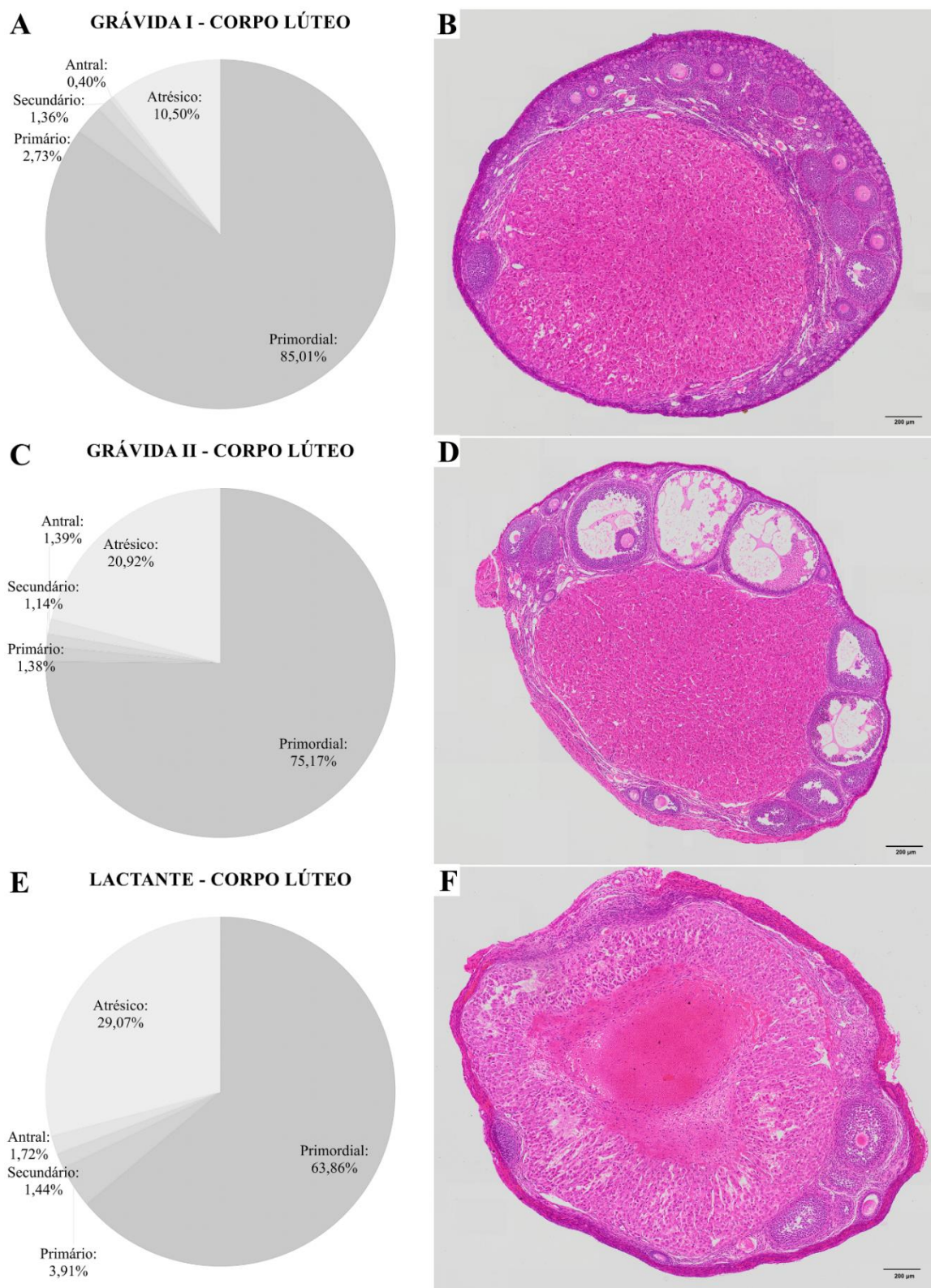


Figura 6. Frequência dos folículos em porcentagem e cortes transversais de regiões medianas do ovário com corpo lúteo das fêmeas de *Artibeus planirostris*. A e B. Fêmea grávida I. C e D. Fêmea grávida II. E e F. Fêmea lactante com corpo lúteo em atresia, devido ao processo de regressão.

V. CAPÍTULO 2

**Morfologia do útero de *Artibeus planirostris*
(Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do
ciclo reprodutivo**

Artigo a ser submetido à publicação na revista “Journal of Morphology”.

Morfologia do útero de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera) em diferentes fases do ciclo reprodutivo

Dianelli Lisboa Caun^a; Larissa Mayumi Bueno^a; Sebastião Roberto Taboga^b; Mateus Rodrigues Beguelini^c; Eliana Morielle-Versute^a

^aDepartamento de Zoologia e Botânica, UNESP – Univ. Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil;

^bDepartamento de Biologia, UNESP – Univ. Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil;

^cCentro das Ciências Biológicas e da Saúde, UFOB – Univ. Federal do Oeste da Bahia, Barreiras, Bahia, Brasil.

*Autor Correspondente: morielle@ibilce.unesp.br (E. Morielle-Versute).

Resumo

Alguns estudos demonstram características interessantes no padrão reprodutivo feminino de morcegos tropicais, especialmente nas famílias Molossidae e Phyllostomidae, como a grande variação morfológica no formato do útero e casos de menstruação verdadeira. Considerando a importância dos aspectos reprodutivos para a viabilidade da espécie, uma melhor compreensão e caracterização dos órgãos reprodutivos é interessante. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi caracterizar morfológicamente o útero de *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae: Chiroptera), através de análises anatômicas e histológicas; e avaliar as mudanças que ocorrem na morfologia durante os diferentes estágios reprodutivos (inatividade reprodutiva, gravidez e lactação). As fêmeas de *A. planirostris* possuem um útero simples, de histologia semelhante ao padrão geral dos mamíferos, com a parede uterina composta por três camadas: perimétrio, miométrio e endométrio. Não observamos sinais externos de menstruação, mas a análise histológica evidenciou um processo de descamação e necrose de porções do endométrio. *Artibeus planirostris* produz apenas um filhote por gestação e exibe um padrão poliétrico, confirmado pela captura de fêmeas concomitantemente grávidas e lactantes, nos meses de outubro, novembro e dezembro, demonstrando a existência de um estro pós-parto.

Palavras-chave: Phyllostomidae, ciclo reprodutivo, útero, menstruação, poliestria.

1. Introdução

Artibeus planirostris está incluída na subfamília Stenodermatinae, a mais numerosa de Phyllostomidae, com 67 espécies (Simmons, 2005). Com hábito alimentar predominantemente frugívoro, atua como excelente dispersor de sementes, pois possui o comportamento de retirar os frutos da planta mãe e levá-los até um abrigo, para só então consumi-los (Reis et al., 2007). Como os demais morcegos frugívoros, sua reprodução está associada com a disponibilidade de alimento, ocorrendo, portanto, em diferentes épocas do ano, juntamente com a frutificação das plantas (Bredt e Silva, 1996).

Os padrões reprodutivos de morcegos neotropicais podem ser divididos em quatro padrões básicos (Fleming et al., 1972). 1)- monoestria sazonal, indicada por um único pico de gravidez e de lactação; 2)- poliestria sazonal (bimodal), com dois picos de gravidez seguidos de dois picos de lactação, ou seja, as fêmeas podem produzir dois filhotes por ano; 3)- poliestria com um curto período de inatividade sexual, podendo produzir até três filhotes por ano; 4)- poliestria asazonal, padrão de reprodução continuada durante todo ano, indicada pela presença de fêmeas grávidas, lactantes e grávidas-lactantes nos mesmos períodos, sem picos distintos de nascimentos ou lactação.

A maioria dos filostomídeos frugívoros exibe o padrão poliétrico bimodal (Fleming et al., 1972), coincidindo os picos de nascimentos com a frutificação. Estudos anteriores sobre a reprodução de *A. planirostris* no Brasil, analisando machos e fêmeas, tem sugerido um padrão poliétrico bimodal para a espécie (Willig, 1985). No entanto, Taddei (1976) e Graham (1987) postularam que a espécie é capaz de se reproduzir durante todo o ano, gerando apenas um filhote a cada gestação.

Beguelini et al. (2013) ao analisarem machos adultos de *A. planirostris*, observaram um padrão contínuo de espermatogênese, com espermatozoides dentro da cauda do epidídimo em todos os meses do ano, mas apresentando dois picos de produção espermática, em setembro e fevereiro. Os autores postularam que a regulação da reprodução de machos de *A. planirostris* por fatores abióticos parece ser indireta, uma vez que as mudanças na atividade espermatogênica não estão associadas diretamente às mudanças ambientais; e acreditam que essa regulação é baseada no ciclo reprodutivo feminino, via receptividade da fêmea à cópula, o qual seria diretamente influenciado pelas mudanças ambientais.

As estruturas reprodutivas dos mamíferos são diversificadas, principalmente quanto à morfologia. A maior diversidade é observada nos euterianos, nos quais são observados úteros dos tipos, duplo, bicórneo, bipartido e simples, morfologias definidas com base no grau de fusão dos cornos uterinos, sendo o último a apresentar maior fusão (Mossman, 1977).

Apesar das variações morfológicas exibidas pelos diferentes grupos, o útero dos euterianos é caracterizado, de forma geral, por apresentar paredes musculares espessas, no interior das quais ocorre o desenvolvimento embrionário, divididas em três camadas distintas: o perimétrio (túnica serosa externa); o miométrio (túnica mediana relativamente grossa, constituída de fibras musculares) e o endométrio (túnica interna, com glândulas associadas) (Kardong, 2010). O endométrio sofre alterações morfológicas durante o período reprodutivo, sendo fino quando inativo e espesso em condição de gestação.

Alguns estudos demonstram características interessantes no padrão reprodutivo feminino de morcegos tropicais, especialmente nas famílias Molossidae e Phyllostomidae, que vão desde a grande variação morfológica no formato do útero – duplo, bipartido, bicórneo e simples (Crichton e Krutzsch, 2000; Komar et al., 2007), até casos de menstruação verdadeira, envolvendo necrose e descamação do endométrio, com sangramento associado, com destaque para *Carollia perspicillata* (Linnaeus, 1758) e *Glossophaga soricina* (Pallas, 1776) de Phyllostomidae e *Molossus rufus* (E. Geoffroy, 1805) de Molossidae (Rasweiler, 1991; Rasweiler e Bonilla, 1992; Komar et al., 2007; Wang et al., 2008; Rasweiler et al., 2010).

Considerando a função ecológica dos morcegos, em especial de *A. planirostris*, e a importância dos aspectos reprodutivos para a viabilidade da espécie, uma melhor compreensão e caracterização dos órgãos reprodutivos são interessantes. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi caracterizar morfolologicamente o útero de *Artibeus planirostris*, através de análises anatômicas e histológicas; e avaliar as mudanças que ocorrem na morfologia durante os diferentes estágios reprodutivos, provendo informações adicionais que propiciem uma descrição mais detalhada dos aspectos reprodutivos dessa espécie.

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo e método de captura

Os animais foram coletados em áreas urbanas e rurais da região noroeste do estado de São Paulo, Brasil (20°49'11" S, 49°22'45" W), com “mist-nets” armadas no período noturno, em trilhas, área de vegetação e áreas abertas durante cinco excursões mensais realizadas entre setembro de 2013 a setembro de 2014.

A captura e manuseio dos animais, assim como os procedimentos experimentais foram autorizados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente – IBAMA (Processo: 02027.001957/2006-02); e pela Comissão de Ética no Uso do Animal do IBILCE/UNESP (Processo: 013/09 - CEEA).

Os animais foram tratados de acordo com as recomendações do Comitê no Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do Institute of Laboratory Animal Resources, Conselho Nacional de Pesquisas, "Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório". Após a captura, os animais foram mantidos em gaiolas individuais (40 x 20 x 20 cm) com água *ad libitum*, em uma sala específica, no escuro a 25-30 °C, até a manhã seguinte, quando foram eutanasiados e processados.

2.2. Espécimes analisados

Foram utilizadas 32 fêmeas adultas de *Artibeus planirostris*, cuja condição adulta foi determinada com base no peso corporal e completa ossificação das epífises (de Knegt et al., 2005). A condição reprodutiva de cada fêmea foi avaliada e as mesmas foram separadas em três grupos amostrais: lactantes (glândulas mamárias e mamilos evidentes, com secreção de leite após leve compressão das mamas), grávidas (gravidez detectada por inspeção/exame abdominal e após dissecação, podendo ou não apresentar glândulas mamárias) e não ativas reprodutivamente (abdome normal e mamilos não evidentes) (Zortéa, 2003).

2.3. Processamento dos animais

Após os animais serem profundamente anestesiados (80mg ketamina + 20mg de xilasina por quilograma do animal), o útero e ovários (complexo uterino) foram retirados por meio de uma incisão realizada na região abdominal com o auxílio de bisturis e tesoura. Logo que exposto, o útero foi pesado e fixado em solução fixadora de metanol: clorofórmio: ácido acético (6:3:1) durante três horas a 4°C, desidratado em série graduada de etanol, clarificado em xilol, incluído em parafina, seccionado seriadamente (5 µm de espessura) e submetido a análises anatômicas e histológicas (macroscópica e microscópica, respectivamente). Após a retirada das amostras, os animais foram fixados e depositados na Coleção de Chiroptera do IBILCE-UNESP (DZSJRP).

2.4. Análise histológica

Após serem colocadas sobre lâminas para microscopia, as secções foram coradas com Hematoxilina-Eosina (Ribeiro e Lima, 2000), para identificação da estrutura geral do útero e Tricrômico de Gomori, para marcação de tecido conjuntivo e muscular. As lâminas resultantes foram analisadas e fotografadas em microscopia óptica (Scanner de imagens Olympus BX-VCB), com auxílio de software de captura e análise de imagem (*software* VS-ASW), para visualização completa do útero; e analisadas e fotodocumentadas em fotomicroscópio Olympus

BX60 com analisador de imagens Image-Pro-Plus para Windows, para observação dos tecidos componentes da estrutura uterina.

2.5. Análise Estatística

Para cada condição reprodutiva (lactante, grávida e não ativa reprodutivamente) foi obtido o peso do complexo uterino. Os valores foram expressos pelas médias e desvios padrão e analisados inicialmente pela Análise de Variância (One-way ANOVA) e, posteriormente pelo teste de Tukey para comparações múltiplas, com nível de significância $P < 0.05$, usando o programa Statistica 6.0 (Copyright©Statsoft, Inc. 1984-1996).

As fêmeas grávidas apresentaram grande variação no peso do complexo e, por consequência, um grande desvio padrão, não sendo, portanto, representadas nas análises estatísticas.

3. Resultados

3.1. Condição geral das fêmeas

Do total de 32 fêmeas, sete estavam lactantes, com glândulas mamárias e mamilos evidentes, apresentando secreção de leite após compressão das mamas; 17 estavam grávidas, com o feto visível macroscópica ou microscopicamente, sendo que, destas, nove (coletadas nos meses de outubro, novembro e dezembro) apresentaram glândulas mamárias; e oito fêmeas estavam não ativas reprodutivamente, com abdome normal e mamilos não evidentes (Tabela 1).

Tabela 1. Condições reprodutivas das fêmeas analisadas de *A. planirostris*, de acordo com os meses do ano.

Fase reprodutiva	set/13	out/13	nov/13	dez/13	jan/14	fev/14	mar/14	set/14	Total
Lactantes	0	1	0	1	0	1	4	0	7
Grávidas	3	4	5	3	1	0	1	0	17
Não ativas	0	0	0	1	4	2	0	1	8

3.2. Histologia geral do útero

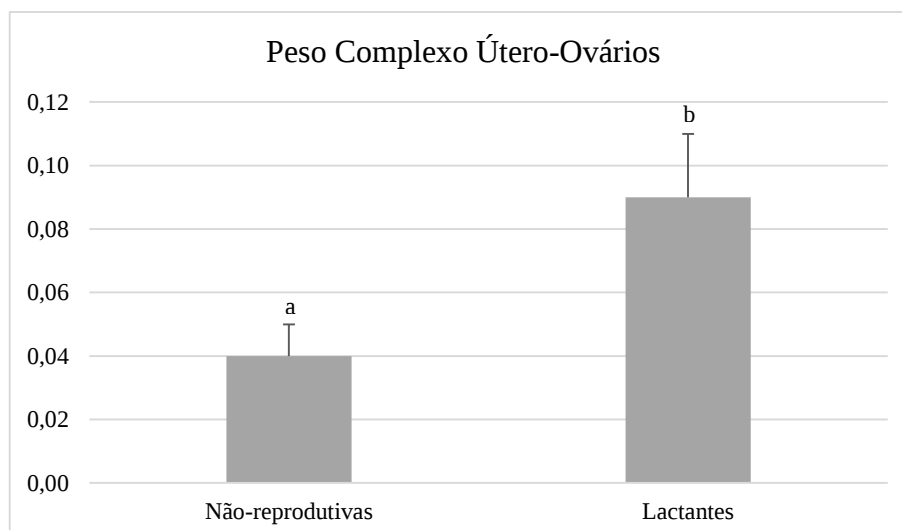
As fêmeas de *A. planirostris* possuem um útero simples, com fundo proeminente e redondo, que se comunica com os dois ovidutos e dois ovários situados lateralmente em relação ao útero.

A parede uterina é composta por três camadas, sendo sua histologia bem definida (Figura 1A e 1B). O perimétrio, representado pela camada serosa externa, consiste de um mesotélio e uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo longitudinalmente à extensão do órgão. O miométrio, que é a camada intermediária e mais espessa da parede uterina, apresenta camadas de tecido muscular e conjuntivo, sendo que os feixes de fibras musculares parecem assumir um arranjo aleatório, uma vez que sua orientação não é distinta. O endométrio, túnica interna altamente vascularizada que representa a mucosa do útero, formado por epitélio simples, apresenta glândulas em sua constituição e encontra-se sustentado por tecido conjuntivo.

O endométrio sofre alterações cíclicas que o preparam para a implantação do embrião, sendo que, ao final de cada ciclo ocorre sua destruição parcial e descamação, podendo ser acompanhadas de sangramento, características da menstruação. Apesar da ausência de sinais externos de menstruação nas fêmeas analisadas, a análise histológica evidenciou um processo de descamação e necrose de porções do endométrio (Figura 1C e 1D).

O peso do complexo uterino variou de 0,126 a 15,88 gramas nas fêmeas grávidas, devido a variações no estágio da gravidez, que não puderam ser padronizadas. Por consequência, produziu um elevado desvio no cálculo da média e, portanto, não foi utilizada nas análises estatísticas.

Nos outros dois grupos, ou seja, lactantes e não ativas reprodutivamente, os pesos do complexo apresentaram diferenças significativas entre si. As fêmeas lactantes cujo peso do complexo uterino variou de 0,072 a 0,112 gramas, apresentaram uma média de 0,09g para o complexo, mais que o dobro do encontrado nas fêmeas não ativas reprodutivamente (0,04g), cujo peso do complexo variou de 0,032 a 0,053g (Figura 2).



*Valores com a mesma letra sobrescrita não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$).

Figura 2. Comparação entre o peso do complexo útero-ovários de *Artibeus planirostris* durante duas fases do ciclo reprodutivo.

Além da diferença quanto ao peso do complexo uterino observada entre os estágios reprodutivos, houve diferenças morfológicas entre eles, observadas principalmente no tamanho do útero (Figura 3). Nas fêmeas não ativas reprodutivamente, ou seja, fêmeas cujo endométrio se encontra inativo e, portanto, fino, o útero foi significativamente menor. Em condição de gestação e com o espessamento do endométrio, ocorre um crescimento considerável do útero, o que pode ser notado em corte transversal, pela formação de uma luz no seu interior, onde é possível encontrar o trofoblasto ou até mesmo o embrião, dependendo do estágio de gravidez em que a fêmea se encontra. Já as fêmeas lactantes, apresentaram um útero relativamente maior quando comparadas as fêmeas não ativas reprodutivamente, com o endométrio proporcionalmente mais espesso.

4. Discussão

O útero em mamíferos apresenta uma considerável variação morfológica, indo desde útero duplo, ou seja, com cornos completamente separados, encontrado em monotremados, marsupiais (Kardong, 2010) e roedores (Martins et al., 2011); útero bipartido, apresentando uma fusão discreta na região inferior dos cornos, encontrados em carnívoros, ungulados e alguns morcegos (Weichert, 1966), como *Noctilio albiventris* Desmarest, 1818 (Vicente et al., 2006); útero bicórneo, com boa parte dos cornos uterinos fusionados, encontrados nos útero de mamíferos domésticos (Kónig e Liebich, 2004), ovelhas, baleias e na maioria dos morcegos (Weichert, 1966), como *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (Vicente et al., 2006); e, por fim, útero simples, apresentando uma única cavidade uterina decorrente da completa fusão dos

cornos, encontrado na maioria dos primatas (Weichert, 1966) e na maioria das espécies de Phyllostomidae (Hood e Smith, 1983).

Dentre a variedade morfológica encontrada no útero de mamíferos, a condição derivada, segundo Hood e Smith (1982), demonstra fusão progressiva dos cornos uterinos resultando em um corpo uterino comum. Em *C. perspicillata*, por exemplo, o útero é considerado simples externamente, mas a presença de um septo interno colocou essa espécie numa posição basal quanto à morfologia uterina (Taddei, 1980). As análises histológicas realizadas em *A. planirostris* confirmam, assim como na maioria dos Phyllostomidae, a presença de um útero simples sem septo interno, condição notadamente derivada (Vicente et al., 2006).

Os padrões reprodutivos descritos por Fleming et al. (1972) estão normalmente relacionados com a sazonalidade dos recursos alimentares, como é o caso da maioria dos filostomídeos frugívoros que exibem o padrão poliétrico bimodal, onde os picos de nascimentos coincidem com o de frutificação. Esse padrão foi detectado em *Pygoderma bilabiatum* (Wagner, 1843), *Sturnira lilium* (E. Geoffroy, 1810), *A. fimbriatus*, *A. lituratus* e *A. obscurus* (Fazzolari-Corrêa, 1995). A captura de algumas fêmeas de *A. planirostris* concomitantemente grávidas e lactantes, nos meses de outubro, novembro e dezembro, demonstra a existência de um segundo estro logo após o parto (estro pós-parto), implicando no nascimento de dois filhotes por estação reprodutiva, confirmando o que foi postulado por Willig (1985) que indicou o padrão poliétrico bimodal para a espécie, confirmando a ocorrência desta condição em *Artibeus*, tendo em vista análises de Rocha e Mikalauskas (2010) também reportando a ocorrência de estro pós- parto para outras três espécies, *A. cinereus* (Gervais, 1856), *A. fimbriatus* e *A. obscurus*, baseados nestas mesmas condições, em espécimes do Sergipe.

A. planirostris produz apenas um filhote por gestação, como a maioria das espécies de morcegos, como *N. albiventris*, *M. molossus* e *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Vicente et al., 2006), onde o período de desenvolvimento embrionário é relativamente longo. As fêmeas de vespertilionídeos, por sua vez, podem dar à luz, ocasionalmente, a dois ou cinco filhotes por evento reprodutivo, como é o caso do gênero *Lasiurus*, cujas fêmeas costumam apresentar quatro mamas, podendo dar à luz a até cinco filhotes por gestação (Reis et al., 2007).

A histologia do útero de *A. planirostris* é semelhante ao padrão dos mamíferos, com a parede uterina composta de três camadas: a mais externa e serosa, o perimétrio; a mais espessa, composta por células de músculo liso, o miométrio; e a camada mais interna, representando a mucosa do útero, denominada endométrio. Esta, sofre algumas alterações morfológicas,

levando ao seu espessamento ou a sua descamação caso a fecundação não ocorra, originando a menstruação (Junqueira e Carneiro, 2008).

O processo de menstruação não é tão comum em mamíferos, sendo encontrado em alguns primatas e macroselídeos (van der Horst e Gillman, 1942). Dentre os morcegos existe evidência de menstruação verdadeira em molossídeos e filostomídeos (Komar et al., 2007; Rasweiler, 1991; Rasweiler e Bonilla, 1992).

Dentre as espécies que apresentam menstruação verdadeira, grande parte possui o útero simples como uma característica em comum, ou seja, não possuem outro corno (como no caso do útero duplo, ou mesmo nos que apresentam graus de fusão variados) pronto para receber uma possível gestação no próximo ciclo, sendo necessária, então, a renovação da mucosa da única cavidade uterina. Mesmo em espécies com útero bicórneo, como *Desmodus rotundus* (E. Geoffrey, 1810) e *M. ater* (*M. rufus*), os cornos são relativamente curtos e não são estimulados diferencialmente (Rasweiler e Badwaik, 2000).

G. soricina, embora apresente uma degradação substancial do endométrio, não apresenta sinais exteriores de menstruação, uma vez que os restos menstruais sofrem dissolução dentro da própria cavidade uterina (Komar et al., 2007). Dentre os filostomídeos com menstruação verdadeira, ou seja, envolvendo a necrose e descamação da lâmina superficial do endométrio com sangramento associado, destaca-se *C. perspicillata*, cujos fluidos vaginais obtidos na época da menstruação comumente apresentam sangue (Rasweiler e Badwaik, 1996).

Artibeus planirostris, por sua vez, apresentou um processo de descamação do endométrio evidenciado pelas análises histológicas, mas não foram observados sinais externos de menstruação durante o período de coleta. Um estudo posterior, mantendo algumas fêmeas em cativeiro e coletando fluidos vaginais diariamente se faz necessário para verificar a existência de sangramento, como em *C. perspicillata* ou a dissolução do tecido endometrial no interior da cavidade uterina, como em *G. soricina*.

A partir de nossas análises, pode-se concluir que essa espécie mantém algumas características típicas de mamíferos, bem como de muitos morcegos, em relação à anatomia e histologia do útero. Nossos dados confirmam um padrão poliétrico para a espécie, pela existência de um estro pós-parto, bem como um processo de descamação endometrial.

5. Referências

- Beguelini MR, Puga CCI, Taboga SR, Morielle-Versute E. 2013. Annual reproductive cycle of males of the flat-faced fruit-eating bat, *Artibeus planirostris* (Chiroptera: Phyllostomidae). *General and Comparative Endocrinology* 185:80–89.
- Bredt A, Silva DM. 1996. Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle. Brasília: Fundação Nacional da Saúde, 117p.
- Crichton EG, Krutzsch PH. 2000. Reproductive biology of bats. London: Academic Press.
- de Knecht LV, Silva JA, Moreira EC, Sales GL. 2005. Morcegos capturados no município de Belo Horizonte, 1999–2003. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 57:576–583.
- Fazzolari-Corrêa S. 1995. Aspectos sistemáticos, ecológicos e reprodutivos de morcegos na Mata Atlântica [tese]. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 158p.
- Fleming TH, Hooper ET, Wilson DE. 1972. Three Central American bat communities: structure, reproductive cycles, and movements. *Ecology* 53:555–569.
- Graham GL. 1987. Seasonality of reproduction in Peruvian bats. 173–181p. in Studies in Neotropical mammalogy, essays in honor of Philip Hershkovitz (B. D. Patterson and R. M. Timm, eds.). *Fieldiana: Zoology (New Series)* 39:1–506.
- Hood CS, Smith JD. 1982. Cladistical analysis of female reproductive histomorphology in phyllostomatid bats. *Systematic Zoology* 31:241–251.
- Hood CS, Smith JD. 1983. Histomorphology of the female reproductive tract in phyllostomid bats. *Occasional Papers The Museum, Texas Tech University* 86:1–38.
- Junqueira LCU, Carneiro J. 2008. Histologia Básica. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 524p.
- Kardong KV. 2010. Vertebrates: comparative anatomy, function e evolution. 5ed. New York: McGraw Hill. 762p.
- Komar CM, Zacharachs-Jutz F, Cretekos CJ, Behringer RR, Rasweiler IV JJ. 2007. Polarized ovaries of the long-tongued bat, *Glossophaga soricina*: a novel model for studying ovarian development, folliculogenesis, and ovulation. *Anatomical Record* 290:1439–1448.
- König HE, Liebich HG. 2004. Anatomia dos animais domésticos. 2ed. São Paulo: Artmed. p.141–143.
- Martins LL, Biagioni MM, Oliveira FS, Toniollo GH, Pacheco MR, Machado MRF. 2011. Morfologia do útero de cutias nulíparas e não nulíparas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Belo Horizonte v.63.
- Mossman HW. 1977. Comparative Anatomy. 19–34p, in: The biology of the uterus (RM. Wynn. ed.). 2nd. Ed. Plenum Press, New York. 748p.

Rasweiler IV JJ. 1991. Spontaneous decidual reactions and menstruation in the black mastiff bat, *Molossus ater*. *The American Journal of Anatomy* 191:1–22.

Rasweiler IV JJ, Badwaik NK. 1996. Improved procedures for maintaining and breeding the short-tailed fruit bat (*Carollia perspicillata*) in a laboratory setting. *Laboratory Animals* 30:171–181.

Rasweiler IV JJ, Badwaik NK. 2000. Anatomy and physiology of the female reproductive tract. In: Crichton EG, Krutzsch PH. Reproductive biology of bats. Academic Press New York p.157–219.

Rasweiler IV JJ, Badwaik NK, Mechineni KV. 2010. Selectivity in the transport of spermatozoa to oviductal reservoirs in the menstruating fruit bat, *Carollia perspicillata*. *Reproduction* 140:743–757.

Rasweiler IV JJ, Bonilla H. 1992. Menstruation in short-tailed fruit bats (*Carollia* spp.). *Journal of Reproduction and Fertility* 95:231–248.

Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP. 2007. Morcegos do Brasil. Londrina. 253p.

Rocha PA, Mikalauskas JS. 2010. Morcegos (Mammalia, Chiroptera) capturados no Campus da Universidade Federal de Sergipe, com oito novos registros para o estado. *Biota Neotropica* 10:183–188.

Simmons NB. 2005. Order Chiroptera. In: Wilson DE, Reeder DM. Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference. 3ª ed. Baltimore: John Hopkins University Press 1:312–529.

Taddei VA. 1976. The reproduction of some Phyllostomidae (Chiroptera) from the northwestern region of the State of São Paulo. *Boletim de Zoologia*. Universidade de São Paulo. 1:313–330.

Taddei VA. 1980. Biologia reprodutiva de Chiroptera: perspectivas e problemas. *Interfaces* 6:1–18.

van der Horst CJ, Gillman J. 1942. A critical analysis of the early gravid and premenstrual phenomena in the uterus of elephantulus, macaca and the human female. *The South African Journal of Medical Sciences* 7:134–143.

Vicente EC, Emiliani VC, Oliveira LF, Favero S. 2006. Análise morfométrica e anatômica do útero em famílias de quirópteros (Mammalia) que ocorrem no Brasil. *Ensaios e ci* 10:63 – 73.

Zortéa M. 2003. Reproductive patterns and feeding habits of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from the Brazilian cerrado. *Brazilian Journal of Biology* 63:159–168.

Wang Z, Liang B, Racey P, Wang YL, Zhang SY. 2008. Sperm storage, delayed ovulation and menstruation of the female Rickett's big-footed bat (*Myotis ricketti*). *Zoological Studies* 47:215–221.

Weichert CK. 1966. Elementos de Anatomia de los Cordados. 2ed. Madrid: Ediciones Castilla.

Willig MR. 1985. Reproductive patterns of bats from Caatingas and Cerrado biomes of Northeast Brazil. *Journal of Mammalogy* 66:668-681.

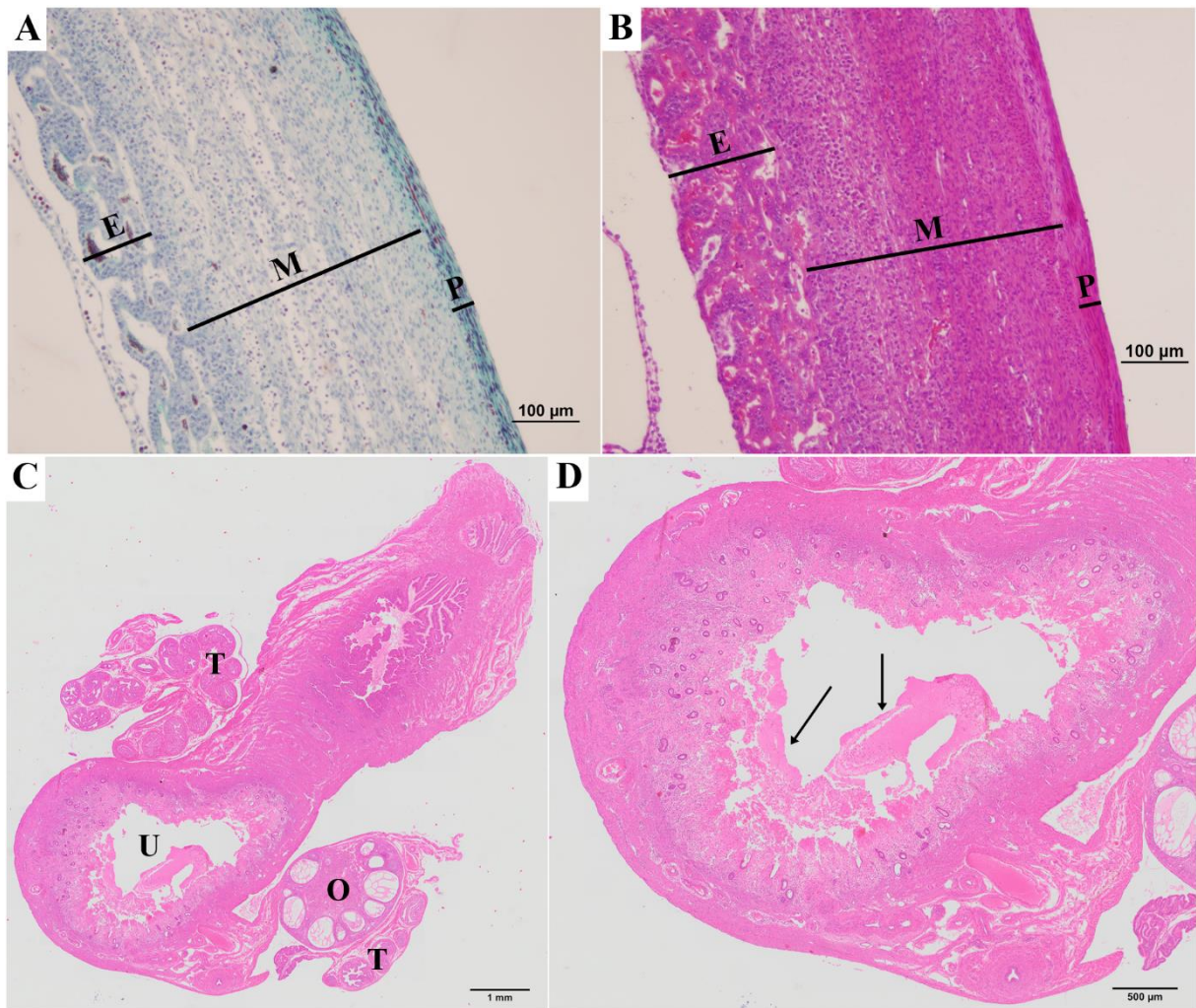


Figura 1. Cortes histológicos do útero de fêmeas grávidas e do complexo uterino de *Artibeus planirostris* corados com Tricômico de Gomori (A) e Hematoxilina-Eosina (B-D). A e B. Imagem ilustrando as camadas do útero. C. Imagem do complexo uterino, com apenas um dos ovários incluído no plano de corte. D. Imagem da região do útero evidenciando a descamação do endométrio (setas).

E: endométrio. M: miométrio. P: perimétrio. U: útero. O: ovário. T: tuba uterina.

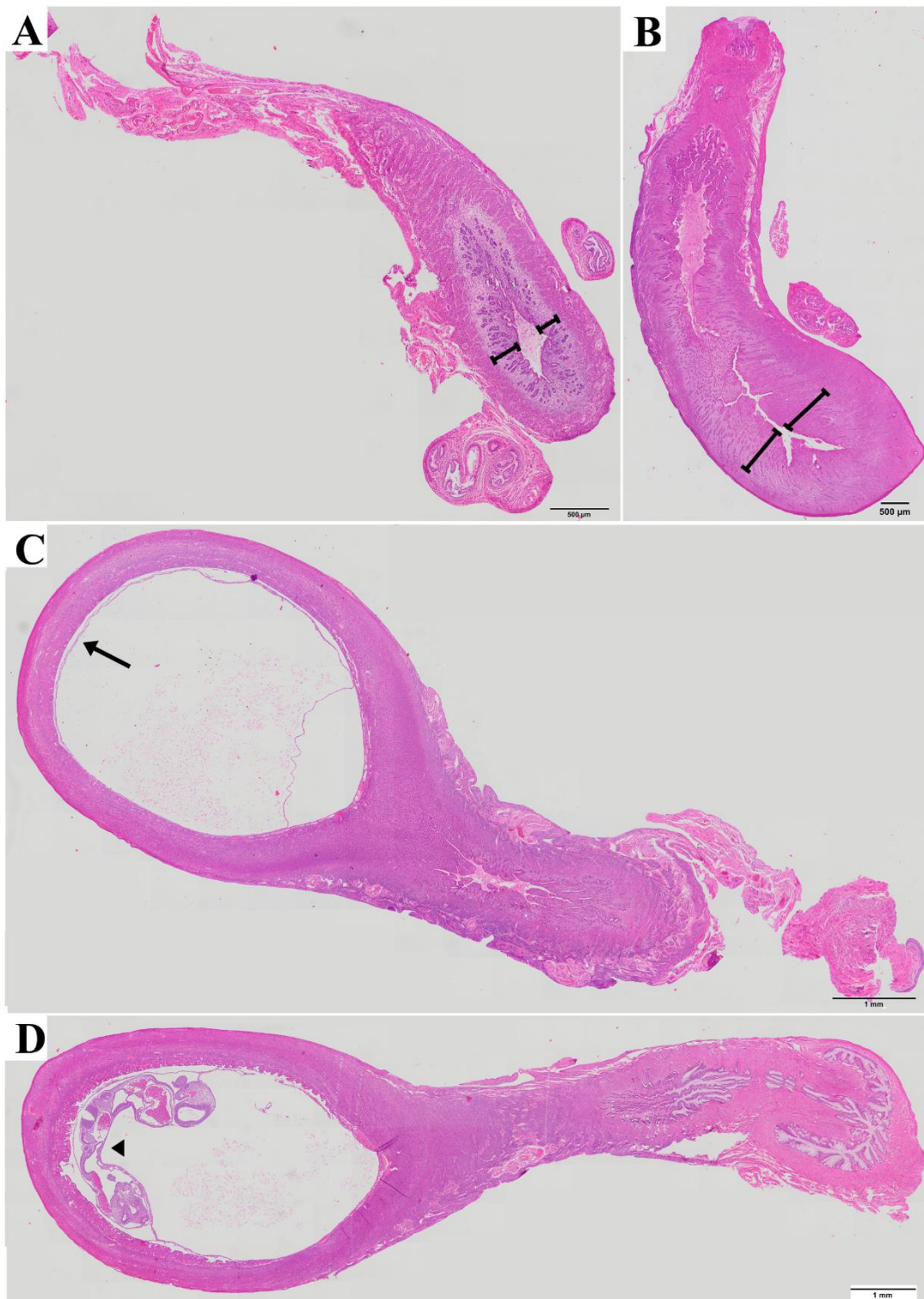


Figura 3. Cortes histológicos de regiões medianas do útero de fêmeas não reprodutiva, lactante e grávida de *Artibeus planirostris*. A. Fêmea não-reprodutiva, cujo útero é relativamente menor e o endométrio (barra) delgado. B. Fêmea lactante, com o endométrio (barra) relativamente mais espesso. C e D. Fêmea grávida apresentando trofoblasto (seta) - camada celular (C) e com o embrião em formação (ponta de seta) (D).