



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOMÉTRICAS GONADAL E EPIDIDIMAL DE
NYCTINOMOPS LATICAUDATUS (É. GEOFFROY, 1805) EM CAMPO GRANDE/MS**

Lucas B. S. Azuaga

CAMPO GRANDE, MS 2015



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**Características histomorfométricas gonadal e epididimal de
Nyctinomops laticaudatus (É. Geoffroy, 1805) em Campo Grande/MS**

**Features gonadal histomorphometric and epididymal of *Nyctinomops laticaudatus* (Is.
Geoffroy, 1805) in Campo Grande/MS**

**Orientador: Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo O. Bordignon**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, como requisito à
obtenção do título de Mestre em
Biologia Animal.
Área de concentração: Patologia.

CAMPO GRANDE, MS 2015



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



RESOLUÇÃO Nº 76, DE 22 DE DEZEMBRO DE 2014.

O COLEGIADO DE CURSO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no uso de suas atribuições, resolve:

Aprovar a composição da “Banca Examinadora de Dissertação” de **Lucas Bezerra da Silva Azuaga**, intitulada “**Características histomorfométricas gonadal e epididimal de *Molossus* spp. (Molossidae – GERVAIS, 1855) em Campo Grande/MS**”, sob a orientação do Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes, conforme segue:

Dr. Helder Silva e Luna (UFMS - Presidente)

Dr. Mário Kurtz (UFMS)

Dra. Margareth Lumy Sekiama (UFSCar)

Dr. Ricardo Moratelli Mendonça da Rocha (FIOCRUZ)

Dra. Susi Missel Pacheco (Instituto Sauver)

Vanda Lúcia Ferreira,

Presidente.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo apoio técnico, administrativo e pessoal.

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pelo suporte financeiro.

Aos professores Dr. Carlos Eurico Fernandes e Dr. Marcelo O. Bordignon por toda paciência e aprendizado passado a mim durante esse período de pós graduação e também pela amizade construída.

À equipe do laboratório de Patologia pelo conhecimento compartilhado e auxílio durante o experimento.

Os meus sinceros agradecimentos a minha mãe e a todos os meus familiares pelos ensinamentos, incentivo e dedicação a mim. Eles são a base do meu caráter hoje.

Obrigado.

“A dúvida é o principio da sabedoria.”
Aristóteles

Resumo

AZUAGA, L.B.S. Características histomorfométricas gonadal e epididimal de *Nyctinomops laticaudatus* (É. Geoffroy, 1805) em Campo Grande/MS. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

Resumo: O objetivo desse estudo foi avaliar a biometria, histologia e histomorfometria gônadal e epididimal em *Nyctinomops laticaudatus* da região de Campo Grande, MS, e compará-las entre os períodos estacionais (seca/chuva) através de análises morfológicas para investigar possíveis variações da espermatogênese nesta espécie. Foram utilizados 32 animais machos adultos capturados com redes de neblina. Após a eutanásia, os testículos e epidídimos foram retirados e processados segundo as técnicas de rotina e corados com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori. Em seguida, foram obtidas fotografias das estruturas testiculares em aumento de 20x e 40x para serem analisadas. Nos testículos foram avaliados 30 segmentos tubulares de 10 imagens selecionadas ao acaso obtendo-se valores médios do diâmetro tubular (μm), espessura do epitélio germinativo e da espessura da túnica própria (μm). No epidídimo, foram avaliados 10 segmentos da cauda do epidídimo por animal, determinando-se o diâmetro (μm) médio e altura do epitélio (μm). Para a análise de densidade tecidual, foram digitalizadas 10 imagens ao acaso de cada animal em aumento de 40x. Em cada imagem foi introduzida um grade de 782 pontos, registrando-se a estrutura correspondente (túbulo seminífero, células de Leydig, vaso linfático e vaso sanguíneo) considerando a área total (μm^2) estimada para cada imagem. Na classificação do ciclo espermatogênico, foram analisados 100 segmentos de túbulos seminíferos de cada animal e classificados de acordo com os tipos celulares presentes dentro dos túbulos. Junto a esta análise foi avaliado a presença ou ausência de espermatozoide no epidídimo. Os resultados demonstraram que os machos da espécie *Nyctinomops laticaudatus* apresentam reprodução sazonal, com pico de atividade testicular iniciando no começo do período seco. Desta maneira aumentariam as chances de acasalamento com subsequente inatividade reprodutiva, coincidindo com o período gestacional das fêmeas.

Palavra chave: Histologia, Reprodução, Morfometria testicular.

Abstract

AZUAGA, L.B.S. Features gonadal and epididymal histomorphometric of *Nyctinomops laticaudatus* (Is. Geoffroy, 1805) in Campo Grande / MS. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

Abstract: In this study i evaluated the biometrical, and histological traits of the gonads and the epididymal histomorphometry of *Nyctinomops laticaudatus* from Campo Grande, MS. I also compared them between the dry and rainy seasons using morphological analyses for the identification of the seasonal variation of spermatogenesis in adult males. After euthanasia, the testis and epididymis were removed and processed according to routine procedures and stained with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome. Photographs of the testicular structures were taken for the analyses using magnifications of 20x and 40x. Thrith tubular segments of 10 images randomly selected were evaluated to obtain means values of the tubular diameter (microns), thickness of the germinal epithelium and the thickness of the tunica (microns). In the epididymis, segments from the epididymal tail were evaluated in order to determine the diameter (microns) and average height of the epithelium (microns). For the analyses of tissue density, 10 images were scanned randomly from each animal using 40x magnification. In each image was introduced a grid 782 points, registering the corresponding structure (seminiferous tubule, Leydig cells, lymphatic vessel and blood vessel) considering the total area (μm^2) estimated for each image. One-hundred seminiferous tubule segments from each animal were used in the classification of spermatogenesis. Near is analysis was assessed the presence or absence of sperm in the epididymis. The results showed that the animals taken from the 2014 drought had histomorfometricas measures both as epididymal tube, smaller than the other animals captured in the other seasons. Among the 32 individuals analyzed histologically, nine exhibited spermatogenesis. However, these individuals were distributed between the dry season and dry 2013 2014.

Keyword: Histology, Reproduction, Testicular Morphometry.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	9
1. Família molossidea.....	10
2. Morfofisiologia do sistema reprodutor masculino.....	13
3. Espermatogênese.....	15
4. Histomorfometria testicular.....	16
REFERÊNCIAS.....	18
CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOMÉTRICAS GONADAL E EPIDIDIMAL DE <i>NYCTINOMOPS LATICAUDATUS</i> (É. GEOFFROY, 1805) EM CAMPO GRANDE/MS	
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E METODOS.....	31
RESULTADOS.....	33
DISCUSSÃO.....	37
AGRADECIMENTOS.....	40
REFERÊNCIAS.....	40

INTRODUÇÃO

Os morcegos pertencem à ordem Chiroptera (Reis et al., 2007), e constituem um dos grupos de mamíferos mais diversificados do mundo, com 18 famílias, 202 gêneros e 1024 espécies (Simmons, 2005; IUCN, 2008), o que representa aproximadamente 22% das espécies de mamíferos conhecidas atualmente (Wilson e Reeder, 2005).

A ordem Chiroptera é dividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera. Os pteropodídeos ocorrem nas regiões tropicais da África, Índia, sudeste da Ásia e Austrália (Fenton, 1992). Seu peso corporal pode ultrapassar 1,5 Kg, com envergadura de 1,7 a 2 m (Simmons, 2005). Os microchiropteros encontram-se amplamente distribuídos por todo o globo, não ocorrendo apenas nas regiões polares. Envolvem 17 famílias, 157 gêneros e 930 espécies, com variações de peso entre 2 e 200 gramas (Simmons, 2005). No Brasil são conhecidas nove famílias, 64 gêneros e 167 espécies. Representa a segunda ordem em riqueza de espécies dentre os mamíferos, sendo superada apenas pela ordem Rodentia, com 235 espécies habitando todo o território nacional, inclusive áreas urbanas (Reis et al., 2007).

Estes animais merecem atenção especial por interagirem de diversas maneiras no ambiente, como dispersores de sementes, agentes polinizadores, ou como agentes controladores de populações de insetos e vetores de zoonoses. Além disso, possuem características exclusivas que os tornam alvo de grande interesse científico, por serem os únicos mamíferos voadores e, portanto, possuírem grande facilidade de dispersão e uma fisiologia única adaptada ao voo (Altringham, 1998; Reis et al., 2007).

A biologia reprodutiva de morcegos pode ser tão variável quanto os hábitos que eles apresentam (Pirlot, 1967; Dweyr, 1970). Morcegos apresentam em geral os mais variados padrões de atividade reprodutiva. Como fatores ambientais interferem diretamente em seu ciclo reprodutivo, uma mesma espécie pode comportar-se de diferentes maneiras, dependendo da área de sua ocorrência e das condições climáticas que lá predominam (Altringham, 1998; Neuwiler, 2000).

Em regiões tropicais, fatores climáticos combinados, como temperatura e precipitação pluviométrica, influenciam a disponibilidade de alimento, o que interfere diretamente no ciclo reprodutivo dos morcegos (Fleming et al., 1972). Morcegos insetívoros apresentam padrão reprodutivo tipicamente monoestral. No entanto, em espécies onde a disponibilidade de alimento não está sujeita a variações sazonais, pode-se observar poliestria, com picos de nascimento duas vezes ao ano (Fleming et al., 1972; La Val e Fitch, 1977).

A reprodução se apresenta como um grande desafio aos mamíferos, devido ao alto custo energético e a maior vulnerabilidade a predadores. (McLean & Speakman, 1999). Uma estratégia reprodutiva comum entre estes animais é o sistema de acasalamento poligâmico, onde um macho defende um harém, não permitindo que outros machos se aproximem, e este macho dominante pode então copular com várias fêmeas (Bradbury e Ehrencamp, 1977; Altringham, 1998). A poligamia é provavelmente o sistema de acasalamento que prevalece entre morcegos (Nowak, 1994), embora possam também ser observados os sistemas de acasalamento dos tipos monogâmico e promíscuo, dependendo da região e da espécie (Nowak, 1994; Altringham, 1998). O tamanho do harém é variável, dependendo da espécie e do grupo. Segundo Bradbury e Ehrencamp (1977), o morcego neo-tropical *Saccopteryx bilineata*, por exemplo, pode formar haréns compostos de um macho para oito fêmeas, em um grupo de cerca de 40 morcegos.

Segundo Bonaccorso (1979), as espécies que dependem da sazonalidade são classificadas em sazonal monoestral e sazonal poliestral, ou poliestral anual. Aquelas espécies que não dependem de sazonalidade são denominadas assazonais e, neste caso, estão freqüentemente relacionadas ao comportamento dos machos (Pacheco, 2001).

O objetivo desse estudo foi avaliar a biometria, histologia e histomorfometria gônadal e epididimal em *Nyctinomops laticaudatus* encontrados na região de Campo Grande/MS, e compará-las entre os períodos estacionais através de análises morfológicas com intuito de identificar a variação estacional da espermatogênese nesta espécie.

A avaliação histológica torna-se um instrumento útil que permite quantificar e qualificar a espermatogênese dos animais. A quantificação pode ser estimada por análises morfométricas de diferentes medidas, cujo objetivo é comparar mudanças estruturais em células e tecidos, além da densidade de certas estruturas parenquimatosas (Micklem & Sandersons, 2001).

1. Família Molossidae

Os animais da família Molossidae caracterizam-se por apresentar a cauda livre, ultrapassando a borda distal do uropatágio e projetando-se em pelo menos um terço de seu comprimento total. Apresentam asas longas e estreitas, cuja envergadura varia entre 240 e 450 mm. Esta característica morfológica corresponde à adaptação ao voo rápido e manobrável (Fabián e Gregorin, 2007). Em molossídeos geralmente há dimorfismo sexual

em relação ao tamanho corporal, com os machos maiores que as fêmeas, além de diferenças na morfologia externa das gônadas. São morcegos exclusivamente insetívoros (Fabián e Gregorin, 2007).

Esta família é representada por 26 espécies, distribuídas em 7 gêneros (Barquez et al., 1988; González, 1989; Koopman, 1993).

O morcego *N. laticaudatus* apresenta-se com uma coloração dorsal marrom escura e ventralmente mais claro com a base dos pelos esbranquiçada (Hall 1981; Shamel 1931). As membranas das asas são inteiramente nuas e semitransparente. A segunda falange do quarto dígito é inferior a um quarto de comprimento da 1ª falange (Freeman 1981; López González-1998). As orelhas são grandes e arredondadas, com bordas superiores se juntando a testa. O tragus é pequeno e quadrado o antitragus é mais alongado e pode chegar até 4 mm de comprimento. O focinho é pontiagudo e o lábio superior está profundamente enrugado, com dobras verticais que salientam o lábio inferior. A mandíbula do *Nyctinomops* é prolongada e delicada em comparação com outros molossídeos (Freeman, 1981).

Nyctinomops laticaudatus são amplamente distribuídos na América tropical e subtropical do nível do mar até 1700m, mas principalmente abaixo de 500 m. Estes morcegos ocorrem do sul do México indo para Península Yucatan, América Central e daí para a América do Sul até o Rio Grande do Sul, no Brasil (Hall 1981; Jones et al. 1973; McCarthy et al. 1993; Polaco et al. 1992; Sanchez-Hernandez and Gavino 1987; Silva and Souza 1980; Wilson et al. 1985). Também ocorre em Cuba (Silva-Taboada e Koopman 1964), Trinidad (Goodwin e Greenhall 1961), leste da Cordilheira dos Andes, na América do Sul, leste da Colômbia, Venezuela, Guianas, Suriname, Brasil, porções leste do Peru e da Bolívia, do Paraguai e do fim da Argentina. Para o oeste dos Andes, *N. laticaudatus* é distribuídos a partir noroeste da Venezuela e da Colômbia ocidental a noroeste do Peru (Ascorra et al, 1996; Barquez et al, 1999; Graham Barkley e 1984; Mares et al. 1981a, 1981b; Silva e Souza 1980; Taddei e Garutti 1981; Vaccaro 1992).

Nyctinomops laticaudatus ocupa diversos ambientes, floresta húmida subtropical (Mares et al. 1981a), floresta decídua tropical (Alvarez 1963; Jones et al. 1973; Nun-ez-Garduno et al. 1981), savana ou cerrado (Mares et al., 1989), a vegetação (Barquez et al., 1999) floresta com mangue e coqueiros (Best e Kennedy, 1984). Também tem sido capturado em áreas urbanas (Bowles et al 1990; dos Reis et al, 1993; Jones et al. 1973). Este morcego usa uma variedade de abrigos diurnos. O uso de cavernas foi visto apenas no nordeste do México (Alvarez, 1963; Dalquest e Roth 1970; Polaco et al. 1992; Villa-R.

1960). Em Cueva del Abra, Tamaulipas, *Nyctinomops laticaudatus* foi observado perto da entrada da caverna, em uma área levemente iluminada. Os indivíduos foram empoleirados dentro as fendas, canais, e sinuosas depressões entre estalactites formadas nas paredes, a uma altura de pelo menos 30 m (Villa-R., 1960). Também é encontrado comumente dentro cavidades e fendas em modernas estruturas feitas pelo homem (Handley 1966, 1976; Jones, 1966; Murie 1935; Ryan 1960; Silva-Taboada 1979), em ruínas maias (Bowles et al 1990; Jones et al., 1973; Ma'laga e Villa-R. 1956), entre as rochas (Handley 1976), e dentro de fissuras de penhascos rochosos que fazem fronteira com margens da costa do Pacífico (Sa'nchez-Hernández e Gavin~ o 1987). O tamanho do grupo de morcegos empoleirados varia entre 150 e 1.000 indivíduos (Bowles et al. 1990; Jones 1966; Málaga e Villa-R. 1956; Murie 1935; Ryan 1960; Silva-Taboada e Koopman 1964), embora " milhares " de morcegos foram observados em uma caverna (Villa-R., 1960). Os indivíduos foram observados bem agrupados dentro de abrigos, em contato uns com os outros (Ryan 1960; Silva-Taboada 1979). Eles normalmente são visíveis quando empoleirados e fazem sons audíveis, mas se perturbado, eles recuam profundamente em fendas estreitas (Reid, 1997). Outras espécies podem estar presentes nos mesmos abrigos são *Artibeus jamaicensis*, *Artibeus lituratus*, *Desmodus rotundus*, *Eumops glaucinus*, *Mormopterus minutus*, *Myotis nigricans*, *Natalus stramineus*, *Nyctinomops aurispinosus*, *N. femorosaccus*, *Pteronotus Parnelli*, e *Tadarida brasiliensis* (Alvarez, 1963; e Dalquest Roth 1970; Reddell e Mitchell, 1971; Silva-Taboada 1979; Villa- R. 1960).

No trato digestivo de *N. laticaudatus* de 11 espécimes adultos coletada em Cuba foram encontradas abundantes restos de coleópteros (alguns do gênero *Copelatus*) e alguns restos de lepidópteros (Silva-Taboada 1979).

Restos de ossos de *Nyctinomops laticaudatus* foram encontrados nas fezes de coruja (*Tyto alba*), (Alvarez 1963; Arroyo-Cabrales e Alvarez 1990; Dalquest e Roth 1970; Massoia et al. 1989). Corujas mocho-diabo (*Asio stygius*) predam estes morcegos (Motta Júnior e Taddei 1992), e pequenos gaviões perseguiram os morcegos *Nyctinomops laticaudatus* que voaram para fora de um abrigo à luz do dia após a manipulação humana (Málaga e Villa-R. 1956). Em Cuba, cobras (gênero) *Epicrates* predaram em subida morcegos empoleirados (Silva-Taboada 1979).

Nyctinomops laticaudatus abriga várias espécies de pulgas (Siphonaptera: *Hormopsylla kyriophylla*, *Ptilopsylla leptina stubbei*, e *Rothschildopsylla noctilionis* (Morales-Mucinõ e Llorente- Bousquets 1985), ácaros (Acarina: *Chiroptonyssus*

robustipes, *C. venezolanus*, *Ewingana yaguajayensis*, e *Notoedres Lasionycteris* (Silva-Taboada 1979), e as larvas (Acarina: *Hooperella yucatanica*, *Tecomatlana yucatanica* (Loomis 1969). Endoparasitas de *N. laticaudatus* incluem trematodes (*Limatulum solitarium*, *Ochoterenatrema diminutum*, *O. pricei*, *Postorchigenes cubensis*, e *Urotrema scabridum*), cestóidas (*Vampirolepis decipiens*), e nematódas (*Anoplostrongylus paradoxus*, *Litomosoides guiterasi*, *L. chandleri*, *Physaloptera*, e *Physocephalus sexalatus* (Silva-Taboada 1979).

2. Morfofisiologia do sistema reprodutor masculino

O sistema reprodutivo de quirópteros machos é, em geral, semelhante ao dos demais mamíferos, do ponto de vista anatômico, histológico e funcional, composto por diferentes estruturas incluindo os testículos, os ductos urogenitais e as glândulas sexuais secundárias. Estas estruturas e a hipófise interagem para coordenar a atividade reprodutiva. O hipotálamo secreta GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas), que controla a produção e a secreção de LH (hormônio luteinizante) e de FSH (hormônio folículo estimulante) na hipófise, sendo que estes dois hormônios são os responsáveis pela regulação da função testicular (Johnson *et al.*, 1970; Lars, 1995).

Os testículos consistem de duas glândulas (cada qual suspensa dentro da bolsa escrotal por um cordão espermático e pelo músculo cremáster externo) e desenvolvem-se retroperitonealmente na parede dorsal da cavidade abdominal. No desenvolvimento fetal eles migram e alojam-se dentro da bolsa escrotal, ficando suspensos na extremidade do cordão espermático. Durante a migração cada testículo arrasta consigo um saco de membrana serosa, a túnica vaginal, derivada do peritônio. (Junqueira & Carneiro, 2008). Os testículos têm como função primária a produção de espermatozóides e de hormônios, como a testosterona. Este órgão apresenta estrutura similar em várias espécies de mamíferos, diferindo em geral a proporção volumétrica dos seus componentes. Tem como estrutura de revestimento uma cápsula conjuntiva que envia septos para o seu interior, dividindo-o em lóbulos. Dentro dos quais encontramos os túbulos seminíferos, contendo as células germinativas e de Sertoli (Banks, 1992). O escroto junto com a túnica dartos, os músculos cremasteres e as artérias e veias testiculares tem como função a nutrição e oxigenação celular, além da regulação da temperatura testicular (Polguj *et al.*, 2010) que deve permanecer de 4,0 a 5,0°C mais baixa que a temperatura corpórea (Kastelic *et al.*, 1996).

A testosterona é um hormônio esteróide que atua em inúmeras fases do processo reprodutivo do macho, que vai desde a diferenciação sexual até o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Determina o comportamento sexual além de manter a função epididimal e das glândulas sexuais acessórias (Hafez, 2004).

Histologicamente, o tecido testicular pode ser dividido em tubular e intersticial. O tubular é constituído pelo epitélio seminífero que apresenta-se enovelado e comporta as células das linhagens germinativas e células de Sertoli. As células de Sertoli, através de junções de oclusão, dividem o epitélio seminífero em dois ambientes: o ambiente basal, onde localizam-se as espermatogônias e os espermatócitos primários na fase inicial da prófase meiótica (pré-leptótenos), e o ambiente adluminal, no qual se encontram os espermatócitos primários a partir da fase de leptóteno, espermatócitos secundários e espermátides. Desta forma, o ambiente adluminal está totalmente sob o controle das células de Sertoli, propiciando um microambiente isolado e protegido da ação do sistema imune, essencial para o desenvolvimento do processo espermatogênico (Russell et al., 1990; Setchell, 1991; Sharpe, 1994). Circundando externamente os túbulos seminíferos, encontra-se a túnica própria a qual consiste de uma lâmina basal, revestida por um feixe multilaminar fusiforme interligado às fibras colágenosas e elásticas, as células mióides ou peritubulares que estão relacionadas à contração e adaptação tubulares frente às variações do tecido intersticial. (Russell et al. 1990; Trainer, 2007).

No interstício tubular, encontram-se as células de Leydig (produtoras de andrógenos), vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibroblastos e terminações nervosas (Rodrigues & Favaretto, 1999). As células intersticiais ou de Leydig são as responsáveis pela produção de testosterona e estão localizados no estroma testicular. Fawcett *et al.* (1973), descreveram que o arranjo e a proporção dos elementos constituintes do espaço intertubular em diferentes espécies de mamíferos seguem em geral três padrões distintos: 1- espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular; 2- espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo; 3- espécies nas quais agrupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular.

O testículo possui basicamente duas funções, uma exócrina, relativa à espermatogênese e a outra endócrina, relativa à resposta hormonal responsável pela diferenciação sexual e pelas características sexuais secundárias (Varner & Johnson, 2007).

De acordo com a sequência morfológica, os espermatozóides deixam os túbulos seminíferos e entram na *rete testis*, depois seguem ao ducto eferente e ao epidídimo (Hafez, 2004). Este consiste em um tubo espiralado que tem como principais funções, a maturação espermática. Posteriormente, os espermatozóides seguem para o ducto deferente, ducto ejaculatório e a uretra (Setchell, 1993).

3. Espermatogênese

A espermatogênese é essencial para fertilidade do macho, propiciando a perpetuação e diversidade genética, especialmente nas espécies onde o macho se acasala com várias fêmeas. Esse processo ocorre nos testículos, começando na periferia e progredindo em direção à luz tubular, e envolve uma série complexa de divisões e diferenciações celulares (Setchel, 1978). É um processo definido como conjunto de divisões e transformações através das quais as células-tronco da linhagem germinativa masculina, as espermatogônias, dão origem aos espermatozóides (Castro *et al.*, 1997).

Nos adultos a espermatogênese é um processo contínuo que pode ser dividido em três fases distintas: fase mitótica ou espermatogônica; fase meiótica; e a espermiogênese (Ross e Rowrell, 1993).

A espermatocitogênese é a fase onde ocorre a multiplicação mitótica das espermatogônias A1, resultando em células mais diferenciadas, denominadas A2, A3, In, B1 e B2 (Berndston & Desjardins, 1974). Posteriormente, as espermatogônias do tipo B2, transformam-se em espermatócitos primários, que sofrem divisões meióticas, gerando os espermatócitos secundários. (Hafez & Hafez, 2004). Na terceira fase da espermatogênese, os espermatócitos secundários se dividem em espermátides que logo em seguida se diferenciam através de uma série de modificações morfológicas progressivas em espermatozóides, processo usualmente conhecido como espermiogênese, na qual as espermátides arredondadas se diferenciam em espermátides alongadas, envolvendo achatamento nuclear, condensação da cromatina e paralisação da transcrição (JOHNSON, 2000). O alongamento das espermátides é iniciado quase ao mesmo tempo em que ocorre a condensação nuclear. Este período é caracterizado pela formação do flagelo e pelo acúmulo de mitocôndrias na peça intermediária. Associado a estes eventos, ocorre uma redução progressiva do volume citoplasmático, caracterizado pela eliminação de água, formando um corpo residual de citoplasma o qual é fagocitado pelas células de Sertoli. Finalmente, as espermátides maduras serão liberadas para o

lume tubular, passando então a se chamar espermatozóides, marcando, assim, o final da espermatogênese (GARTNER e HIATT, 2003).

De maneira geral, nos animais sexualmente maduros as espermatogônias podem ser classificadas em duas categorias básicas: espermatogônias indiferenciadas e diferenciadas (De Rooij, 1998). As espermatogônias isoladas (Ai), pareadas (Apr) e alinhadas (Aal) pertencem à primeira categoria, enquanto as espermatogônias do tipo A, intermediárias (In) e espermatogônias do tipo B pertencem à categoria das diferenciadas, estando comprometidas de forma irreversível com a formação de espermatozóides. Vale ressaltar que existem consideráveis diferenças em relação ao número de gerações de espermatogônias diferenciadas nas diversas espécies de mamíferos. No entanto, este número não ultrapassa seis gerações (Russell et al., 1990; França e Russell, 1998; De Rooij e Grootegoed, 1998).

As células espermatogênicas encontram-se dispostas nos túbulos seminíferos de forma organizada e bem definida, constituindo associações celulares que caracterizam os estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES). Considera-se uma associação celular ou estádio do CES, como sendo um conjunto definido de gerações de células germinativas encontrado, em determinado momento, num túbulo seminífero seccionado transversalmente (Castro *et al.*, 1997; Becker-Silva, 2000). Com exceção de algumas espécies de primatas, o arranjo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero é segmentar em todos os mamíferos investigados e usualmente existe somente um estádio por secção transversal de túbulo seminífero (Leblond e Clermont, 1952; Russell et al., 1990). Dentre os sistemas utilizados para se estudar os estádios do ciclo do epitélio seminífero, o mais empregado é aquele baseado na forma e na localização dos núcleos das espermátides e na presença de figuras de divisões meióticas (Roosen-Runge e Giesel Jr., 1950; Courot et al., 1970; Guerra, 1983; França, 1991).

4. Histomorfometria testicular

A análise de imagem é utilizada em histopatologia para obter-se dados precisos, mediante mensuração e contagem, sendo que as mensurações de imagens microscópicas são tão antigas quanto o próprio microscópio. Informações importantes com implicações diagnósticas e prognósticas podem ser obtidas por meio da avaliação morfométrica de células e componentes teciduais. A morfometria nuclear estuda alguns parâmetros do núcleo como tamanho, forma e padrão da cromatina. Essas características

são importantes na medicina, por exemplo, para diferenciar células malignas das não malignas. Com base nessas diferenças, a morfometria é uma técnica que pode ser utilizada para aprimorar os parâmetros diagnósticos e fornecer fatores prognósticos confiáveis (Andrea et al., 2008).

No testículo, a biometria e a histometria são parâmetros que podem ser abordados na caracterização da puberdade e maturidade sexual, além de darem suporte aos estudos comparativos com animais de outras espécies (Silva, 1995). O diâmetro do túbulo seminífero é um parâmetro que pode ser abordado como indicador da atividade espermatogênica em avaliações com objetivos experimentais e análises toxicológicas (Assis-Neto, 2003). O volume do parênquima testicular de mamíferos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada na eficiência da produção espermática nas diversas espécies (Fontana et al., 1990; Hocking, 1997; França & Godinho, 2003). Para se avaliar a produção espermática, vários métodos tem sido utilizados, dentre os quais podem ser citados aqueles que se baseiam na histologia quantitativa e morfometria (França, 1991). A caracterização histomorfométrica de qualquer órgão ou tecido deve ser feita em lâminas com o mínimo de artefatos criados durante o processamento histológico. Contudo, as técnicas histológicas sempre geram artefatos que interferem na histomorfometria, sendo necessário o uso de técnicas que minimizem estes artefatos (França; Russel, 1998; França et al., 1998).

A mensuração do peso testicular compreende método de avaliação indireta do desenvolvimento reprodutivo, enquanto a quantificação do epitélio seminífero representa um método direto de avaliar o estágio reprodutivo dos machos (Viu et al., 2006).

Atualmente, as análises histomorfométricas são empregadas em imagens captadas digitalmente facilitando a criação e o armazenamento de um banco de diferentes categorias de medidas nos tecidos biológicos (Micklem & Sandersons, 2001). As imagens digitais são representadas por uma matriz, cujos elementos são agrupados em pixels (*picture elements*). Os pixels representam a unidade fundamental de formação de uma imagem. A partir dele, formam-se grupos distintos de imagens que podem ser processadas por meio de mensurações lineares, contagem da área e volume, determinação da forma, além de mensurações mais complexas e multiparamétricas (Oberholzer et al., 1996; Rashbass, 2000).

Diversas espécies tem sido usadas como modelo no emprego da histomorfometria testicular, como ratos albinos normais em diferentes idades (Miraglia et al., 1990), ratos adultos tratados com diferentes doses de ivermectina (Moura et al, 2006), cães e gatos

submetidos à castração (Hoshino et al., 2002), anuros durante o seu ciclo reprodutivo (Santos & Oliveira, 2007), ovinos tratados com fluoreto de sódio (Filappi et al., 2008), camundongos suplementados com geléia real (Morais et al., 2009), cachorros-do-mato (Caldeira et al., 2010), bovinos com testículos de diferentes formatos (Ferraz, 2011) e cabritos alimentados com óleo de licuri (Barbosa et al., 2012).

REFERÊNCIAS

- ANDREA, C. E.; TORRES, L.F.B.; ALVES, M.T.S. Análise da morfometria nuclear: descrição da metodologia e o papel dos *softwares* de edição de imagem. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, n.1, p. 51-57, 2008.
- ALTRINGHAM, J.D., 1998. **Bats: Biology and behavior**. University Press, Oxford, 262p.
- ALVAREZ, T. 1963. **The Recent mammals of Tamaulipas**, Mexico. University of Kansas Publications, Museum of Natural History 14:363–473.
- ASCORRA, C. F., S. SOLALRI, AND D. E. WILSON. 1996. **Diversidad y ecología de los quirópteros de Pakitza**. Pp. 593–612 in Manu: the biodiversity of southeastern Peru (D. E. Wilson and A. Sandoval, eds.). Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- ASSIS-NETO, A. C.; MELO, M. I.V.; CARVALHO, M. A. M.; MIGLINO, M. A.; OLIVEIRA, M. F. Quantificação de células dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal Veterinari Animal Science**. v.40, sup. 3, São Paulo, 2003.
- ARROYO-CABRALES, J., AND T. ALVAREZ. 1990. Restos óseos de murciélagos procedentes de las excavaciones de las grutas de Loltún. Colección Científica, Instituto Nacional de Antropología e Historia Mexico 194:1–103.
- BANKS, W.J. **Histologia veterinária aplicada**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.
- BARBOSA, L.P.; OLIVEIRA, R.L.; SILVA, T.M.; JESUS, I.B.; GARCEZ NETO, A.F.; BAGALDO, A.R. Morfometria testicular de caprinos alimentados com óleo de licuri (*Syagrus coronata*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.64, n.4, 2012.
- BARQUEZ, R., M. A. MARES, AND J. K. BRAUN. 1999. The bats of Argentina. Special Publications, The Museum, Texas Tech University 42:1–275.
- BARQUEZ, R.M., 1988. Notas on identity, distribution and ecology of some Argentine bats. **Journal of Mammalogy**. 69(4): 873-876.
- BEASLEY, L.J., ZUCKER, I., 1984. Photoperiod influences the annual reproductive cycle of the male pallid bat (*Antrozous pallidus*). **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 70, p. 567-573.

BECKER-SILVA, S.C. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos Saanen, criados em sistema intensivo.** 177p. Belo Horizonte: Universidade federal de Minas Gerais, Dissertação de Mestrado, 2000.

BERNDSTON, W.E.; DESJARDINS, C. The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. **American Journal of Anatomy**, v. 140, p. 167-179, 1974.

BERNARD, R.T.F., 1986. Seasonal changes in plasma testosterone concentrations and Leydig cell and accessory gland activity in the Cape horseshoe bat (*Rhinolophus capensis*). **Journal of Reproduction and Fertility**. v.78, p. 413-422.

BEST, T. L., AND M. L. KENNEDY. 1984. The broad-tailed bat (*Tadarida laticaudata*) in Colima, México. *Southwestern Naturalist* 29:360–361.

BONACCORSO, F.J., 1979. Foraging and reproductive ecology in a Panamanian bat community. **Bulletin of the Florida State Museum, Biological Sciences**. v. 24, p. 359-408.

BORDIGNON. M. O., & FRANÇA A. O. , 2012. **Reproduction of the greater bulldog bat *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae) in a mangrove area in southern Brazil.**

BOWLES, J. B., P. D. HEIDEMAN, AND K. R. ERICKSON. 1990. Observations on six species of free-tailed bats (Molossidae) from Yucatan, Mexico. *Southwestern Naturalist* 35:151–157.

BRADBURY, J.W., EHRENCAMP, S.L., 1977. Social organization and foraging in emballonurid bats. I. Field studies. **Behavioral, Ecology and Sociobiology**. v. 1, p. 337-81.

CALDEIRA, B.C.; PAULA, T.A.R.; MATTA, S.L.P.; BALARINI M.K.; CAMPOS, P.K.A. Morfometria testicular e de túbulos seminíferos do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adulto. **Revista Ceres**, v. 57, n.5, p. 569-575, 2010.

CASTRO, A.C.S.; BERNDTSON, W.E.; CARDOSO, F.M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudo da reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 21, n.1, p.25-34, 1997.

COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T., ORTAVANT, R., 1970. Spermatogenesis. In: Johnson, A.D., Gomer, W.R., Vandemark, N.L. (Eds.). **The testis**. Academic Press, New York, pp. 399-432.

CRICHTON, E.G., KRUTZSCH, P.H. 2000. **Reproductive Biology of Bats**, Academic Press, London, United Kingdom.

DALQUEST, W. W., AND E. ROTH. 1970. Late Pleistocene mammals from a cave in Tamaulipas, Mexico. *Southwestern Naturalist* 15:217–230.

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

DE ROOIJ, D.G., Grooteoed, J.A., 1998. Spermatogonial stem cells. **Currently Opinion in Cell Biology**. 10: 694-701.

- DOS REIS, N. R., A. L. PERACCHI, AND M. K. ONUKI. 1993. Quirópteros de Londrina, Parana', Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista Brasileira de Zoologia** 10:371–381.
- DUARTE, A. P. G., TALAMONI, A. S. 2010. Reproduction of the large fruit-eating bat *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Brazilian Atlantic forest area, **Mammal. Biol.** v. 75, p. 320–325.
- DWEYR, P.D. 1970. Latitude and breeding season in a polyestrus species of *Myotis*. **Journal of Mammalogy**, v. 51, n. 2, p. 405-410.
- FABIÁN, M.E., GREGORIN, R., 2007. Família Molossidae. In: Reis, N. R, Peracchi, A. L., Pedro, W. A., Lima, I. P. (Eds.). **Morcegos do Brasil**. Editora da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, pp. 149-165.
- FAWCET, DW. A comparative view of sperm ultrastructure. **Biology of Reproduction**, v. 2, p. 90-127, 1970.
- FENTON, M.B., 1992. **Bats**. Facts On File, New York, 207p.
- FERRAZ, H.T. Histomorfometria testicular e sua associação com a qualidade seminal em machos Nelore. Tese de doutorado. Universidade Federal de Goiás, Goiânia- GO, 2011.
- FILAPPI, A.; PRESTES, D.; ROCHA, R.; SCHOSLLER, D. R.; BONDAN, C.; BRAGANÇA, J. F.; CECIM, M. Qualidade seminal e histomorfometria dos órgãos reprodutivos de ovinos tratados com fluoreto de sódio. **Ciência Rural**, v. 38, n.9, p.2561-2566, 2008.
- FLEMING, T.H., HOOPER, E.T.. WILSON D.E. 1972. Three central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns, **Ecology** v. 53 p. 555–569.
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D., 1998. The testis of domestic mammals. In: Regadera, J., Martinez-Garcia, F. (Eds.). **Male reproduction: a multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, pp.197-219.
- FRANÇA, L.R., 1991. **Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 180p.
- FREEMAN, P. W. 1981. A multivariate study of the family Molossidae (Mammalia: Chiroptera): morphology, ecology, evolution. *Fieldiana: Zoology (New Series)* 7:1–173.
- GARTNER, L.P. e HIATT, J.L. **Tratado de Histologia em Cores**. 2ª ed. Guanabara Koogan, RJ, 2003.
- GIER, H.T., MARION, G.B., 1970. Development of mammalian testis. In: Johnson, A.D., Gomes, .R., Van Der Mark, N.L. (Eds.). **The testis**. Academic Press, Londres, p. 2-45.
- GOODWIN, G. G., AND A. M. GREENHALL. 1961. A review of the bats of Trinidad and Tobago. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 122:187–302.

GONZÁLEZ, J.C., 1989. Guia para la identificación de los murciélagos del Uruguay. **Museo Damaso Antonio Larrañaga**, 2: 1-50.

GUERRA, M.O., 1983. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. **Revista Brasileira de Biologia**. 43(4): 385-394.

GRAHAM, G. L., AND L. J. BARKLEY. 1984. Noteworthy records of bats from Peru. *Journal of Mammalogy* 65:709–711.

GUSTAFSON, A.W., SHEMESH, M., 1976. Changes in plasma testosterone levels during the annual reproductive cycle of the hibernating bat *Myotis lucifugus lucifugus* with a survey of plasma testosterone levels in adult male vertebrates. **Biology of Reproduction**. v.15, p. 9-24.

GUSTAFSON, A.W., 1987. Changes in Leydig cell activity during the annual testicular cycle of the bat *Myotis lucifugus lucifugus*: histology and lipid histochemistry. **American Journal of Anatomy**. v. 178, n. 4, p. 312-325.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 7ª Ed. São Paulo: Manole, p.33-107, 2004.

HALL, E. R. 1981. The mammals of North America. John Wiley & Sons, New York 1:1–600 1 90.

HANDLEY, C. O., JR. 1966. Checklist of the mammals of Panama. Pp. 753–795 in *Ectoparasites of Panama* (R. L. Wenzel and V. J. Tipton, eds.). Field Museum of Natural History, Chicago, Illinois.

HANDLEY, C. O., JR. 1976. Mammals of the Smithsonian Venezuelan Project. *Brigham Young University Science Bulletin Biological Series* 20:1–89.

HEIDEMAN, P.D. 1995. Synchrony and seasonality of reproduction in tropical bats, **Symp. Zoologic. Soc.** London. v. 67, p. 151–165.

HOSHINO, P.; NAKAGHI L.S.O.; PACHECO, M.R.; LUI, J.F., MALHEIROS, E.B. Morfometria dos túbulos seminíferos e ductos epididimários de cães e gatos provenientes de cirurgia de castração. **Biotemas**, v. 15, n.1, p.97-112, 2002.

IUCN - International Union for Conservation of Nature., 2008. **IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em julho de 2013.

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

JONES, J. K., JR., J. D. SMITH, AND H. H. GENOWAYS. 1973. Annotated checklist of mammals of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Chiroptera. Occasional Papers of The Museum, Texas Tech University* 13:1–31.

JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VANDEMARK, N.L. **The testis**. Biochemistry. Academic Press, Inc. v. 2. 1970.

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.471-480, 2000.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 414-430, 2008.

KASTELIC J.P., COOK R.B., COULTER G.H. & SAACKE R.G. Insulating the scrotal neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull. **Theriogenology**, v.45, p.935-942, 1996.

KOOPMAN, K.F., 1993. Order Chiroptera. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M. (Eds.). **Mammalian species of the World, a taxonomic and geographic reference**. Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 137-241.

KUNZ, T. H. & LUMSDEN L. F. 2003. Ecology of cavity and foliage roosting bats. In: Bat ecology. Thomas H. Kunz & M. Brock Fenton (eds). The University of Chicago press, Chicago.

KRUTZSCH, P.H., CRICHTON, E.G., 1987. Reproductive biology of the male little mastiff bat, *Mormopterus planiceps* (Chiroptera:Molossidae), in southeast Australia. **American Journal of Anatomy**. v. 178, n. 4, p. 352-68.

LARS, E.E. Fundamentals of veterinary reproductive endocrinology. **Seminario de actualizacion en endocrinología de la reproduccion**. Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay. p. 1-118. 1995.

LA VAL, R.K., FITCH, H.S., 1977. Structure, movement and reproduction in three Costa Rica bat communities. **Occasional Paper Museum of Nature History University Kansas**. v. 69, p.1-28.

LEBLOND, C.P., CLERMONT, Y., 1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 55: 548-584.

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

LOOMIS, R. B. 1969. Chiggers (Acarina: Trombiculidae) from vertebrates of the Yucatan Peninsula, Mexico. Miscellaneous Publications, Museum of Natural History, University of Kansas 50:1-22.

LÓPEZ-GONZÁLEZ, C. 1998. Systematics and zoogeography of the bats of Paraguay. Ph.D. dissertation, Texas Tech University, Lubbock, 395 pp.

MÁLAGA, A., AND B. VILLA-R. 1956. Algunas notas acerca de la distribución de los murciélagos de América del Norte relacionados con el problema de la rabia. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México 27:529-569.

MARES, M. A., J. K. BRAUN, AND D. GETTINGER. 1989. Observations on the distribution and ecology of the mammals of the cerrado grasslands of central Brazil. Annals of the Carnegie Museum 58:1-60.

- MARES, M. A., R. A. OJEDA, AND M. P. KOSCO. 1981a. Observations on the distribution and ecology of the mammals of Salta Province, Argentina. *Annals of the Carnegie Museum* 50: 151–206.
- MARSHALL, A.J., CORBET, P.S., 1959. 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.
- MASSOIA, E., J. C. CHEBEZ, AND S. HEINONEN. 1989. Mamíferos y aves depredados por *Tyto alba tuidara*, en el Arroyo Yabebirí, Departamento Candelaria, Provincia de Misiones. *Aprona* 15:8–13.
- MCCARTHY, T. J., W. B. DAVIS, J. E. HILL, J. K. JONES, JR., AND G. A. CRU. 1993. Bat (Mammalia: Chiroptera) records, early collectors, and faunal list for northern Central America. *Annals of Carnegie Museum* 62:191–228.
- MICKLEM, K., SANDERSONS, J. Digital imaging in pathology. **Current Diagnostic Pathology**., v. 7, p. 131 -140, 2001.
- MIRAGLIA, S.M.; HAYASHI, H.; GOLDFEDER, E. M. Histomorfometria dos testículos de ratos albinos normais em várias idades. **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, v.7, n.1, p.8-15, 1990.
- MOK, W. Y., WILSON, E. D., LACEY, L. A., LUIZÃO, R. C. C., 1982. Lista atualizada de quirópteros da Amazônia brasileira. **Acta Amazônica**. v.12, n. 4, p. 817-823.
- MORAIS, D. B., 2008. Morfologia e Morfometria Testicular em Morcego Insetívoro (*Molossus molossus*, PALLAS, 1776 CHIROPTERA: MOLOSSIDAE). Viçosa, MG.
- MORAIS, A.C.T.; BARBOSA, L.P.; NEVES M.M.; MATTA, S.L.P.; MORAIS, D.B.; MELO, B.E.S. Parâmetros morfofisiológicos testiculares de camundongos (*Mus musculus*) suplementados com geleia real. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.1, p.110-118, 2009.
- MORALES-MUCINÑO, J. C., AND J. LLORENTE-BOUSQUETS. 1985. Estado actual del conocimiento de los Siphonaptera de México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoológica* 56:497–554.
- MOURA, C.S.; GUERRA, M.M.P.; SILVA JÚNIOR, V.A.; SILVA, C.G.C.; CAJU, F.M.; ALVES, L.C. Avaliação histomorfométrica do parênquima testicular de ratos adultos tratados com diferentes doses de ivermectina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.799-808, 2006.
- MOTTA JUNIOR, J. C., AND V. A. TADDEI. 1992. Bats as prey of stygian owls in southeastern Brazil. *Journal of Raptor Research* 26:259–260.
- MURIE, A. 1935. Mammals from Guatemala and British Honduras. *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* 26:1–30.
- MCLEAN, J.A., SPEAKMAN, J.R., 2000. Effects of bodymass and reproduction on the basal metabolic rate of brown long-eared bats (*Plecotus auritus*). **Physiol.Biochem.Zool.** v. 73, p. 112–121.

- NOWAK, R.M. 1991. **Walker's Mammals of the World.V.II.** 5ed. Betimore e London.The Johns Hopkins University Press.1629p.
- NOWAK, R.M. 1994. Walker's Bats of the World. The Johns Hopkins University Press, London, 287p.
- NUNEZ-GARDUNO, A., C. B. CHÁVEZ-T., AND C. SANCHEZ-HERNANDEZ. 1981. Mamíferos silvestres de la región de El Tuito, Jalisco, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoológica* 51:647–668.
- NEUWEILLER, G. 2000. The Biology of bats. New York, Oxford University Press. 310p.
- OBERHOLZER, M., ÖSTREICHER, M., CHRISTEN, H., BRÜHLMANN, M. Methods in quantitative image analysis. **Histochemistry and cell biology**, v. 105, p. 333-355, 1996.
- PACHECO, S.M. 2001. Biología Reprodutiva, Desenvolvimento Pré e Pós-Natal e Maturidade Sexual de Morcegos da Região Sul, Brasil (Chiroptera, Phyllostomidae, Vespertilionidae, Molossidae). **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 115p.
- PATTERSON, B., PASCUAL, R., 1972. The fossil mammal fauna of South America. In: Keast, A., Erik, F.C., Glass, B. (Eds.). **Evolution, mammals and southern continents**. State University New York Press, Albany, 543p.
- PIRLOT, P., 1967. Periodicite de la reproduction chez les chiropteres neotropic aux. **Mammalia**. v. 31, n. 3, p.361-366.
- POLACO, O. J., J. ARROYO-CABRALES, AND J. K. JONES, JR. 1992. Noteworthy records of some bats from Mexico. *Texas Journal of Science* 44:331–338.
- POLGUJ, M.; SOPIN, M.; JEDRZEJEWSKI, K.; BOLANOWSKI, W.; TOPOL, M. Angioarchitecture of the bovine tunica albuginea vascular complex – A corrosive and histological study. **Research in Veterinary Science**. 2010, doi:10.1016/j.rvsc.2010.12.002. Article in press: www.elsevier.com/locate/rvsc.
- RASHBASS, J. The impact of information technology on histopathology **Histopathology**, v. 36, n. 1, p.1-7, 2000.
- RACEY, P.A., TAM, W.H., 1974. Reproduction in male *Pipistrellus pipistrellus* (Mammalia: Chiroptera). **Journal of Zoology**. v. 172, p. 101.
- RACEY, P.A., ENTWISTLE, A.C. 2000. Life-history and reproductive strategies of bats, in: E.G. Crichton, P.H. Kruttsch (Eds.), *Reproductive Biology of Bats*, Academic Press, London, p. 363–414.
- REDDELL, J. R., AND R. W. MITCHELL. 1971. A checklist of the cave fauna of Mexico. II. Sierra de Guatemala. *Tamaulipas. Association for Mexican Cave Studies* 4:181–215.
- REIS, N.R., PERACCHI, A.L., PEDRO, W.A., LIMA, I.P., 2007. **Morcegos do Brasil**.
- REID, F. A. 1997. A field guide to the mammals of Central America and southeast Mexico. Oxford University Press, New York.

- RODRIGUES, J.A.; FAVANETTO A.L.V. Sistema Reprodutor In: MM AIRES Fisiologia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.877-917, 1999.
- ROOSEN-RUNGE, E.C., GIESEL JR.L.O., 1950. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **American Journal of Anatomy** 87(1): 1-30.
- ROSS, H.M., ROWRELL, L.J. **Histologia texto e atlas**. 2ª ed. Ed.Médica Panamericana, 1993.
- RUSSEL, L.D.; ETTLIN, R.A.; HIKIM, A.P.S.; CLEGG, E.D. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Cache River Press, St. Louis, USA. 286 p., 1990.
- RYAN, R. M. 1960. Mamíferos colectados en Guatemala en 1954. *Acta Zoologica Mexicana* 4:1–19.
- SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, C., AND G. GAVINÓ. 1987. Registros de murciélagos para la Isla La Penã, Nayarit, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología* 58:939–940.
- SANTOS, L.R.S., OLIVEIRA, C. Morfometria testicular durante o ciclo reprodutivo de *Dendropsophus minatus* (Anura, Hylidae). **Resvista brasileira de zoologia**, v.1, p.64-70, 2007.
- SETCHELL, B.P. Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P.T. **Reproduction in Domestic Animals**. Academic Press, Inc., San Diego, p. 221-250, 1991.
- SHAMEL, H. H. 1931. Notes on the North American bats of the genus *Tadarida*. *Proceedings of the United States National Museum* 78:1–27.
- SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The physiology of reproduction**. Raven Press, New York, p.1363-1434, 1994.
- SILVA, F., AND M. F. B. SOUZA. 1980. *Tadarida laticaudata* Geoffroy, 1805, nova ocorrência para o Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Chiroptera: Mammalia). *Iheringia Se'rie Zoologia* 56:3–5.
- SILVA-TABOADA, G. 1979. Los murciélagos de Cuba. Editorial Academia, Havana, Cuba.
- SILVA-TABOADA, G., AND K. F. KOOPMAN. 1964. Notes on the occurrence and ecology of *Tadarida laticaudata yucatanica* in eastern Cuba. *American Museum Novitates* 2174:1–6.
- SIMMONS, N.B., 2005. Order Chiroptera. In: Wilson, D. E. & Reeder, D. M. (Eds.). **Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, p. 312-529.
- SETCHELL, B.P., 1991. Male reproductive organs and semen. In: Cupps, P.T. (Ed.). **Reproduction in Domestic Animals**. Academic Press, Inc., San Diego, p. 221- 250. Editora da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 256p.

- SPEAKMAN, J.R., THOMAS, D.W., 2003. Physiological Ecology and Energetics of Bats. In: Kunz, T.H., Fenton, M.B. (Eds.), **Bat Ecology**. University of Chicago Press, Chicago, p. 430–490.
- TADDEI, V.A., DOURADO, D.M., JARDIM, M.I.A., SOUZA, C.C., BUCCINI, D.F., PUCHÉRIO, A., MENEGUELLI, M., SOUZA, H.A., 2001. Estudo histológico e histoquímico da glândula gular da espécie de morcego *Molossus molossus*. **Ensaio e Ciência**. v. 5, n. 2, p.141- 149.
- TADDEI, V. A., AND V. GARUTTI. 1981. The southernmost record of the free-tailed bat, *Tadarida aurispinosa*. *Journal of Mammalogy* 62:851–852.
- TIMM, R.M., 1994. The mammal fauna. In: McDade, L.A., Bawa, K.S., Hespenheide, H.A., artshorn, G.S. (Eds.). **La Selva: Ecology and natural history of a neotropical rain forest**. University of Chicago Press, Chicago, p. 229-237.
- TRAINER, T.D. Testis and Excretory Duct System. In.: MILLS, S.E. **Histology for Pathologists**. Lippincott Williams & Wilkins, 3 ed., PA, USA. p. 943-963, 2007.
- VACCARO, B. O. 1992. Comentarios sobre nuevas localidades para quiropteros de Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias naturales “Bernardino Rivadavia” e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales* 17:27–36.
- VARNER, D. D.; JOHNSON, L. From a Sperm’s Eye View—revisiting our perception of this intriguing cell. In: **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners**, v. 53, p. 104-177, 2007.
- VILLA-R., B. 1960. *Tadarida yucatanica* in Tamaulipas. *Journal of Mammalogy* 41:314–319.
- WILLIG, W.R. 1985. Reproductive patterns of bats from Caatingas and Cerrado biomes in Northeast Brazil. **Journal of Mammalogy**. v. 66, n. 4, p. 668 - 681.
- WILSON, D. E., R. A. MEDELLIN, D. V. LANNING, AND H. T. ARITA. 1985. Los murciélagos del noreste de México, con una lista de especies. *Acta Zoológica Mexicana, Nueva Serie* 8:1–26.
- WILSON, D.E., REEDER, D.M., 2005. **Mammal species of the world: taxonomic and geographic reference**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 2181p.
- ZORTÉA, M. 2003. Reproductive patterns and feeding habitats of three nectarivorous bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) from Brazilian Cerrado, **Braz. J. Biol.** v. 63 n. 1, p. 159–168.

Características histomorfométricas gonadal e epididimal de *Nyctinomops laticaudatus* (É. Geoffroy, 1805) em Campo Grande/MS
Gonadal and epididymal histomorphometric traits of *Nyctinomops laticaudatus* (Is. Geoffroy, 1805) in Campo Grande/MS

Lucas B. S. Azuaga¹; Carlos Eurico dos Santos Fernandes²; Marcelo O. Bordignon³;

¹Aluno do Mestrado em Biologia Animal, CCBS, UFMS, e-mail: lucasazuaga@gmail.com

²Professor adjunto, CCBS, UFMS, e-mail: carlos.fernandes@ufms.br

³Professor adjunto, CCBS, UFMS, e-mail: marcelo.bordignon@ufms.br

Resumo: O objetivo desse estudo foi avaliar a biometria, histologia e histomorfometria gônadal e epididimal em *Nyctinomops laticaudatus* encontrados na região de Campo Grande/MS, e compará-las entre os períodos estacionais (seca/chuva) através de análises morfológicas com intuito de identificar a variação estacional da espermatogênese nesta espécie. Foram utilizados 32 animais machos adultos capturados com redes de neblina. Após a eutanásia, realizada de acordo com a resolução nº 1000 de 2012 do CFMV, os testículos e epidídimos foram retirados e processados segundo as técnicas de rotina e corados com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori. Em seguida, foram tiradas fotografias das estruturas testiculares em magnitude de lente de 20x e 40x para serem analisadas. Nos testículos foram avaliados 30 segmentos tubulares de 10 imagens selecionadas ao acaso obtendo-se valores médios do diâmetro tubular (μm), espessura do epitélio germinativo e da espessura da túnica própria (μm). No epidídimo, foram avaliados 10 segmentos da cauda do epidídimo por animal, determinando-se o diâmetro (μm) médio e altura do epitélio (μm). Para a análise de densidade tecidual, foram digitalizadas 10 imagens ao acaso de cada animal em aumento de 40X. Em cada imagem foi introduzida um grade de 782 pontos, registrando-se a estrutura correspondente (túbulo seminífero, células de leydig, vaso linfático e vaso sanguíneo) considerando a área total (μm^2) estimada para cada imagem. Na classificação do ciclo espermatogênico, foram analisados 100 segmentos de túbulos seminíferos de cada animal e classificados de acordo com os tipos celulares presentes dentro dos tubúlos. Os resultados demonstraram que os machos da espécie *Nyctinomops laticaudatus* apresentam reprodução sazonal, com pico de atividade testicular iniciando no começo do período seco. Desta maneira aumentariam as chances de acasalamento com subsequente inatividade reprodutiva, coincidindo com o período gestacional das fêmeas.

Palavra chave: Histologia, Reprodução, Morfometria testicular.

Abstract: The aim of this study was to evaluate the biometrics, and gonadal histology and histomorphometry in epididymal *Nyctinomops laticaudatus* found in the region of Campo Grande / MS, and compare them with the seasons (dry / rain) through morphological analysis for the identification of the seasonal variation of spermatogenesis in this species. 32 animals adult males captured with mist nets were used. After euthanasia, the testis and epididymis were removed and processed according to routine procedures and stained with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome. Digital images were taken of testicular structures in 20x and 40x magnitude. Images (n=10) of testicular tubular segments (n=30) were randomly selected to give average values of the tubular diameter (microns), thickness of the germinal epithelium and the thickness of the tunica (microns). The caudal segment of epididymis (n=10), were evaluated per animal, determining the diameter (μm) and average height of the epithelium (μm). For tissue density analysis, 10 images at 40 x magnification were scanned, registering the percentual of seminiferous tubule, Leydig cells, lymphatic vessel and blood vessel considering the total area (μm^2). Spermatogenesis classification, were determinated according to the germinative cells presente in 100 seminiferous tubules. Presence or absence of sperm in the epididymis was observed between sesons. The results showed that the males of the species *Nyctinomops laticaudatus* have seasonal reproduction with peak testicular activity starting at the beginning of the dry season. In this way increase the chances of mating with subsequent reproductive inactivity, coinciding with pregnancy females.

Keyword: Histology, Reproduction, Testicular Morphometry.

Características histomorfométricas gonadal e epididimal de *Nyctinomops laticaudatus* (É. Geoffroy, 1805) em Campo Grande/MS
Gonadal and epididymal histomorphometric traits of *Nyctinomops laticaudatus* (Is. Geoffroy, 1805) in Campo Grande/MS

Lucas B. S. Azuaga¹; Carlos Eurico dos Santos Fernandes²; Marcelo O. Bordignon³;

1Aluno do Mestrado em Biologia Animal, CCBS, UFMS, e-mail: lucasazuaga@gmail.com

2Professor adjunto, CCBS, UFMS, e-mail: carlos.fernandes@ufms.br

3Professor adjunto, CCBS, UFMS, e-mail: marcelo.bordignon@ufms.br

Introdução

Os morcegos são mamíferos placentários pertencentes à ordem Chiroptera, dividida em duas subordens Megachiroptera e Microchiroptera e composta de cerca de 1.100 espécies (Kunz e Lumsden, 2003). São encontrados em todos os continentes, em regiões tropicais e temperadas, sendo reconhecidamente importantes na regulação dos ecossistemas tropicais como a Mata Atlântica (Reis et al., 2007). No Brasil constituem o segundo maior grupo de mamíferos em riqueza de espécies (Reis et al., 2007), representando em algumas áreas 50% das espécies de mamíferos (Patterson e Pascual, 1972; Timm, 1994).

Estes animais merecem especial atenção, por interagirem de diversas maneiras no ambiente, como dispersores de sementes, agentes polinizadores, ou como agentes controladores de populações de insetos e vetores de zoonoses. Além disso, possuem características exclusivas que os tornam alvo de grande interesse científico, por serem os únicos mamíferos voadores e, portanto, possuírem grande facilidade de dispersão e uma fisiologia única adaptada ao voo (Altringham, 1998; Reis et al., 2007).

Os Molossídeos ocorrem do sul da América Central e em toda a América do Sul até o norte da Argentina e Uruguai (Eisenberg & Redford, 1999). No Brasil estão presentes nos cinco biomas, Amazônia, Caatinga, Cerrado, Pantanal e Mata Atlântica (Marinho-Filho & Sazima, 1998), alimentando-se normalmente de insetos (Fabián e Marques, 1989). Estes animais caracterizam-se por apresentar a cauda livre, ultrapassando a borda distal do uropatágio e projetando-se em pelo menos um terço de seu comprimento total (Fabián e Gregorin, 2007).

Em Molossídeos geralmente há dimorfismo sexual em relação ao tamanho corporal, com os machos maiores que as fêmeas, além de diferenças na morfologia externa das gônadas (Fabián e Gregorin, 2007). Machos sexualmente maduros apresentam uma glândula bem desenvolvida na região do pescoço, chamada glândula gular (ou glândula hedônica). Acredita-se que esteja relacionada com a atração sexual, demarcação de território e locais de abrigo (Taddei et al., 2001). O tamanho e a atividade

secretória dessa glândula são cíclicos, alcançando picos durante o início da primavera coincidindo com o acasalamento sazonal (Davis et al., 1962).

A biologia reprodutiva de morcegos pode ser tão variável quanto os hábitos que eles apresentam. Dependendo de seu tipo de habitat, da localização deste, do abrigo, das condições climáticas e da disponibilidade de alimentos, diferentes espécies apresentam diferentes estratégias reprodutivas (Pirlot, 1967; Dweyr, 1970). A poligamia é provavelmente o sistema de acasalamento que prevalece entre morcegos (Nowak, 1994), onde um macho defende um harém, não permitindo que outros machos se aproximem, e este macho dominante pode então copular com várias fêmeas (Bradbury e Ehrencamp, 1977; Altringham, 1998), embora também ocorram sistemas dos tipos monogâmico e promíscuo, dependendo da região e da espécie (Nowak, 1994; Altringham, 1998).

O período reprodutivo é uma fase crítica para a maioria dos organismos estando diretamente associado às condições ambientais e fatores endógenos, (Neuweiler, 2000). Em regiões tropicais, fatores climáticos combinados, como temperatura e precipitação pluviométrica, influenciam a disponibilidade de alimento, o que interfere diretamente no ciclo reprodutivo dos morcegos (Fleming et al., 1972). Morcegos insetívoros apresentam padrão reprodutivo tipicamente monoestral. No entanto, em espécies onde a disponibilidade de alimento não está sujeita a variações sazonais, pode-se observar poliestria, com picos de nascimento duas vezes ao ano (Fleming et al., 1972; La Val e Fitch, 1977).

Neste contexto, as diferenças entre parâmetros espermatogênicos entre estas espécies em resposta aos efeitos estacionais, especialmente no ambiente de cerrado, são fundamentais para o estudo de novos aspectos ligados à biologia reprodutiva nestas espécies. Medidas morfométricas testiculares são empregadas com a finalidade de se conhecer a proporção dos elementos que constituem o parênquima testicular, bem como desenvolvimento de células, de túbulos seminíferos e do epitélio seminífero (Russell et al., 1990). Mensurações do diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero fornecem dados relevantes para a avaliação da eficiência espermatogênica (França e Russell, 1998).

Apesar de avanços nos estudos com enfoque evolutivo, alguns aspectos relativos à biologia reprodutiva ainda são notadamente pouco explorados, principalmente aqueles relacionados a morfofisiologia das glândulas do sistema genital (Christante et AL., 2008).

O objetivo desse estudo foi avaliar a biometria, histologia e histomorfometria gônadal e epididimal em *Nyctinomops laticaudatus* encontrados na região de Campo

Grande/MS, e compará-las entre os períodos estacionais através de análises morfológicas com intuito de identificar a variação estacional da espermatogênese nesta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Captura

Os animais foram capturados no Estádio Pedro Pedrossian (Morenã) localizado no campus da UFMS em Campo Grande, MS (20°26'34"S 54°38'45"O). As colheitas foram realizadas nos períodos de seca de 2013 (abril, agosto e outubro), chuva (dezembro e fevereiro) e seca de 2014 (abril e junho). Os animais foram capturados durante dois dias consecutivos a cada mês de colheita utilizando-se duas redes de neblina 2.6 × 9 m (CH9 model, Avinet Inc. USA), instaladas das 17:00 às 22 horas, sendo checadas de 15 em 15 minutos. A quantidade de animais machos capturados e utilizados no estudo encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade de animais machos capturados e utilizados de acordo com a estação e ano de estudo.

Estação	Capturados	Utilizados	Soltos
Seca 2013	28	11	17
Chuva	36	10	26
Seca 2014	23	11	12
Total	87	32	55

Foram utilizados 32 morcegos *Nyctinomops laticaudatus*, machos adultos identificados com base na calcificação da cartilagem epifisária do quarto dedo, na junção metacarpo-falange, de acordo com Kunz e Anthony (1982). Todos os animais capturados não utilizados foram soltos por não apresentarem características que os identificassem como sendo adultos. Após capturados e identificados com relação a faixa etária, os animais adultos foram levados ao laboratório em sacos de pano escuros afim de se evitar o estresse, para que no dia posterior fossem triados.

2. Colheita e análises biométricas

No laboratório os animais foram pesados com balança digital de precisão e medido o comprimento de seus antebraços com paquímetro digital. Após, os animais eram submetidos a eutanásia de acordo com a resolução nº 1000 de 2012 do CFMV utilizando uma medicação pré-anestésica com acepromazina na dose de 2,5 mg/kg (dose estipulada para ratos) aplicada por via subcutânea e, após alguns minutos a aplicação de tiopental sódico na dose de 150 mg/kg aplicado por via intraperitoneal (Protocolo n. 556/2013, CEUA/UFMS). Tendo-se certeza do óbito, os mesmos eram necropsiados e retirados suas gônadas sexuais.

Foram feitas análises biométricas que incluíram o peso corporal (g) e medida do antebraço (mm). O volume testicular foi calculado utilizando a fórmula $VT = ([largura]^2 * comprimento * 0,523)$, segundo Harcourt et al. (1995).

3. Análise histológica

Os testículos foram pesados com balança de precisão. Em seguida, foram seccionados longitudinalmente e fixados em solução de Bouin por uma hora, antes de serem passados para o álcool a 70% até o processamento histotécnico de rotina. Fragmentos foram emblocados em parafina, cortados à 5µm de espessura e corados em Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori.

Após o processamento do material, imagens (n=10) obtidas aleatoriamente de cada lâmina, foram capturadas em uma câmera fotográfica Nikon D3100 (4608x3072 *pixels*) acoplada a um adaptador (P95-T2 1,6x DSLR) em microscópio de campo claro (Zeiss Primo Star). Posteriormente, as imagens foram armazenadas e analisadas com auxílio dos *softwares* Motic 2.0 e ImageJ1.45m, calibrado para uma escala de 0,830 *pixels/micra* (Abramoff et al., 2004).

4. Análise histomorfométrica

No tecido testicular, foram avaliados 30 segmentos tubulares de 10 imagens selecionadas ao acaso em magnitude de 20x obtendo-se valores médios do diâmetro tubular (µm), tomados em segmentos esféricos, espessura do epitélio germinativo em quatro medidas/segmento e da espessura da túnica própria (µm) em dez segmentos.

No epidídimo, foram avaliados 10 segmentos da cauda do epidídimo por animal, determinando-se o diâmetro (μm) médio de duas medidas transversais (magnitude de 40x) e altura do epitélio (μm) em quatro medidas/segmento.

Para a análise da densidade tecidual no tecido testicular, foram digitalizadas 10 imagens ao acaso de cada animal em aumento de 40x. Em cada imagem foi introduzida um grade com 782 pontos, registrando-se o percentual relativo da estrutura correspondente em cada intersecção, tais como: túbulo seminífero, células de Leydig, vaso linfático e vaso sanguíneo, considerando a área total (μm^2) estimada para cada imagem.

5. Classificação do ciclo espermatogênico

Na classificação do ciclo espermatogênico, foram analisados 100 segmentos de túbulos seminíferos de cada animal e classificados de acordo com os tipos celulares presentes dentro dos túbulos: A, quando havia presença de espermatócitos primários e secundários, B, presença de espermátides arredondadas ou alongadas e C, presença de espermatozoides na porção luminal do túbulo. Para os mesmos espécimes, determinou-se a presença ou ausência de espermatozoides no lúmen da cauda do epidídimo em, no mínimo, 10 segmentos transversais.

6. Análise estatística

O efeito estacional sobre as variáveis biométricas, histomorfométricas e densidade testicular, foi estimado pelo teste de Kruskal-Wallis. Em amostras cujo valor de P foi significativo ($p < 0,05$), foi utilizado o método de Dunn para comparação da média dos postos. O teste G (amostras independentes, tabelas de contingência) foi usado para verificar a diferença na frequência de espermatozoides na cauda do epidídimo de acordo com os períodos de colheita.

Resultados

Na Tabela 2 encontram-se as médias por estação, referentes à pluviosidade, temperatura máxima e mínima e umidade relativa do ar, registrados para a região de Campo Grande, MS.

Tabela 2. Médias e desvio padrão referentes a pluviosidade, temperatura máxima e mínima e umidade relativa do ar, registrados para a região de Campo Grande, MS nos períodos de colheita.

Variáveis	Período/ano		
	Seca/2013	Chuva/2014	Seca/ 2014
Pluviosidade (mm)	28.7±37.58	129.4±129.26	75.3±48.87
Temperatura °C (Max.)	29±5.24	31±2.33	28±3.25
Temperatura °C (Min.)	16±5.16	21±2.29	18±3.37
Umidade Relativa (%)	58±26.57	83±20.62	84±19.31

Tabela 3. Valores médios, desvio padrão e intervalo de confiança (IC 95%) de variáveis biométricas de *Nyctinomops laticaudatus* durante os períodos de colheita.

Variáveis	Período/ano		
	Seca 2013	Chuva	Seca 2014
Peso corporal (g)	11.6±0.82 ^a (11.0-12.1)	12.1±1.63 ^a (10.9-13.2)	11.6±0.75 ^a (11.0-12.1)
Comprimento do antebraço (mm)	46.2±0.94 ^a (45.6-46.9)	45.0±1.10 ^a (44.3-45.8)	45.9±0.83 ^a (45.4-46.5)
Peso testicular total (g)	0.0166±0.0021 ^a (0.0132-0.0200)	0.0150 ± 0.0072 ^a (0.0098-0.0201)	0.0206 ± 0.0252 ^a (0.037-0.0375)
Peso testicular direito (g)	0.0088±0.0012 ^a (0.0068-0.0107)	0.0079±0.0041 ^a (0.0049-0.0108)	0.0109±0.0148 ^a (0.0010-0.0208)
Peso testicular esquerdo (g)	0.0079±0.0011 ^a (0.0061-0.0096)	0.0071±0.0032 ^a (0.0048-0.0094)	0.0097±0.0109 ^a (0.0024-0.0170)
IGS (%)	0.13 ± 0.014 ^a (0.11-0.15)	0.12±0.057 ^a (0.08-0.16)	0.17±0.208 ^a (0.03-0.03)
Volume testicular direito (ml ³)	9.0±3.21 ^a (6.8-11.1)	8.7±3.10 ^a (6.4-10.9)	7.65±6.16 ^a (3.5-11.7)
Volume testicular esquerdo (ml ³)	8.7±3.60 ^a (6.2-11.1)	7.3±3.52 ^a (4.7-9.8)	7.6±5.95 ^a (3.6-11.6)

Letras diferentes entre colunas representam diferença significativa (P>0,05).

Os valores médios, desvio padrão e intervalo de confiança dos dados biométricos de *N. laticaudatus* durante as estações de seca de 2013, chuva e seca de 2014 encontram-se na Tabela 3. Houve diferença significativa (p<0,05) para comprimento de antebraço. O peso testicular total (g), peso do testículo direito (g), peso do testículo esquerdo(g) não diferiram entre as estações (P>0,05). Da mesma forma para o índice gonadosomático (IGS), volume testicular direito e volume testicular esquerdo (p>0,05).

Os valores médios das análises histomorfométricas encontram-se na Tabela 4.

Em geral, as diferenças nas variáveis foram observadas no período seco/2014, especialmente para o diâmetro e espessura dos túbulos seminíferos. Redução no diâmetro da cauda do epidídimo e na densidade das estrutura intertubulares (espaço intersticial) com aumento da densidade tubular neste período.

Tabela 4. Valores médios, desvio padrão e intervalo de confiança (IC 95%) de variáveis histomorfométricas do tecido testicular e epididimal de *Nyctinomops laticaudatus* durante os períodos de colheita.

Variáveis	Período/ano		
	Seca 2013	Chuva/14	Seca 2014
Diâmetro do túbulo seminífero (μm)	96.2 $\pm$ 25.02 ^a (93.5-98.9)	92.5 $\pm$ 17.68 ^a (90.5-94.5)	86.4 $\pm$ 47.85 ^b (81.2- 91.5)
Espessura do epitélio do túbulo seminífero (μm)	26.6 $\pm$ 9.97 ^a (25.5-27.6)	27.3 $\pm$ 6.23 ^a (26.5-28.0)	24.1 $\pm$ 12.84 ^{ab} (22.7-25.5)
Espessura da túnica própria (μm)	2.03 $\pm$ 0.48 ^a (1.9-2.1)	1.87 $\pm$ 0.45 ^a (1.8-1.9)	1.79 $\pm$ 0.43 ^a (1.7-1.8)
Diâmetro cauda epidídimo (μm)	60.5 $\pm$ 17.89 ^a (55.4-65.60)	60.7 $\pm$ 20.5 ^a (54.8-66.5)	47.2 $\pm$ 15.54 ^b (43.9-50.4)
Espessura do epitélio da cauda do epidídimo (μm)	11.5 $\pm$ 5.41 ^a (10.0-13.10)	8.4 $\pm$ 1.43 ^b (8.0-8.8)	8.1 $\pm$ 1.81 ^b (7.7-8.5)
Densidade do espaço intersticial (%)	13.6 $\pm$ 7.81 ^a 12.2-15.11	14.7 $\pm$ 5.56 ^a (13.6-15.8)	8.4 $\pm$ 3.08 ^b (7.8-9.0)
Densidade dos túbulos seminíferos (%)	86.2 $\pm$ 7.79 ^a (84.8-87.7)	85.2 $\pm$ 5.55 ^a (84.1-86.3)	91.4 $\pm$ 3.08 ^b (90.0-92.0)

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Entre os 32 indivíduos analisados histologicamente, nove exibiram atividade espermatogênese classificada como B e C, quando há notadamente aumento de segmentos tubulares com espermátides arredondadas e/ou alongadas ou a presença de espermatozoides, respectivamente. Estes indivíduos distribuíram-se predominantemente entre as estações de seca 2013 e seca 2014 (Figura 1). Nestes mesmos animais foi constatada presença de espermatozoide na cauda do epidídimo (Tabela 5).

menor espécie é o morcego frugívoro *Furipterus horrens*, com peso médio de 3g, e a maior é o onívoro *Vampyrus spectrum*, que pode pesar até 200g (Reis et al., 2007).

O entendimento dos ciclos reprodutivos e dos fatores que interferem na atividade reprodutiva dos mamíferos, principalmente de morcegos, é complexo (Pacheco, 2001). Gittleman e Thompson (1988) explicaram que além da sazonalidade e da abundância de alimentos, fatores comportamentais, hormonais e fisiológicos são co-responsáveis pelo sucesso reprodutivo das espécies

Sabe-se que o verão é normalmente a estação eleita pela maioria das espécies para a ocorrência dos nascimentos, visto ser este o período de maior oferta de alimentos e condições mais favoráveis ao desenvolvimento dos filhotes (Oxberry, 1979). Durante esta estação foram encontradas maior precipitação pluviométrica, as temperaturas máximas e mínimas mais elevadas e maior percentual de umidade relativa do ar. Não houve diferença no peso corporal entre os animais capturados nos períodos de seca e chuva, diferente do que ocorreu com *Molossus molossus* da região de Viçosa, MG, onde os animais apresentaram um maior peso corporal no período chuvoso (Morais 2013). Parreira e Cardoso (1993) observaram situação semelhante no roedor silvestre *Bolomys lasiurus*, que também associaram o aumento de peso corporal ao aumento na disponibilidade de água e alimentos nessa época, que corresponde à estação chuvosa nos locais de coleta. Em *N. laticaudatus* isso pode não ter ocorrido por conta da colônia estar localizada em uma região, dentro da cidade de Campo Grande, MS, as margens de um lago com vegetação abundante, acreditando-se que não haja uma queda brusca na população de insetos no período de seca a ponto de haver uma diminuição de peso corporal destes animais neste período.

A organização do compartimento tubular de *N. laticaudatus* foi similar a outras espécies de mamíferos discritos (Russell et al., 1990; França and Russell, 1998; Bittencourt et al., 2007a; Beguelini et al., 2009; Costa et al., 2010; Balarini et al., 2011; Costa et al., 2011).

Em *N. laticaudatus* encontrou-se um baixo IGS, o qual teve média de 0,14% entre os períodos de seca e chuva, o que é coerente com o sistema de acasalamento poligínico observado na espécie, que obedece a um sistema de haréns composto por um macho dominante, neste caso não há competição entre espermatozoides de machos diferente acasalando uma mesma fêmea. Em ratos e camundongos foi encontrado IGS de 0,70% e 0,64%, respectivamente (Gomes, 2007; Melo, 2007). Segundo Kenagy e Trombulak (1986), o tamanho testicular está intimamente relacionado ao comportamento reprodutivo, uma vez que animais com comportamentos monogâmicos e poligínicos apresentam

menor peso testicular em relação a espécies com comportamentos reprodutivos promíscuos ou poliândricos. Nestes últimos, maior produção espermática é necessária devido à competição entre espermatozóides de diferentes machos para a fertilização da mesma fêmea.

O parênquima testicular é a porção produtiva do testículo. Na maioria dos estudos até hoje conduzidos, este é constituído por 70 a 90% de túbulos seminíferos, sendo o restante do parênquima ocupado pelo espaço intersticial. *N. laticaudatus* esteve dentro desta faixa, atingindo um alto percentual de parênquima testicular ocupado por túbulos seminíferos, em relação às demais espécies estudadas (França e Russell, 1998; Guião-Leite, 2002; Bittencourt, 2003; Almeida et al., 2006; Costa et al., 2006a; Costa et al., 2006b; Menezes, 2006; Sarti, 2006; Carvalho, 2007; Carreta Júnior, 2008). Os maiores percentuais destes túbulos, foram observados na seca de 2013 e seca de 2014, o que parece ser reflexo do maior investimento em produção espermática nestas estações.

O compartimento tubular é limitado por células mióides, fibras colágenas e membrana basal, que juntos formam a túnica própria. Sobre a túnica própria repousam as células de Sertoli e espermatogônias (Russell et al., 1990). Enquanto múltiplas camadas de células mióides podem estar presentes em algumas espécies (Hermo et al., 1977), em *N. laticaudatus* foi observado uma camada única. Estas células são contráteis e provêm a maior força para o movimento de fluidos e propulsão do esperma através dos túbulos seminíferos (Russell et al., 1989). Deste modo, a redução no percentual de túnica própria observado no período de chuva pode indicar menor fluxo de fluidos através dos túbulos seminíferos nesta estação.

Sabe-se que existe uma relação positiva entre o diâmetro tubular e a atividade espermatogênica testicular (França, 1987; Sinha-Hikim et al., 1988). O aumento no diâmetro tubular observado neste estudo no período de seca de 2013, acredita-se ter sido reflexo do aumento de atividade espermatogênica testicular. Barros (2013), observou em *M. molossus* na região de Minas Gerais, um aumento do diâmetro dos túbulos seminíferos no outono e inverno indicando um maior investimento na produção espermática durante estas estações em comparação ao verão. Carvalho (2007) observou redução significativa no diâmetro tubular do roedor silvestre *Akodon cursor* no inverno em relação às demais estações, atribuindo esta redução ao fato de ser este um período de pouco alimento, baixa reprodução e baixa precipitação pluviométrica.

Houve um elevado numero de animais não reprodutivos sexualmente capturados na seca de 2014 comparando com a seca de 2013, isso pode indicar um pico de recrutamento da população juvenil neste período na área de estudo, semelhante ao

ocorrido com *Noctilo leporinus* na costa sul do Brasil (Bordignon 2012). Isso explicaria a diminuição das médias do diâmetro dos túbulos seminíferos, espessura do epitélio do túbulo seminífero, espessura da túnica própria, diâmetro cauda epidídimo e espessura do epitélio da cauda do epidídimo na estação de seca de 2014.

Não há na literatura trabalhos que nos mostrem o tempo gestacional de *N. laticaudatus*. Acreditamos que este seja semelhante ao de *M. molossus*, Molossideo de mesmo porte, que apresenta tempo de gestação de aproximadamente 90 dias (Vicente et al., 2006), é coerente que ocorra maior investimento em massa testicular e reservas energéticas durante o início da seca (outono), de modo que ocorra uma maior produção espermática, cópula e fertilização durante e principalmente ao final deste período e início do inverno, onde a fêmea ficará gestante durante os 3 meses do inverno. Os nascimentos ocorrem então no início da primavera, que coincide com o início da temporada de chuva, época de maior disponibilidade de alimentos e de temperaturas mais favoráveis ao desenvolvimento dos filhotes. Estas inferências são suportadas neste estudo por vários parâmetros investigados, como presença de células indicadoras de atividade espermatogênicas na análise de classificação do ciclo espermatogênico, mostrando um aumento dessas células no início do período de seca tanto de 2013 quanto de 2014 e a presença de espermatozoides na cauda do epidídimo nos mesmos indivíduos. Outra hipótese que sugere o tempo de gestação foi a presença de fêmeas lactantes capturadas no período chuvoso (dezembro) coincidindo com o trabalho realizado no buraco das araras (Cunha, 2009) onde foram capturadas fêmeas lactantes também no período chuvoso (janeiro).

Os dados obtidos neste estudo sugerem que os machos da espécie *Nyctinomops laticaudatus* apresentam reprodução sazonal, com pico de atividade testicular iniciando no começo do período seco. Desta maneira aumentariam as chances de acasalamento com subsequente inatividade reprodutiva, coincidindo com o período gestacional das fêmeas.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- ABRÀMOFF, M.D., MAGALHÃES, P.J. AND RAM, S.J. Image Processing with ImageJ. **Biophotonics International**, v.11, n.7, p.36–42, 2004.
- ALMEIDA, F.F.L., LEAL, M.C., FRANÇA, L.R., 2006. Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). **Biology of Reproduction**. 75: 792-799.
- ALTRINGHAM, J.D. 1998. **Bats: Biology and behavior**. University Press, Oxford, 262 p.
- BALARINI, M.K., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., PEIXOTO, J.V., GUIÃO-LEITE, F.L., ROSSI JUNIOR, J.L., CZERMAK JUNIOR, A.C., WALKER, N.J., 2011. Stages and duration of the cycle of the seminiferous epithelium in onchilla (*Leopardus tigrinus*, Schreber, 1775). **Theriogenology**, v. 77 (5), 873–880.
- BARROS, M.S.A*, MORAIS, D.B.B, ARAÚJO, M.R.B, CARVALHO, T.F.A, MATTA, SLP.B, PINHEIRO, E.C.C AND FREITAS, M.B., 2013 Seasonal variation of energy reserves and reproduction in neotropical free-tailed bats *Molossus molossus* (**Chiroptera: Molossidae**). **Brazilian Journal Biology**, v. 73, no. 3, p. 629-635.
- BEGUELINI, M.R.; MOREIRA, P.R.L.; FARIA, K.C.; MARCHESIN, S.R.C.; MORIELLEVER-SUTE, E. Testicular morphology and the seminiferous epithelium cycle in six species of Neotropical bats. **Journal of Morphology**, v. 270, p.943-953, 2009.
- BITTENCOURT, V.L., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., BENJAMIN, L.A., COSTA, D.S., 2007a. The seminiferous epithelium cycle and daily spermatogenic production in the adult maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811). **Micron**, v. 38 (6), p. 584–589.
- BOWLES, J. B., P. D. HEIDEMAN, AND K. R. ERICKSON. 1990. Observations on six species of free-tailed bats (Molossidae) from Yucatan, Mexico. **Southwestern Naturalist**, v.35, p.151–157.
- BORDIGNON, M.O. & FRANÇA, A.O. **Reprodução do morcego-pescador *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae) em uma área de manguezal no Sul do Brasil**. *Biotaneotropica*.12(4):<http://www.biotaneotropica.org.br/v12n4/pt/abstract?article+bn01412042012>
- BRADBURY, J.W., EHRHENCAMP, S.L., 1977. Social organization and foraging in emballonurid bats. I. Field studies. **Behavioral, Ecology and Sociobiology**. 1: 337- 81.
- CARRETA JUNIOR, M., 2008. **Avaliação morfofuncional do processo espermatogênico de pacas (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766) adultas**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 78 pp.
- CARVALHO, F.A.R., 2007. **Morfologia e morfometria testicular do roedor silvestre *Akodon cursor* (Winge, 1887) (Rodentia, Muridae)**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 46 p.
- CHRISTANTE, C. M. 2008. Morphology of the *Molossus molossus* (MOLOSSIDAE CHIROPTERA) reproductive accessory glands.

- COSTA, D.S., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., 2006a. Cat, cougar, and jaguar spermatogenesis: a comparative analysis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 49(5): 725-731.
- COSTA, D.S., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., 2006b. The intertubular morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Animal Reproduction Science**. 91: 173-179.
- COSTA, G.M., LEAL, M.C., FERREIRA, A.C., GUIMARÃES, D.A., FRANC, A, L.R., 2010. Duration of spermatogenesis and spermatogenic efficiency in twolarge neotropical rodent species: the agouti (*Dasyprocta leporina*) andpaca (*Agouti paca*). **Journal of Andrology**. 31 (5), 489–499.
- COSTA, K.L.C., MATTA, S.L.P., GOMES, M.L.M., PAULA, T.A.R., FREITAS, K.M., CARVALHO, F.A.R., SILVEIRA, J.A., DOLDER, H., MENDIS-HANDAGAMA, S.L.M.C., 2011. Histomorphometric evaluation of the neotropical brownbrocket deer *Mazama gouazoubira* testis, with an emphasis on cellpopulation indexes of spermatogenic yield. **Animal Reproduction Science**. 127(3–4), 202–212.
- CUNHA, N.L., FISCHER, E., CARVALHO, L.F.A.C. & SANTOS, C.F. Bats of Buraco das Araras natural reserve, Southwestern Brazil. **Biota Neotropica**., 9(4): <http://www.biotaneotropica.org.br/v9n4/en/abstract?inventory+bn02909042009>.
- DWEYR, P.D. 1970. Latitude and breeding season in a polyestrus species of *Myotis*. **Journal of Mammalogy**, 51(2): 405-410.
- FABIÁN, M.E., GREGORIN, R., 2007. Família Molossidae. In: Reis, N. R, Peracchi, A. L., Pedro, W. A., Lima, I. P. (Eds.). **Morcegos do Brasil**. Editora da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, pp. 149-165.
- FABIÁN, M.E., MARQUES, R.V., 1989. Contribuição ao conhecimento da biologia reprodutiva de *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (Chiroptera, Molossidae). **Revista Brasileira de Biologia**. 6(4): 603-610.
- FLEMING, T.H., HOOPER, E.T., WILSON, D.E., 1972. Three Central American bat communities: structure, reproductive cycles and movement patterns. **Ecology**. 53: 555-569.
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D., 1998. The testis of domestic mammals. In: Regadera, J., Martinez-Garcia, F. (Eds.). **Male reproduction: a multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, pp.197-219.
- FRANÇA, L.R., 1987. **Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais. 97 pp.
- GARDNER, A.L. 1977. Feeding habits. In: Biology of bats of the New World family Phyllostomatidea, part 2, (R.J.Baker, J.Knox Jones Jr., and D.C. Carter, eds.). Special Publications of the Museum 13, Texas Tech Press.

GITTLEMAN, J.L., THOMPSON, S.D., 1988. Energy allocation in mammalian reproduction. **American Journal of Zoology**. 28: 863-875.

GOMES, M.L.M., 2007. **Morfometria testicular de ratos wistar adultos tratados com infusão aquosa de catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss. Meliaceae)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 49 pp.

GOODWIN, G. G., AND A. M. GREENHALL. 1961. A review of the bats of Trinidad and Tobago. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 122:187–302.

GUIÃO-LEITE, F.L., 2002. **Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*, Wozencraft, 1993) adulta**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 76 pp.

HARCOURT, A. H., Purvis, A. & Liles, L. (1995). Sperm competition: mating system, not breeding system, affects testes size of primates. **Functional Ecology**. 9: 468-476.

HEIDEMAN PD, Deoraj P, Bronson FH. Seasonal reproduction of a tropical bat, *Anoura geoffroyi*, in relation to photoperiod. **Journal of Reproduction & Fertility**. 1992; 96:765 - 773.

HERMO, L., LALLI, M.F., CLERMONT, Y., 1977. Arrangement of connective tissue components in the walls of seminiferous tubules of man and monkeys. **American Journal of Anatomy**. 148: 433-446.

KUNZ, T. H., AND E. L. P. ANTHONY. 1982. Age estimation and post-natal growth in the bat *Myotis lucifugus*. **Journal of Mammalogy** 63: 23–32.

KUNZ, T. H. & LUMSDEN L. F. 2003. Ecology of cavity and foliage roosting bats. In: Bat ecology. Thomas H. Kunz & M. Brock Fenton (eds). The University of Chicago press, Chicago.

KENAGY, G.J., TROMBULAK, S.C., 1986. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **Journal of Mammalogy**. 67(1): 1-22.

LANNING, L.L, CREASY, D. M., CHAPIN, R. E., MANN, P.C., BARLOW, N. J., REGAN, K. S., GOODMAN, D. G. Recommended Approaches for the Evaluation of Testicular and Epididymal Toxicity. **Toxicologic Pathology**, v.30, n.4, p.507-520. 2002.

LATENDRESSE, J. R., WARBRITTON, A.R., JONASSEN, H., CREASY, D. M. Fixation of Testes and Eyes Using a Modified Davidson's Fluid: Comparison with Bouin's Fluid and Conventional Davidson's Fluid. **Toxicologic Pathology**, v.30, n.4, p.524-533. 2002.

LA VAL, R.K., FITCH, H.S., 1977. Structure, movement and reproduction in three Costa Rica bat communities. Occasional Paper Museum of Nature History University Kansas. 69: 1-28.

MARES, M. A., R. A. OJEDA, AND M. P. KOSCO. 1981a. Observations on the distribution and ecology of the mammals of Salta Province, Argentina. *Annals of the Carnegie Museum* 50: 151–206.

MARINHO-FILHO, J.S., & SAZIMA, I. 1998. Brazilian bats and conservation biology --- A first survey. In: **Bat biology and conservation**. T. H. Kunz & P. A. Racey (eds.). Smithsonian Institution Press, Washington & London.

MENEZES, C.M.C., 2006. **Análise morfofuncional da espermatogênese de queixadas (*Tayassu pecari* Link, 1795)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. 65 pp.

MEISTRICH, M.L. Critical components of testicular function and sensitivity to disruption. **Biology of Reproduction**, v. 34, p. 17-28.

MELO, F.C.S.A., 2007. **Efeito da infusão do caule de cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers, Bignoniaceae) sobre as características morfométricas de componentes testiculares de ratos wistar adultos**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 102 pp.

MORAIS, D.B. et al., 2013. Histomorphometric evaluation of the *Molossus molossus* (Chiroptera, Molossidae) testis: The tubular compartment and indices of sperm production. **Animal Reproduction Science** 140 (2013) 268– 278

NEUWEILLER, G. 2000. **The Biology of bats**. New York, Oxford University Press. 310p.

NOWAK, R.M. 1994. Walker's Bats of the World. The Johns Hopkins University Press, London, 287p.

NOWAK, R.M. 1991. Walker's Mammals of the World. V.II. 5ed. Baltimore e London. The Johns Hopkins University Press. 1629 p.

Oxberry, B.A., 1979. Female reproductive patterns in hibernating bat. **Journal of Reproduction and Fertility**. 56: 359-367.

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

PARREIRA, G.G., CARDOSO, F.M., 1993. Seasonal variation of the spermatogenic activity in *Bolomys lasiurus* (Lund, 1841) (Rodentia, Cricetidae), from Southeastern Brazil. **Mammalia**. 57: 27-34.

PATTERSON, B., PASCUAL, R., 1972. The fossil mammal fauna of South America. In: Keast, A., Erik, F.C., Glass, B. (Eds.). Evolution, mammals and southern continents. State University New York Press, Albany, 543 p.

PIRLOT, P., 1967. Periodicity of reproduction in neotropical chiropteres. **Mammalia**. 31(3): 361-366.

REDFORD, K. H. & EISENBERG J. F. 1999. **Mammals of the Neotropics: Brazil**. V.3. Chicago and London: The University of Chicago Press.

- RACEY, P.A. & ENTWISTLE, A.C. 2000. Life – History and Reproductive Strategies of bats. In: Crichton, E.G. & Krutzsch, P.H. **Reproductive Biology of Bats**. Elsevier, p. 364 - 401.
- REIS, N.R.; O.A. SHIBATTA; A.L. PERACCHI; W.A. PEDRO & I.P. LIMA. 2007. Sobre os Morcegos Brasileiros, p. 17-25. In: N.R. Reis; A.L. Peracchi; W.A. Pedro & I.P. Lima (Eds). **Morcegos do Brasil** . Londrina. 253p.
- RUSSEL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, A.P., CLEGG, E.D., 1990. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, L.D., Ettlin, R. A., Sinha Hikim, A. P., Clegg, E. D. (Eds). **Histological and histopathological evaluation of the testis** Cache River Press, Clearwater, Florida, pp. 1-40.
- RUSSELL, L.D., SAXENA, N.K., TURNER, T.T., 1989. Cytoskeletal involvement in spermiation and sperm transport. **Tissue and Cell**. 21: 361-379.
- SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, C. 1978. Registro de murciélagos para el estado de Jalisco, México. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología 49: 249–256.
- SARTI, P., 2006. **Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas**. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 56 pp.
- SINHA-HIKIM, A.P., BARTKE, A., RUSSELL, L.D., 1988. Morphometric studies on hamster testes in gonadally active and inactive state: light microscope findings. **Biology of Reproduction**. 39: 1225-1237.
- SWAMI, D. R.; LALL S. B., 1976. Histoenzimological comparison of the prostate gland of sexually 'quiescent' an 'active' *Taphozous melanopogon melanopogon* Temmnick (Microchiroptera:Mammalia). **Acta Anatomica**, v.113(2), p.128-134.
- TADDEI, V.A., DOURADO, D.M., JARDIM, M.I.A., SOUZA, C.C., BUCCINI, D.F., PUCHÉRIO, A., MENEGUELLI, M., SOUZA, H.A., 2001. Estudo histológico e histoquímico da glândula gular da espécie de morcego *Molossus molossus*. **Ensaio e Ciência**. v. 5, n. 2, p.141- 149.
- TIMM, R.M., 1994. The mammal fauna. In: McDade, L.A., Bawa, K.S., Hespenheide, H.A., artshorn, G.S. (Eds.). **La Selva: Ecology and natural history of a neotropical rain forest**. University of Chicago Press, Chicago, p. 229-237.
- VICENTE, EC., EMILIANI, VC., OLIVEIRA, LF., FAVERO, S., 2006. Análise morfométrica e anatômica do útero em famílias de quirópteros (Mammalia) que ocorrem no Brasil. **Ensaio e Ciência**, vol. 10, no. 1, p. 63-73.