

MAURÍCIO DA APARECIDA SANTANA

**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO
INTESTINO GROSSO DOS MORCEGOS MACHOS *Desmodus rotundus*
(HEMATÓFAGO) E *Sturnira liliu* (FRUGÍVORO) E IDENTIFICAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS ENTEROENDÓCRINAS DA TÚNICA
MUCOSA DO QUIRÓPTERO HEMATÓFAGO.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

S232c
2015 Santana, Maurício da Aparecida, 1956-
Caracterização histológica e histomorfométrica do intestino
grosso dos morcegos machos *Desmodus rotundus* (Hematófago)
e *Sturnira lilium* (frugívoro) e identificação e quantificação de
células enteroendócrinas da túnica mucosa do Quiróptero
hematófago / Maurício da Aparecida Santana. – Viçosa, MG,
2015.

xvi, 66f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Cláudio César Fonseca.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.52-59.

1. Morcegos. 2. Intestino grosso - Histologia. 3. Intestino
grosso - Morfometria. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Biologia Geral. Programa de Pós-graduação
em Biologia Celular e Estrutural. II. Título.

CDD 22. ed. 599.4

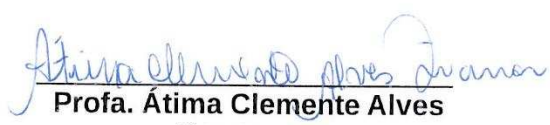
MAURÍCIO DA APARECIDA SANTANA

CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO
INTESTINO GROSSO DOS MORCEGOS MACHOS *Desmodus rotundus*
(HEMATÓFAGO) E *Sturnira lilium* (FRUGÍVORO) E IDENTIFICAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS ENTEROENDÓCRINAS DA TÚNICA
MUCOSA DO QUIRÓPTERO HEMATÓFAGO.

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Biologia Celular e
Estrutural, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

APROVADA: 18 de setembro de 2015.


Prof. José Carlos de Magalhães


Profa. Átima Clemente Alves
Zuanon


Prof. Eduardo França Castro


Prof. Germano Carneiro da
Costa


Prof. Cláudio César Fonseca
(Orientador)

Ao Onipresente Criador de todas as coisas visíveis e invisíveis.

À Grande Mãe celestial.

Aos meus pais José Rafael Santana e Maria da Conceição Santana, constantes exemplos de vida (“in memoriam”).

Aos queridos irmãos e familiares que nos deixaram com imensa saudade (“requiescant in pace”).

Aos meus filhos Rafael Augusto (de rápida passagem em nossa vida) e Rafael Vitor (que me torna mais confiante na vida).

Aos meus irmãos Helena, Estela, Tetê (meu agradecimento especial pela hospedagem), Lola, Zecão e Tina pela amizade e incentivo constantes.

Aos demais familiares pela confiança e apoio.

À Joana Rita pela paciência e aos momentos de ausência.

Dedico a vocês este singelo trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), por meio do Departamento de Biologia Geral (DBG) pela oportunidade desse treinamento.

Ao Campus Florestal/UFV pela liberação para o treinamento e por prover substitutos para as minhas funções acadêmicas.

Ao Professor Cláudio César Fonseca pela orientação e disponibilidade de ensinar durante a execução dessa pesquisa.

Aos Professores Sérgio Luis Pinto da Matta e Mariana Machado Neves pelo ensino, confiança e amizade.

À Beth da Secretaria do Programa de Pós-Graduação de Biologia Celular e Estrutural (DBG) o meu muito obrigado pelo ótimo atendimento dispensado.

À Suely da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação pelos esclarecimentos referentes à situação de Servidores da UFV em treinamento.

Aos Professores José Carlos de Magalhães (UFSJ-Campus Ouro Branco), José Emílio Zanzirolani de Oliveira (IFESUDESTE-Campus Barbacena), Tarcízio Antônio Rêgo de Paula (UFV-DVT), Átima Clemente Alves Zuanon (UFV-Coluni), Eduardo França Castro e Germano Carneiro da Costa (UFV-Campus Florestal) pela gentileza em participarem da Banca de Defesa de Tese.

Aos Professores Jener Alexandre Sampaio Zuanon, Sirlene Souza Rodrigues Sartori, Reggiani Vilela Gonçalves, Eduardo França Castro, Sérgio Luis Pinto da Matta e Tarcízio Antônio Rêgo de Paula pela participação da Banca do Exame de Qualificação e pelas sugestões para a melhoria do trabalho.

Aos Professores José Eduardo Serrão e Germano Carneiro da Costa pela cessão de alguns reagentes utilizados na pesquisa.

Ao Professor Jorge Dergam dos Santos (Laboratório de Sistemática Molecular-DBA) e à Professora Sílvia das Graças Pompolo (Laboratório de Citogenética-DBG) por permitirem a utilização dos equipamentos para a documentação das imagens.

Ao Professor Eduardo França Castro e à Doutoranda Graziela Domingues de Almeida pelas orientações para a documentação fotográfica.

Ao Professor Joaquin Patarroyo e ao Doutorando Gabriel Tafur do Laboratório de Biologia e Controle de Hematozoários e Vetores (BIOAGRO-UFV) pela inestimável ajuda na análise imunohistoquímica.

Aos colegas Professores Jener, Maria Tereza, Ita, Sirlene, Mariella e Reggiani por permitirem que utilizasse as dependências do Laboratório de Morfofisiologia (DBA) e adjacências.

Aos amigos Técnicos José Geraldo e Donizete do Laboratório de Morfofisiologia (DBA), Genilton, Bastião, Dinim, Lu, Valdir, Lúcia, Nilo e outros pelo convívio e pelas brincadeiras que ajudavam a combater o estresse.

Ao Técnico Mateus e aos amigos e colegas de Pós-Graduação do Laboratório de Biologia Estrutural (DBG), Grazi, Tati, Dudu, Mari, Bruno Edésio, Marli, Suzana, Mário, Poly e demais, o meu agradecimento pela ajuda e pelo incentivo.

Ao Graduando de Medicina Veterinária e Estagiário de Iniciação Científica (DVT), Paulo Henrique de Carvalho Costa pela amizade e inestimável ajuda durante a realização dessa pesquisa.

Ao Mestrando de Morfofisiologia Animal (DVT), Marcelo Ferreira pela ajuda na coleta e indicação da literatura sobre identificação de morcegos.

Ao amigo Professor Afonso Timão Simplício (UFV-Campus de Florestal) pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Professora Flávia Rodrigues Junqueira (UFV-Campus de Florestal) por fazer a versão do resumo em inglês.

Ao sobrinho Letinho, esposa e filhos pelo transporte da mudança no itinerário Florestal-Viçosa-Florestal.

À Graduanda em Ciência da Computação Adriele Dutra (UFV-Campus Florestal), ao empresário Wesley Coimbra Souza Lima e à minha querida sobrinha Alcione Silva Sant'Anna pela ajuda na edição das fotomicrografias.

Aos amigos Carmen, Hélio, Denise e Sílvia por cuidarem de nossa residência.

A todos os professores e pessoas que de alguma maneira contribuíram para minha formação científica e na realização deste trabalho.

E aos professores, técnicos e alunos da UFV/Campus Florestal - Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal (CEDAF) pelo incentivo e apreço.

BIOGRAFIA

MAURÍCIO DA APARECIDA SANTANA, filho de José Rafael Santana e Maria da Conceição Santana, nasceu a 24 de novembro de 1956, em Viçosa, MG.

Em janeiro de 1994, graduou-se em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG. Entre 1994 e 1997 realizou o Curso de Mestrado em Zootecnia, nessa mesma Universidade, na área de Nutrição de Monogástricos – Ranicultura.

Foi professor da Rede de Ensino Estadual, entre 1993 e 1994 lecionando Biologia e Química para o Ensino Médio na cidade de Amparo do Serra, MG e de Biologia e Programas de Saúde para o Ensino Médio na cidade de Paula Cândido, MG.

Em janeiro de 1997, foi admitido, por concurso, pela Universidade Federal de Viçosa, para atuar no hoje Campus Florestal/CEDAF (Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal), em Florestal, MG.

É professor da carreira de Ensino Federal - EBTT (Ensino Básico, Técnico e Tecnológico) e leciona as disciplinas Biologia para o Ensino Médio, Microbiologia Geral e de Alimentos para o Ensino Técnico em Alimentos e Microbiologia Ambiental e Saúde Pública para o Curso Tecnológico de Graduação em Gestão Ambiental.

Em agosto de 2011 iniciou o Curso de Doutorado em Biologia Celular e Estrutural, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, na área de pesquisa de Biologia das Células e dos Tecidos, submetendo-se à defesa de Tese em setembro de 2015.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Anatomia e histologia do aparelho digestório de morcegos.....	3
2.2. Células endócrinas gastrintestinais em morcegos.....	5
2.3. Caracterização de <i>Desmodus rotundus</i> E. Geoffroy, 1810.....	6
2.4. Caracterização de <i>Sturnira lilium</i> E. Geoffroy, 1810.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. Animais.....	9
3.2. Coleta de animais.....	9
3.3. Procedimentos experimentais.....	10
3.4. Processamento histológico.....	11
3.5. Procedimentos histológicos, histoquímicos e imunohistoquímicos.....	11
3.2.3. Descrição histológica, histomorfométrica e quantificação de células enteroendócrinas.....	12
3.2.4. Análise estatística.....	13
4. RESULTADOS	15
4.1. Observação anatômica macroscópica dos intestinos grossos de <i>Desmodus rotundus</i> e <i>Sturnira lilium</i>	15
4.2. Cálculo dos pesos corporais de <i>D. rotundus</i> e <i>S. lilium</i>	15
4.3. Cálculo das medidas dos comprimentos dos intestinos grossos de <i>D. rotundus</i> e <i>S. lilium</i>	16
4.4. Descrição histológica dos constituintes parietais do intestino grosso de <i>D. rotundus</i>	17
4.4.1. Segmento inicial.....	17
4.4.2. Segmento médio.....	19
4.4.3. Segmento final.....	20
4.5. Descrição histológica dos constituintes parietais do intestino grosso de <i>S. lilium</i>	23

4.5.1. Segmento inicial.....	23
4.5.2. Segmento médio.....	24
4.5.3. Segmento final.....	25
4.6. Histomorfometria dos constituintes parietais do intestino grosso de <i>D. rotundus</i> e <i>S. liliun</i>	27
4.7. Identificação e quantificação das células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas (IR) à insulina da túnica mucosa dos segmentos do intestino grosso de <i>D. rotundus</i>	33
5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÕES.....	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
APÊNDICES.....	60
ANEXOS.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécime de <i>Desmodus rotundus</i>	7
Figura 2: Espécime de <i>Sturnira lilium</i>	8
Figura 3: Morcego capturado em rede de neblina.	9
Figura 4: Desenho esquemático do intestino grosso.	11
Figura 5A: Corte longitudinal do intestino grosso (segmento inicial) de <i>D. rotundus</i>	18
Figura 5B: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de <i>D. rotundus</i>	18
Figura 6A: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de <i>D. rotundus</i>	19
Figura 6B: Corte longitudinal do intestino grosso (segmento médio) de <i>D. rotundus</i>	20
Figura 7A: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de <i>D. rotundus</i>	21
Figura 7B: Corte transversal do intestino grosso (segmento final/região reto-anal) de <i>D. rotundus</i>	22
Figura 7C: Corte transversal do intestino grosso (segmento final/região reto-anal) de <i>D. rotundus</i>	22
Figura 8: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de <i>S. lilium</i>	24
Figura 9: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de <i>S. lilium</i>	25
Figura 10: Corte longitudinal do intestino grosso (segmento final/região reto-anal) de <i>S. lilium</i>	26
Figura 11: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de <i>D. rotundus</i> – célula argirófila.	34
Figura 12: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de <i>D. rotundus</i> – célula argirófila.	34
Figura 13: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de <i>D. rotundus</i> – célula argirófila.	35

Figura 14: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de <i>D. rotundus</i> – célula argentafim.	35
Figura 15: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de <i>D. rotundus</i> – célula argentafim.	36
Figura 16: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de <i>D. rotundus</i> – célula argentafim.	36
Figura 17: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de <i>D. rotundus</i> – célula imunorreativa à insulina.	37
Figura 18: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de <i>D. rotundus</i> – célula imunorreativa à insulina.	37
Figura 19: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de <i>D. rotundus</i> – célula imunorreativa à insulina.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Peso corporal, em gramas, de morcegos machos adultos <i>Desmodus rotundus</i> e <i>Sturnira lilium</i>	15
Tabela 2: Comprimento do intestino grosso, em cm, de morcegos machos adultos <i>D. rotundus</i> e <i>S. lilium</i>	16
Tabela 3: Correlação de Pearson entre o peso corporal e o comprimento do intestino grosso de morcegos machos adultos <i>D. rotundus</i> e <i>S. lilium</i>	16
Tabela 4: Espessura, em μm , das túnicas mucosa, submucosa, muscular (camadas musculares circular, interna, e longitudinal, externa) e serosa (média \pm desvio-padrão) de morcegos machos adultos <i>D. rotundus</i>	27
Tabela 5: Espessura, em μm , das túnicas mucosa, submucosa, muscular (camadas circular, interna e longitudinal, externa) e serosa (média \pm desvio-padrão) de morcegos machos adultos <i>S. lilium</i>	28
Tabela 6: Correlação de Pearson entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>D. rotundus</i>	29
Tabela 7: Correlação de Pearson entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>S. lilium</i>	30
Tabela 8: Correlação de Pearson entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>D. rotundus</i>	31
Tabela 9: Correlação de Pearson entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>S. lilium</i>	32

Tabela 10: Número de células endócrinas, por mm ² , (média ± desvio-padrão) da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>D. rotundus</i>	38
Tabela 11: Número percentual de células endócrinas argirófilas, argentafins e IR à insulina, por mm ² , da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>D. rotundus</i>	39
Tabela 12: Correlação de Spearman entre o número de células endócrinas, em mm ² , e a espessura da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos <i>D. rotundus</i>	40

RESUMO

SANTANA, Maurício da Aparecida, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2015. **Caracterização histológica e histomorfométrica do intestino grosso dos morcegos machos *Desmodus rotundus* (hematófago) e *Sturnira lilium* (frugívoro) e identificação e quantificação de células enteroendócrinas da túnica mucosa do quiróptero hematófago.** Orientador: Cláudio César Fonseca.

A grande diversidade de morcegos no Brasil indica-os para o estudo em diversas áreas relacionadas à sua biologia, dentre elas a pesquisa anátomo-histológica do aparelho digestório. Este presente estudo teve como objetivos descrever a histologia dos constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso dos quirópteros *Desmodus rotundus* (hematófago) e *Sturnira lilium* (frugívoro), realizar a histomorfometria desses segmentos, além de identificar e quantificar as células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina na túnica mucosa dos segmentos do intestino grosso do morcego hematófago. Foram utilizadas técnicas de coloração convencionais para a descrição histológica e histomorfometria dos constituintes parietais do intestino grosso das duas espécies e técnicas histoquímicas e imunohistoquímica para a identificação e quantificação das células enteroendócrinas de *D. rotundus*. O padrão histológico da parede dos segmentos do intestino grosso é similar para as espécies estudadas, porém a distribuição de nódulos linfoides e de tecido linfoide difuso é diferente nos segmentos intestinais dessas. Em *D. rotundus* as espessuras, em μm , das túnicas mucosa, submucosa e serosa entre os segmentos não foi diferente entre elas ($p > 0,05$), entretanto, a espessura da camada muscular circular, interna, da túnica muscular do segmento final foi maior ($p < 0,05$) que as espessuras dessa camada nos demais segmentos. Também a espessura da camada muscular longitudinal, externa, da túnica muscular do segmento médio foi maior ($p < 0,05$) em comparação com a de ambas camadas musculares da túnica muscular dos segmentos inicial e final. Para *S. lilium* não constou diferença significativa ($p > 0,05$) nas espessuras das túnicas mucosa e submucosa, na camada muscular longitudinal, externa, da túnica muscular e na túnica serosa entre os segmentos analisados. A espessura da camada muscular circular, interna, da túnica

muscular dos segmentos inicial e médio também não foi diferente ($p > 0,05$), porém essa espessura foi maior ($p < 0,05$) em comparação à da camada muscular circular, interna, da túnica muscular do segmento final. As células argirófilas e argentafins detectadas e quantificadas na túnica mucosa, em mm^2 , dos segmentos do intestino grosso do animal hematófago, apresentaram formato alongado, núcleo arredondado visualizado por imagem negativa e citoplasma com granulações coradas em marrom escuro. As células imunorreativas (IR) à insulina identificadas e quantificadas nessa túnica, mostraram formato de arredondado a alongado, núcleo arredondado visualizado por imagem negativa e citoplasma dotado de granulações coradas em marrom claro a escuro. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) na quantificação das células endócrinas dos segmentos intestinais inicial, médio e final. Do total de células endócrinas localizadas na túnica da mucosa do segmento inicial, 41,88% são argirófilas, 49,03% são argentafins e 9,08% são IR à insulina. No segmento médio, contabilizou-se 39,64% argirófilas, 52,97% argentafins e 7,39% IR à insulina. Já na túnica mucosa do segmento final, 25,93% são argirófilas, 62,22% argentafins e 11,58% IR à insulina. Possivelmente, as células IR à insulina estejam relacionadas com as atividades fisiológicas de absorção paracelular de nutrientes pelos enterócitos e com o aumento da motilidade intestinal, o que indicaria rápido metabolismo desses nutrientes e numa reserva energética permitindo ao quiróptero *D. rotundus* adequar-se às manobras de voo.

ABSTRACT

SANTANA, Maurício da Aparecida, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2015. **Histological characterization and histomorphometric of the large intestine in bats *Desmodus rotundus* (hematophagous) and *Sturnira lilium* (frugivorous) e identification and quantification of enterendocrine cells from the tunica mucosa of the hematophagous chiroptera.** Adviser: Cláudio César Fonseca.

The great diversity of bats in Brazil indicate them for studies in many areas related to its biology, between them the anatomical and histological research of the digestive system. The aim of this research was to describe the histology of the parietal constituents in the initial, middle and final segments of large intestine of the chiroptera *Desmodus rotundus* (hematophagous) and *Sturnira lilium* (frugivorous). To carry out the histomorphometry in these segments and also identify and quantify the endocrine argyrophil, argentaffin and insulin-immunoreactive endocrine cells in the tunica mucosa of the segments of the large intestine in hematophagous bats. Conventional coloring techniques were used for the histological description and histomorphometry of the parietal constituents of the large intestine of the two species and histochemical and immunohistochemical techniques to the identification and quantification of the endocrine cells of *D. rotundus*. The histological pattern of the wall segments of the large intestine is similar in the studied species however, the distribution of the lymphoid nodes and diffuse lymphoid tissue are different in the intestine segments from them. In *D. rotundus*, the thickness, in μm , of the tunica mucosa, submucosa and serosa between the segments haven't differed ($p > 0.05$), however, the thickness of the circular muscle layer, internal, of the muscularis of the final segment was bigger ($p < 0.05$) than the thickness from these layer in the other segments. And also the thickness of the external, longitudinal layer of the muscularis from the middle segment to the bigger one ($p < 0.05$) in comparison to both muscular layers from the muscularis from the initial and final segments. There wasn't a significant difference to the *S. lilium* ($p > 0.05$) in the thickness of the tunica mucosa and submucosa, in the longitudinal muscle layer, external, of the muscularis and in the serosa tunic between the analysed segments. The thickness of the circular muscle layer, internal of the muscularis of the initial and

middle segments weren't different too ($p > 0.05$), however this thickness was bigger ($p < 0.05$) in comparison to the thickness of the circular muscle layer, internal, of the muscularis from the final segment. The argyrophil cells and argentaffins detected and quantified in the muscularis, in mm^2 , of the large intestine segment of the hematophagous animal, have presented a long format, rounded nucleus visualized by negative image and cytoplasm with granulation colored in dark brown. The immunoreactive cells (IR) to insulin identified and quantified in this tunic, showed round on long format, rounded nucleus visualized by negative image and cytoplasm gifted of granulations colored in light to dark brown. There wasn't an statistic difference ($p > 0.05$) in the quantification of the endocrine cells in the initial, middle and final segments. From the total of the endocrine cells located in the tunica mucosa of the initial segment, 41.88% are argyrophil, 49.03% are argetaffins and 9.08% are IR to insulin. In the middle segment, we counted 39.64% argyrophil, 52.97% argentaffins and 7.39% IR to insulin. But in the tunica mucosa from the final segment, 25.93% are argyrophil, 62.22% argentaffins and 11.58% IR to insulin. Possibly, the IR cell to insulin are related to the physiological activities of the paracellular nutrients absorption by enterocytes and with and increase of the intestine motility, what would indicate fast metabolism of these nutrients and in an energetic storage allowing the chiroptera to adapt to the flight maneuvers.

1. INTRODUÇÃO

A ordem Chiroptera é dividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera. A primeira, encontrada exclusivamente nas regiões tropicais da Ásia, África e Oceania, compreende apenas a família Pteropodidae, com 42 gêneros e 185 espécies (SIMMONS, 2005). Já a segunda, conforme esse autor, é amplamente distribuída por todo o globo terrestre, exceto nos polos e envolve 17 famílias, 157 gêneros e mais de 928 espécies.

A grande diversidade de quirópteros no Brasil, com cerca de 167 espécies distribuídas em nove famílias (TAVARES et al., 2008) representa fonte de pesquisa para diferentes áreas de estudo que visam estabelecer melhores conhecimentos sobre a biologia desses mamíferos (BERNARD, 2002; LIM et al., 2003).

Conforme o seu hábito alimentar os morcegos podem ser carnívoros, nectívoros, insetívoros, piscívoros, hematófagos e frugívoros. Especificamente, a hematofagia está associada com a transmissão do vírus rábico a animais domésticos, silvestres e seres humanos (UIEDA, 1995; TORRES et al., 2005) e a frugivoria é importante para a dispersão de sementes contribuindo para o estabelecimento de plantas pioneiras na regeneração de áreas florestais (PASSOS et al., 2003). A diversificação alimentar está diretamente relacionada à mobilidade fornecida pelo voo e pelos hábitos noturnos que proporcionaram uma ampla exploração de nichos. Além de ser o segundo grupo de mamíferos em diversidade de espécies (NOWAK, 1991).

Em decorrência de perturbações em áreas de matas, que são os abrigos naturais dos quirópteros, cada vez mais esses animais procuram o meio urbano em busca de refúgio e alimentos, principalmente as espécies insetívoras (CARVALHO et al., 2011).

Os hábitos alimentares diversos, em diferentes espécies de morcegos, suscitaram pesquisas do aparelho digestório destes animais compreendendo estudos anátomo-histológicos (SCHULTZ, 1965; FORMAN, 1974; KAMIYA e PIRLOT, 1975; FORMAN et al. apud BAKER, 1979; ISHIKAWA et al., 1985; SCILLITANI et al., 2007; GADELHA-ALVES et al., 2008; PAKSUZ e PAKSUZ, 2015), fisiológicos (CAVIEDES-VIDAL et al., 2007; TRACY et al., 2007; CAVIEDES-VIDAL et al., 2008; STROBEL et al., 2013; BRUN et al., 2014; PRICE

et al., 2015) e estereológicos (MAKANYA et al., 1995; MAKANYA et al., 1997). Além desses estudos, também foram realizadas análises sobre as células endócrinas gastrintestinais (DEVENEY e WAY, 1983; YAMADA et al., 1984; YAMADA et al., 1988; ASHIHARA et al., 1999; KOMORI et al., 2000; SANTOS et al., 2008a; SANTOS et al., 2008b; SANTOS et al., 2009).

Com o propósito de adquirir mais conhecimentos sobre o aparelho digestório de morcegos procurou-se realizar a caracterização histológica e histomorfométrica comparativa do intestino grosso do quiróptero hematófago (*Desmodus rotundus*) e de outro, frugívoro (*Sturnira lilium*), além estudar células enteroendócrinas referentes à espécie hematófaga.

Especificamente, pretendeu-se:

- 1- Descrever histologicamente os constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso das espécies hematófaga e frugívora.
- 2- Realizar a histomorfometria comparativa dos constituintes parietais desses segmentos do intestino grosso de ambas espécies.
- 3- Identificar e quantificar células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina na túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso do quiróptero hematófago.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Anatomia e histologia do aparelho digestório de morcegos

As primeiras referências sobre a morfologia do aparelho digestório de quirópteros datam do final do século XIX com as publicações de ROBIN (1881) apud GADELHA-ALVES et al. (2008), as quais eram inéditas para a época, além de uma consistente revisão de literatura sobre o assunto realizada pelo mesmo autor. O aperfeiçoamento dos microscópios de luz e os avanços das técnicas histológicas no século XX, propiciaram um desenvolvimento dos estudos histológicos (GADELHA-ALVES et al., 2008), incluindo aqueles relacionados à histologia do aparelho digestório em sua totalidade ou em segmentos isolados destacando-se os de SCHULTZ (1965), FORMAN (1973), MADKOUR (1977) e ISHIKAWA et al. (1985). Dentre os trabalhos que relacionam a morfologia do tubo digestivo de morcegos com o seu hábito alimentar, permitindo elucidar a relação existente com a sua fisiologia pode-se mencionar os de BHADE (1979), ISHIKAWA et al. (1985), EL-DESOUKI et al. (2006), GADELHA-ALVES et al. (2008) e PAKSUZ e PAKSUZ (2015).

No estudo com os morcegos frugívoros *Artibeus lituratus* e *Rousettus aegyptiacus* em comparação com os roedores *Rattus norvegicus* (rato de laboratório) e *Mesocricetus auratus* (hamster), CAVIEDES-VIDAL et al. (2008) verificaram que os morcegos tendem a ter menos tecido intestinal que os mamíferos não-voadores o que, segundo esses autores, seria uma vantagem para os quirópteros por facilitar a decolagem e a realização de manobras durante o voo. STROBEL et al. (2013) verificaram que morcegos insetívoros, dentre eles, *Pipistrellus pipistrellus* e *Myotis nattereri* apresentam a enzima quitinase ácida no estômago o que facilita a digestão da quitina encontrada na carapaça dos insetos, principal fonte de alimento desses quirópteros. BRUN et al. (2014) investigando a absorção de L-arabinose no intestino delgado dos morcegos frugívoros *Artibeus lituratus*, *Sturnira lilium* e *Carollia perspicillata* e dos roedores *Akodon montensis* (rato-do-mato), *Mus musculus* (camundongo) e *Rattus norvegicus*, verificaram que a absorção do nutriente por centímetro quadrado de

área superficial nominal foi em torno de duas a 12 vezes maior nos quirópteros do que nos roedores.

Em relação aos estudos anatomo-histológicos do aparelho digestório ISHIKAWA et al. (1985) citaram que conforme os achados de JACOBSHAGEN (1967) e KENT (1978) o ceco está ausente no intestino grosso dos morcegos. Analisando as regiões dos intestinos delgado e grosso do morcego insetívoro *Myotis frater kaguae* ISHIKAWA et al. (1985) descreveram que o íleo une-se diretamente ao cólon. Esses autores, também relataram, na descrição histológica da união íleo-cólon, o decréscimo na altura das vilosidades nessa região até a sua completa ausência no início do cólon.

GADELHA-ALVES et al. (2008) no estudo histomorfológico comparativo dos intestinos delgado e grosso de cinco espécies de quirópteros filostomídeos em relação a seus hábitos alimentares, a saber, *Sturnira lilium* (frugívoro), *Phyllostomus hastatus* (onívoro), *Carollia perspicillata* (frugívoro e insetívoro), *Glossophaga soricina* (nectívoro, insetívoro e frugívoro) e *Desmodus rotundus* (hematófago) verificaram também a ausência do ceco e que o intestino grosso estava formado pelo cólon descendente e o reto. Além disso informaram que, em geral, as características anatomo-histológicas desse intestino são uniformes entre as espécies estudadas e que estruturas como tênias do cólon e apêndice epiplóico estão ausentes. Também descreveram que os segmentos intestinais estavam localizados, em maior proporção, no antímero direito da cavidade abdominal com expressivo enovelamento nessas espécies, à exceção de *Desmodus rotundus* onde não foi verificada esta condição e que, dentre as espécies analisadas, o morcego *Sturnira lilium* apresentava intestino mais longo.

Esses autores relataram, ainda, que nas espécies estudadas, na porção íleo-cólon havia a diminuição em altura das vilosidades e o epitélio do tipo simples prismático apresentava aumento do número de células calciformes. Verificaram, também nesses quirópteros, na mucosa do intestino grosso, o mesmo tipo de epitélio com numerosas células calciformes e abundância de glândulas intestinais. Visualizaram placas de Peyer na porção íleo-cólon do intestino das espécies *Carollia perspicillata*, *Phyllostomus hastatus* e *Glossophaga soricina*; em *Desmodus rotundus* e *Sturnira lilium* identificaram agregados de nódulos linfóides distribuídos ao longo do tubo digestivo.

2.2. Células endócrinas gastrintestinais em morcegos

As células endócrinas gastrintestinais atuam no controle local da secreção, absorção, motilidade e proliferação das células da mucosa (RODRIGUES et al., 2005). Essas células podem ser classificadas por métodos histoquímicos, segundo POLAK et al. (1993) em argentafins que absorvem e têm capacidade redutora dos sais de prata e argirófilas que absorvem, mas não reduzem os sais de prata e precisam de uma substância redutora externa, a qual na maioria das análises realizadas para identificar essas células, é a hidroquinona. As técnicas de rotina para a detecção das células argentafins e argirófilas são as de Masson-Fontana modificada (BARBOSA et al., 1984) para as primeiras e de Grimelius (GRIMELIUS, 1968) para as últimas, apesar de existirem outras técnicas que realizam as identificações pretendidas. Outra maneira para identificar as células enteroendócrinas é quanto à forma e que podem ser triangulares, ovais ou piriformes (ALMARAZ, 1996; SANTOS e ZUCOLOTO, 1996; HENRIKSON et al., 1999). Também pode-se classificar essas células como do tipo aberto, quando o seu ápice alcança a superfície da mucosa e do tipo fechado, se o ápice não alcança essa superfície (RODRIGUES et al., 2005). Ainda, conforme esses autores, as células endócrinas gastrintestinais são agrupadas em famílias, de acordo com os mensageiros químicos que secretam, a saber, CCK/G (colecistocinina e gastrina), VIP/secretina (peptídeo intestinal vasoativo, secretina, peptídeo inibidor gástrico e glucagon), Taquicininas (substância P, neurocininas e peptídeo liberador de gastrina-GRP), Neurotensina, Somatostatina, PP (polipeptídeo pancreático, peptídeo YY e neuropeptídeo Y) e Motilina.

A atuação das células endócrinas com seus respectivos peptídeos reguladores atraiu o interesse de diversos pesquisadores que descreveram as suas ações no aparelho digestório de diversos vertebrados (SANTOS et al., 2008a; SANTOS et al., 2008b; SANTOS et al., 2009). Segundo esses autores existem estudos referentes às células enteroendócrinas em répteis (KU et al., 2001), peixes (PAN et al., 2002), aves (RAWDON e ANDREW, 1981; NASCIMENTO et al., 2007) e mamíferos (KU et al., 2004).

Dentre os trabalhos de investigação sobre células enteroendócrinas de quirópteros, destacam-se aqueles com o hematófago *Desmodus rotundus*

(YAMADA et al., 1984; SANTOS et al., 2009), com os insetívoros *Pipistrellus abramusi* e *Plecotus auritus* (YAMADA et al., 1988), *Lonchorhina aurita* e *Molossus molossus* (SANTOS et al., 2008a), com os nectívoros *Anoura caudifer* (ASHIHARA et al., 1999), *Anoura geoffroyi* e *Glossophaga soricina* (SANTOS et al., 2009), com os frugívoros *Carollia perspicillata* (ASHIHARA et al., 1999), *Artibeus cinerius* e *Sturnira lilium* (SANTOS et al., 2008b) e com o piscívoro *Noctilio leporinus* (KOMORI et al., 2000). Foi verificada, de uma maneira geral, a presença de células endócrinas imunorreativas a somatostatina, 5-hidroxitriptamina (5-HT), glucagon, gastrina, colecistocinina, peptídeo inibidor gástrico, serotonina e enteroglucagon na mucosa gástrica. No intestino delgado foram detectadas células endócrinas imunorreativas a glicentina, secretina, colecistocinina, peptídeo inibidor gástrico, neurotensina, motilina, glucagon pancreático, enteroglucagon e serotonina. Já no intestino grosso foram identificadas células endócrinas imunorreativas a serotonina, colecistocinina e enteroglucagon.

2.3. Caracterização de *Desmodus rotundus* E. Geoffroy, 1810

Desmodus rotundus (Figura 1) pertence à família Filostomidea e subfamília Desmodontineae, encontrado nas Américas, desde o México até a Argentina (MAcNAB, 1973; GREENHALL et al., 1983; KOOPMAN, 1988) e segundo REIS et al. (2007), no Brasil, esse quiróptero, está presente de norte a sul. Alimenta-se de sangue de mamíferos causando prejuízos econômicos para a pecuária em razão da transmissão do vírus da raiva aos herbívoros (ACHA e MÁLAGA-ALBA, 1988) destacado por REIS et al. (2007). Conforme BREDT et al. (1998), *D. rotundus* utiliza cavernas, ocos em árvores, minas abandonadas, bueiros e até edificações para se abrigar. Os animais dessa espécie formam colônias pequenas entre 10 e 50 indivíduos (GREENHALL et al., 1983), mas essas podem conter mais de 100 morcegos em regiões sem o controle regular de suas populações (UIEDA et al., 1996).



Figura 1: Espécime de *Desmodus rotundus*. Disponível em: <<https://www.ucsf.edu>>. Acesso em 22 jul.2015.

2.4. Caracterização de *Sturnira lilium* E. Geoffroy, 1810

Sturnira lilium (Figura 2) é componente da família Filostomidea e subfamília Estenodermatineae, encontrado nas Pequenas Antilhas e do México até o Uruguai (SIMMONS, 2005), no Brasil está disperso por todo o território (REIS et al., 2007). Tem hábito alimentar frugívoro com preferência por frutos de solanáceas (REIS et al., 2007) e apesar de não ser adaptado para a nectarivoria, segundo VIEIRA e CARVALHO-OKANO (1996) essa espécie é polinizadora de alguns vegetais. Abriga-se em cavernas, folhagem, ocos em árvores e edificações (GANNON et al., 1989; EVELYN e STILES, 2003). Uma característica anatômica que permite o fácil reconhecimento desse quiróptero, a campo, está representada pelas verrugas organizadas em forma de meia lua situadas no lábio inferior (REIS et al., 2007).



Figura 2: Espécime de *Sturnira lilium*. Disponível em: <<https://www.mbopiparaguay.com>>. Acesso em 22 jul. 2015.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram coletados três morcegos adultos machos da espécie *Desmodus rotundus* E. Geoffroy, 1810 (hematófago), peso médio de 34,19 g e três da espécie *Sturnira lilium* E. Geoffroy, 1810 (frugívoro), peso médio de 20,46 g, nos entornos da Universidade Federal de Viçosa (UFV) no município de Viçosa-MG (latitude 20°41'20"S e longitude 20°49'36"W).

3.2. Coleta dos animais

Os animais foram coletados durante o outono de 2013 (21/03 a 21/06), com a finalidade de se evitar flutuações por ação da sazonalidade sobre a dieta dos indivíduos, utilizando três redes de neblina (mist nets) (Figura 3) estendidas à altura de 0-4 m a partir do solo, durante seis horas por noite (18:00 h às 24:00 h) e vistoriadas a cada intervalo de 20 minutos.



Figura 3: Morcego capturado em rede de neblina. Disponível em: <<https://www.cmbconsultoria.com.br>>. Acesso em 23 jul. 2015.

Após a retirada dos espécimes da rede de neblina utilizou-se chaves dicotômicas por meio das quais as características externas e morfométricas das

espécies foram analisadas para a sua distinção (VIZOTTO e TADDEI, 1973; ALTRINGHAM, 1996; TAVARES et al., 2010; REIS et al., 2013) e o estágio de desenvolvimento dos animais, de jovem a adulto, foi determinado pelo grau de ossificação das epífises dos ossos longos, geralmente dos metacarpos e falanges proximais (ANTHONY, 1988), utilizando-se o foco de uma lanterna para a visualização (prática de campo).

Os quirópteros foram acondicionados em sacos de pano e transportados em uma gaiola de pássaros até o Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros, Departamento de Biologia Animal (DBA/UFV) para iniciar os procedimentos experimentais. Vale destacar que a coleta, o transporte e os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com instruções e autorização do SISBIO/IBAMA sob o N° 36215-1. Além disso todos os procedimentos experimentais passaram por avaliação junto à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFV) sob o N° 70/2012 e por supervisão do médico veterinário Luciano Carlos Heringer Porcaro Puga – CRMV-MG 5514.

3.3. Procedimentos experimentais

Após coleta, transporte e condução dos animais ao laboratório, estes foram pesados, anestesiados mediante o uso de um anestésico geral, pentobarbital sódico na concentração de 30 mg/mL, na dosagem de 60 mg/Kg de peso corporal, injetado por via intraperitoneal e eutanasiados pela administração intracardiaca de cloreto de potássio 0,25%, em função do peso corporal. Em seguida, foi realizada a abertura da cavidade abdominal, a exposição do tubo intestinal isolando-se o intestino grosso da porção final do intestino delgado, cujo o diâmetro deste é visivelmente menor que o grosso. Em seguida procedeu-se à mensuração do intestino grosso com a utilização de paquímetro, sendo seccionados três fragmentos de tamanhos semelhantes denominados de segmentos inicial, médio e final (Figura 4), em razão de não ser possível a identificação anatômica das porções intestinais ceco, cólons ascendente, transversos, descendente e reto, encontradas na maioria dos mamíferos.

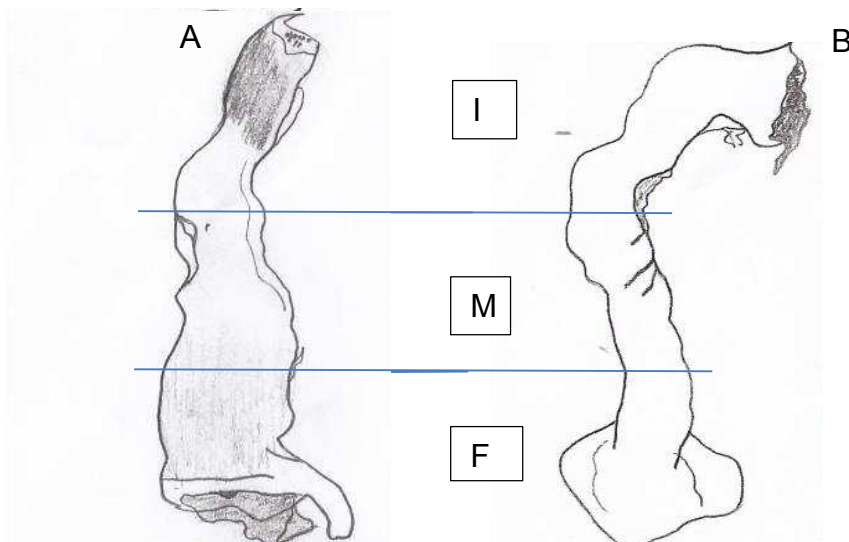


Figura 4: Desenho esquemático do intestino grosso. **A)** *Desmodus rotundus*; **B)** *Sturnira lilium*; **I)** Segmento inicial; **M)** Segmento médio; **F)** Segmento final. Sob permissão de Paulo Henrique de Carvalho Costa – Bolsista de Iniciação Científica/CNPq/UFV-2013/2014.

3.4. Processamento histológico

Após a fixação dos fragmentos em formol a 4% tamponado por 24 horas, estes foram desidratados em série de concentrações crescentes de etanol, diafanizados em xilol e incluídos em parafina histológica, conforme processamento histológico de rotina (BANCROFT e STEVENS, 2008).

3.5. Procedimentos histológicos, histoquímicos e imunohistoquímicos

Foram obtidos cortes histológicos de 5 μm de espessura utilizando-se micrótomo rotativo manual (modelo Olympus CUT 4055) com intervalos de cortes de 50 μm para evitar a repetição da área a ser analisada, utilizando-se três lâminas contendo três cortes. Para os estudos da descrição histológica dos constituintes parietais dos segmentos do intestino grosso realizaram-se técnicas de coloração pela Hematoxilina-Eosina/H-E (GRIMALDI FILHO, 1981), no Laboratório de Morfofisiologia, Departamento de Biologia Animal (DBA-UFV), histoquímicas de Grimelius (GRIMELIUS, 1968) para identificar e quantificar células argirófilas e de Masson-Fontana modificada (BARBOSA et al., 1984), idem para células argentafins, no Laboratório de Biologia Estrutural, Departamento de Biologia Geral (DBG-UFV) e de imunohistoquímica pela

Imunoperoxidase Indireta (STERNBERGER, 1979) para detectar e quantificar células imunorreativas à insulina, no Laboratório de Biologia e Imunodiagnóstico de Hematozoários, BIOAGRO-UFV. Para tanto utilizou-se soro de coelho (diluição 1:1000; R-4505; Sigma-Aldrich), anticorpo policlonal anti-insulina humana em soro de coelho (diluição 1:100; IM-0474; Imuny) e anticorpo IgG de cabra anti-IgG de coelho conjugado com peroxidase anti-peroxidase (diluição 1:1000; IC-3R01; Imuny).

3.6. Descrição histológica, histomorfométrica e quantificação de células enteroendócrinas

Para a descrição histológica da parede dos segmentos proximal, médio e distal do intestino grosso das espécies estudadas e a identificação das células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina foi utilizado microscópio de luz Olympus CX40 no Laboratório de Morfofisiologia (DBA-UFV).

Na mensuração dos constituintes parietais desse intestino foram empregadas três lâminas para cada um dos segmentos e realizadas vinte medidas aleatórias, em μm , das túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa, em aumento de 200X, perfazendo o total de 60 repetições por segmento tanto para *D. rotundus* quanto para *S. liliium*.

Na quantificação das células argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina localizadas na mucosa dos segmentos intestinais de *D. rotundus*, foram utilizadas três lâminas correspondentes a cada um dos segmentos com três repetições por lâmina, sendo demarcada uma área correspondente à túnica mucosa, em mm^2 , visualizada em aumento de 400X.

Tanto na mensuração dos componentes parietais quanto na quantificação das células endócrinas foi utilizado o software Image-Pro Plus 3.5 (Media Cybernetics, Inc.). Para a documentação dos resultados referentes à descrição histológica dos constituintes da parede dos segmentos do intestino grosso e da identificação das células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina, foram obtidas algumas fotomicrografias com o auxílio do fotomicroscópio de luz Olympus BX53, equipado com sistema de análise e captura de imagens Olympus CellSens Dimension no Laboratório de Sistemática Molecular-“Beagle” (DBA-UFV). Outras fotomicrografias foram obtidas com o

fotomicroscópio de luz Olympus BX60 dotado de câmara digital QColor3 acoplada ao sistema computadorizado Q-Capture no Laboratório de Citogenética (DBG-UFV).

3.7. Análise estatística

A normalidade e homocedasticidade dos dados histomorfométricos das túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa dos segmentos do intestino grosso de *D. rotundus* e *S. liliium* foram analisadas pelo teste Kolmogorov-Smirnov e considerando os resultados de média, desvio-padrão, máximo e mínimo, foi realizada a ANOVA com o nível de significância $p < 0,05$. Com os resultados obtidos referentes ao peso corporal, comprimento do intestino grosso e as espessuras das túnicas constituintes da parede dos segmentos inicial, médio e final do referido intestino dos quirópteros estudados foram realizadas correlações entre essas variáveis para a verificação do grau de dependência utilizando-se o coeficiente de correlação de Pearson.

Os resultados obtidos por essa correlação são representados por r que varia de -1 a 1, indicando um decremento ou aumento na variância compartilhada entre duas variáveis ou associação negativa ou positiva entre elas (FIGUEIREDO FILHO e SILVA JUNIOR, 2009) e, ainda, segundo esses autores, quanto mais próximo de 1 maior é o grau de dependência estatística linear entre as variáveis e quanto mais próximo de zero menor é o grau dessa dependência. Para a interpretação dos resultados estabeleceu-se que se r tem valores entre 0,10 e 0,30 a relação entre as variáveis é fraca; entre 0,40 e 0,60 é moderada e entre 0,70 e 1 é forte (DANCEY e REIDY, 2006).

Em relação às células endócrinas argirófilas, argentafins e IR à insulina localizadas na mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de *D. rotundus*, os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos dados não foram atendidos considerando-se o número de repetições, portanto foi utilizado o teste não paramétrico de Kendall Wallis com $p < 0,05$ para a análise das medidas de tendência central. Para verificar a correlação entre as células enteroendócrinas e a espessura da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso dessa espécie hematófaga utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman, representado por r_s que também varia de -1 a 1

(PAGANO e GAUVREAU, 2008) e com a interpretação dos resultados da seguinte maneira, se r_s varia de 0 a 0,4 a correlação é de magnitude fraca; de 0,4 a 0,5 é moderada e de 0,5 a 1 é forte (HULLEY et al., 2003).

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$) utilizando-se o software SPSS 16.0 (Statistical Package for the Social Sciences).

4. RESULTADOS

4.1. Observação anatômica macroscópica dos intestinos grossos de *Desmodus rotundus* e *Sturnira lillium*

A observação anatômica macroscópica do intestino grosso das espécies estudadas mostrou que esse segmento intestinal segue-se ao intestino delgado, diferenciando-se por um discreto aumento do diâmetro e localizado no antímero direito da cavidade abdominal. Não foi possível distinguir, anatomicamente, as regiões do ceco, dos cólons ascendente, transverso e descendente e do reto da maneira que são visualizados na maioria dos mamíferos e notou-se a ausência de tênias dos cólons, de haustros e de apêndice epiploico.

4.2. Cálculo dos pesos corporais de *Desmodus rotundus* e *Sturnira lillium*

O cálculo dos pesos corporais dos animais em estudo estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Peso corporal, em g, de morcegos machos adultos *D. rotundus* (n=3) e *S. lillium* (n=3).

Exemplar	<i>Desmodus rotundus</i>			<i>Sturnira lillium</i>		
	1	2	3	1	2	3
Peso corporal	34,88	34,77	32,92	20,78	20,67	19,94
$\bar{X} \pm dp$	34,19 \pm 1,10			20,46 \pm 0,46		

4.3. Cálculo das medidas dos comprimentos dos intestinos grossos de *Desmodus rotundus* e *Sturnira lillium*

O cálculo das medidas dos comprimentos dos intestinos grossos dos quirópteros estudados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2: Comprimento do intestino grosso, em cm, de morcegos machos adultos *D. rotundus* (n=3) e *S. lillium* (n=3).

Exemplar	<i>Desmodus rotundus</i>			<i>Sturnira lillium</i>		
	1	2	3	1	2	3
Comprimento	2,40	2,30	2,10	1,80	1,60	1,40
$\bar{X} \pm dp$	2,27 \pm 0,13			1,60 \pm 0,16		

A partir dos resultados encontrados para os pesos corporais e dos comprimentos do intestino grosso das espécies estudadas foi realizada a correlação de Pearson para essas variáveis, demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3. Correlação de Pearson entre o peso corporal e o comprimento do intestino grosso de morcegos adultos machos de *D. rotundus* (n=3) e *S. lillium* (n=3).

	Comprimento do intestino grosso	
	<i>Desmodus rotundus</i>	<i>Sturnira lillium</i>
Peso corporal	0,96	0,92

A análise da correlação de Pearson entre as variáveis peso corporal e comprimento do intestino grosso para *D. rotundus* mostrou o coeficiente de correlação (r=0,96) de maneira forte e positiva. Fato este também verificado para a correlação entre as mesmas variáveis para *S. lillium* que apresentou o coeficiente de correlação (r=0,92).

4.4. Descrição histológica dos constituintes parietais do intestino grosso de *Desmodus rotundus*

4.4.1. Segmento inicial

A túnica mucosa é revestida por epitélio simples prismático com células caliciformes. A lâmina própria é constituída de tecido conjuntivo frouxo celular contendo glândulas intestinais simples tubulares (criptas de Lieberkühn) em grande quantidade (Figura 5A), observadas sob várias perspectivas, de acordo com a disposição do corte realizado (longitudinal, transversal ou oblíquo). Nota-se, ainda, a presença moderada de vasos sanguíneos.

A muscular da mucosa constituída por uma estreita camada de músculo liso, situa-se profundamente à base das glândulas intestinais (Figura 5A).

A túnica submucosa apresenta-se constituída de tecido conjuntivo frouxo vascular, com poucos vasos sanguíneos e desprovida de glândulas (Figura 5A).

A túnica muscular encontra-se nitidamente dividida em duas camadas, uma mais espessa cujas fibras musculares lisas dispõem-se em espiral ao eixo principal do órgão – a camada muscular circular interna; e outra mais delgada formada por fibras que apresentam um trajeto paralelo a esse eixo – a camada muscular longitudinal externa. Entre elas encontra-se o plexo mioentérico (Figura 5B).

A túnica serosa que envolve a túnica muscular é composta por uma pequena faixa de tecido conjuntivo, revestido externamente por epitélio simples pavimentoso (mesotélio).

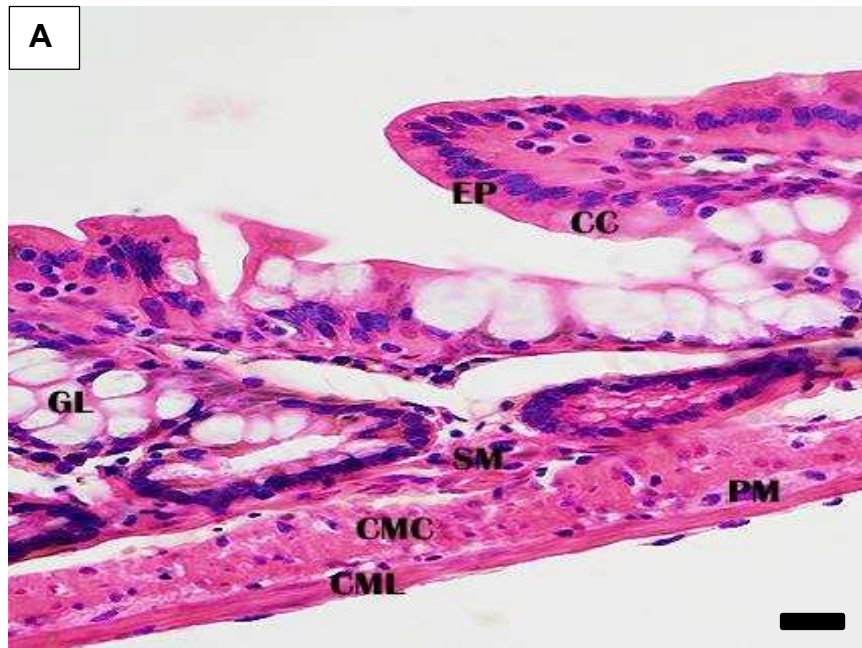


Figura 5A: Corte longitudinal do intestino grosso (segmento inicial) de *D. rotundus*. Epitélio simples prismático (EP); célula caliciforme (CC) glândula intestinal (GL); túnica submucosa (SM); camada muscular circular (CMC) e camada muscular longitudinal (CML) da túnica muscular; plexo mioentérico (PM). H-E. Barra: 10 μ m.

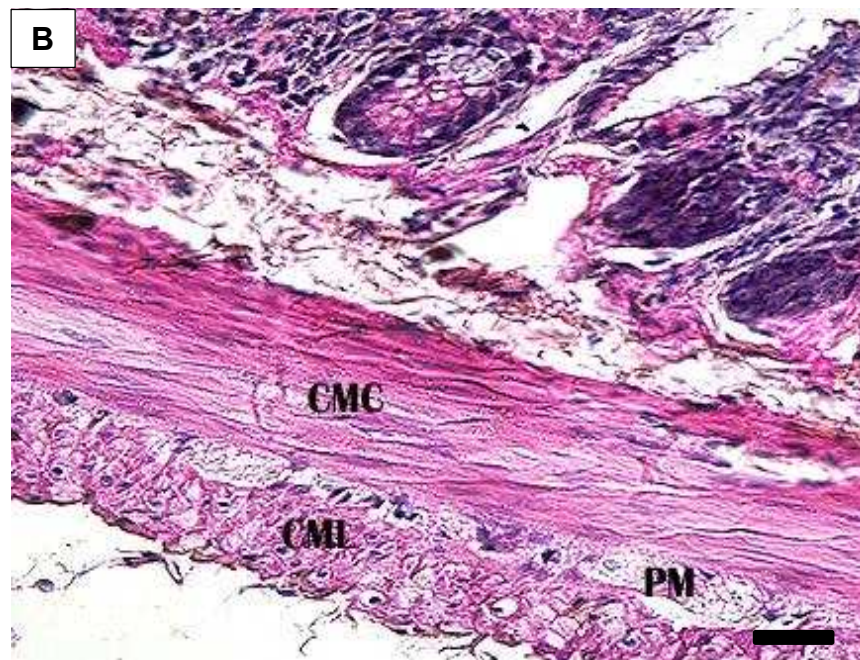


Figura 5B: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de *D. rotundus*. Camada muscular circular (CMC) e camada muscular longitudinal (CML) da túnica muscular; plexo mioentérico (PM).H-E. Barra: 20 μ m.

4.4.2. Segmento médio

A túnica mucosa tem padrão histológico semelhante ao descrito para o segmento anterior. Apresenta epitélio simples prismático com células caliciformes, lâmina própria constituída de tecido conjuntivo frouxo, com pequena quantidade de vasos sanguíneos, apresentando numerosas glândulas intestinais. É visualizada a muscular da mucosa, formada por fibras lisas, sob a lâmina própria (Figura 6A).

A túnica submucosa é formada por tecido conjuntivo frouxo com presença de poucos vasos sanguíneos (Figura 6B).

Na túnica muscular, formada pelas camadas circular, interna, e longitudinal, externa, distingue-se o plexo mioentérico entre as camadas (Figura 6B).

A túnica serosa (Figura 6B) é constituída por uma estreita faixa conjuntiva, revestida por camada única de células mesoteliais.

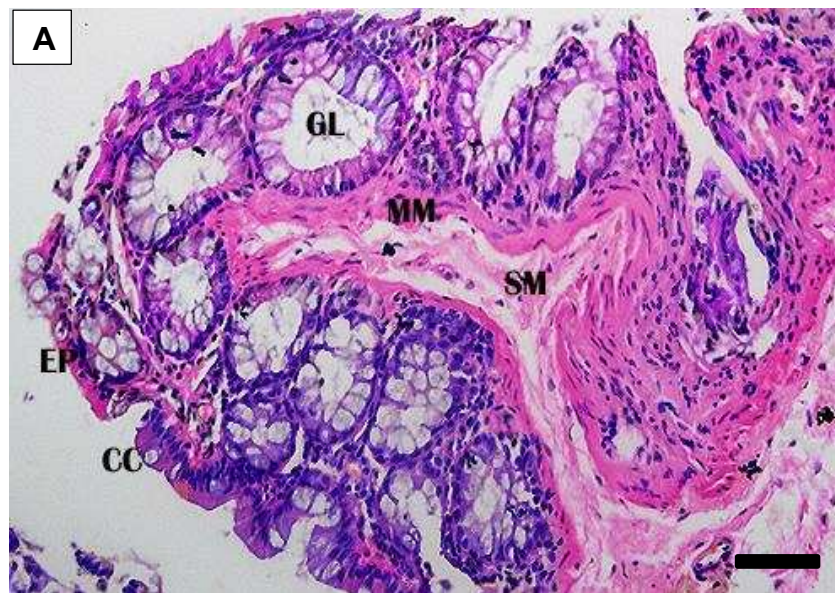


Figura 6A: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de *D. rotundus*. Epitélio simples prismático (**EP**) com células caliciformes (**CC**); glândula intestinal (**GL**); muscular da mucosa (**MM**); túnica submucosa (**SM**). H-E. Barra: 20 μ m.

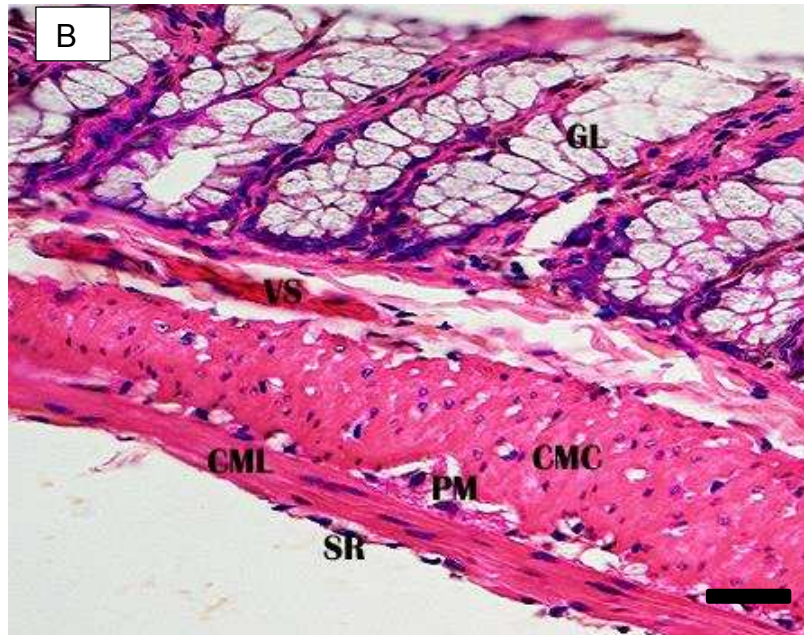


Figura 6B: Corte longitudinal do intestino grosso (segmento médio) de *D. rotundus*. Glândula intestinal (**GL**); vaso sanguíneo (**VS**) na túnica submucosa; camada muscular circular (**CMC**) e camada muscular longitudinal (**CML**) da túnica muscular; plexo mioentérico (**PM**); túnica serosa (**SR**). H-E. Barra: 20 μ m.

4.4.3. Segmento final

A túnica mucosa é revestida por epitélio simples prismático com células caliciformes. A lâmina própria, constituída de tecido conjuntivo frouxo, com moderada quantidade de vasos sanguíneos, apresenta numerosas glândulas intestinais e abundantes nódulos linfóides, bem como tecido linfóide difuso (Figura 7A). Profundamente à lâmina própria, observa-se a muscular da mucosa, constituída por uma fina camada de músculo liso, situada profundamente à base das glândulas intestinais.

A túnica submucosa é estruturada em tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos, contando com o provimento de numerosas glândulas sudoríparas. O ducto excretor dessas glândulas é revestido por epitélio biestratificado, abrindo-se próximo ao folículo piloso. Há um aumento progressivo da quantidade dessas glândulas à medida que se percorre o segmento em sentido caudal.

A túnica muscular encontra-se nitidamente dividida em duas camadas, uma mais espessa, a camada muscular circular interna; e outra mais delgada, a camada muscular longitudinal externa. Interpondo-se entre elas é visualizado o plexo mioentérico. Na região de transição reto-anal, o epitélio simples prismático modifica-se em estratificado pavimentoso e a bicamada muscular modifica-se, gradualmente, em uma estrutura única (Figura 7B), constituída de espessa camada de fibras musculares estriadas esqueléticas multinucleadas com núcleos dispostos na periferia das fibras em disposição concêntrica ao lume, formando por sua vez o esfíncter anal. Ao percorrer essa região de transição do segmento distal em direção ao ânus, nota-se a presença de numerosas glândulas sudoríparas próximas a folículos pilosos (Figura 7C).

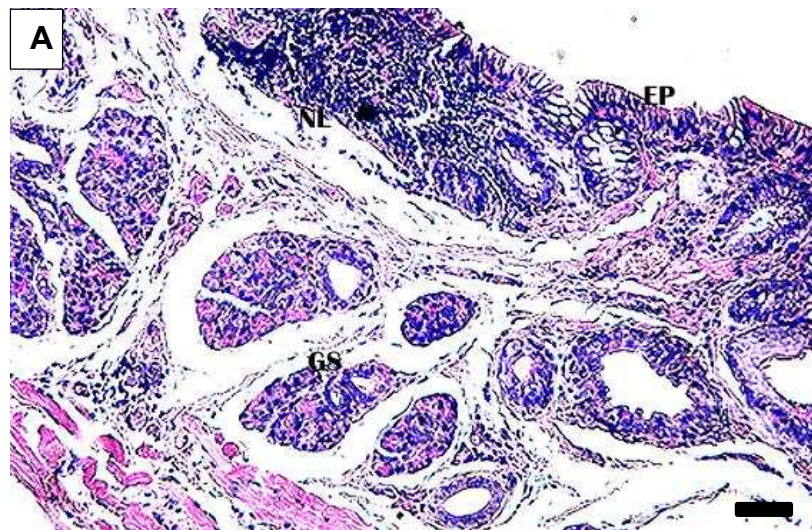


Figura 7A: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de *D. rotundus*. Epitélio simples prismático (**EP**); nódulo linfóide (**NL**); glândula sudorípara (**GS**). H-E. Barra: 10 μ m.



Figura 7B: Corte transversal de intestino grosso (segmento final/região reto-anal) de *D. rotundus*. Epitélio simples prismático (**EP**); epitélio estratificado pavimentoso (**EE**); glândula sudorípara (**GS**); túnica muscular (**TM**). H-E. Barra: 10 μ m.

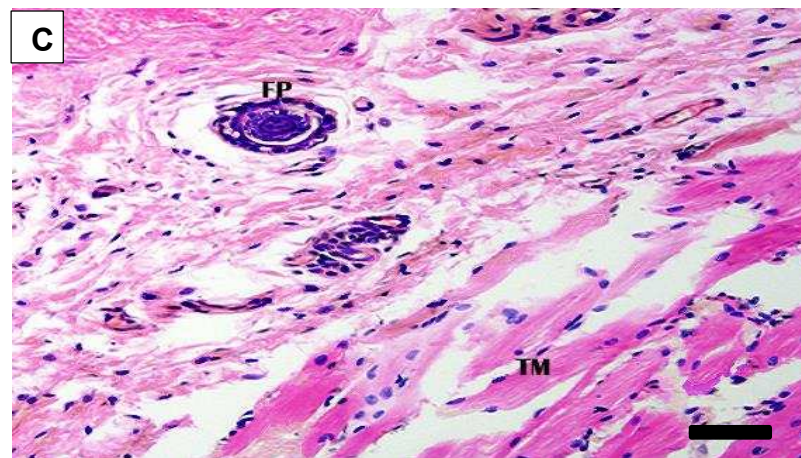


Figura 7C: Corte transversal de intestino grosso (segmento final/região reto-anal) de *D. rotundus*. Folículo piloso (**FP**); túnica muscular (**TM**). H-E. Barra: 20 μ m.

4.5. Descrição histológica dos constituintes parietais do intestino grosso de *Sturnira lilium*

4.5.1. Segmento inicial

A túnica mucosa é revestida por epitélio simples prismático com a presença de células caliciformes. A lâmina própria é constituída de tecido conjuntivo frouxo e possui glândulas simples tubulares e abundantes nódulos linfoides, bem como tecido linfoide difuso (Figura 8). Profundamente à lâmina própria, encontra-se a muscular da mucosa, constituída por estreita camada de músculo liso e situada profundamente à base das glândulas intestinais.

A túnica submucosa é constituída de tecido conjuntivo frouxo e desprovida de glândulas.

A túnica muscular encontra-se nitidamente dividida em duas camadas, uma mais espessa contendo fibras musculares lisas – a camada muscular circular interna, e outra mais delgada, com a mesma constituição dessas fibras que segue trajeto paralelo ao eixo principal do órgão – a camada muscular longitudinal externa, e entre elas observa-se o plexo mioentérico.

A túnica serosa envolve a túnica muscular e é composta por uma pequena faixa conjuntiva, revestida externamente por epitélio simples pavimentoso (mesotélio).

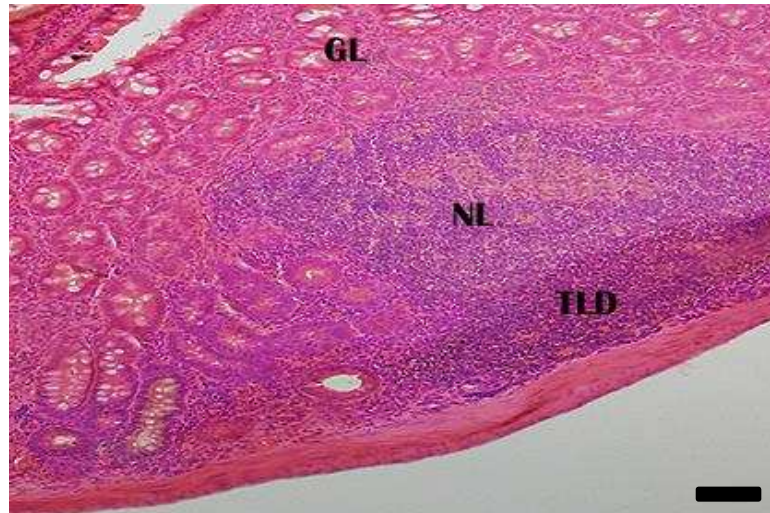


Figura 8: Corte transversal de intestino grosso (segmento inicial) de *S. liliium*. Glândula intestinal (**GL**); nódulo linfoide (**NL**); tecido linfoide difuso (**TLD**). H-E. Barra: 10 µm.

4.5.2. Segmento médio

A túnica mucosa segue o padrão histológico descrito para o segmento anterior. O epitélio simples prismático é dotado de células caliciformes. A lâmina própria é constituída de tecido conjuntivo frouxo, com pouca quantidade de vasos sanguíneos e com glândulas intestinais profundas (Figura 9) e alguns nódulos linfoides, bem como tecido linfoide difuso. Uma delgada muscular da mucosa encontra-se sob a lâmina própria.

A túnica submucosa é formada por tecido conjuntivo frouxo com presença de alguns vasos sanguíneos.

A túnica muscular é formada pelas camadas circular, interna, e longitudinal, externa, distinguindo-se entre elas o plexo mioentérico (Figura 9).

A túnica serosa constituída por uma fina faixa de tecido conjuntivo é revestida por epitélio simples pavimentoso (Figura 9).

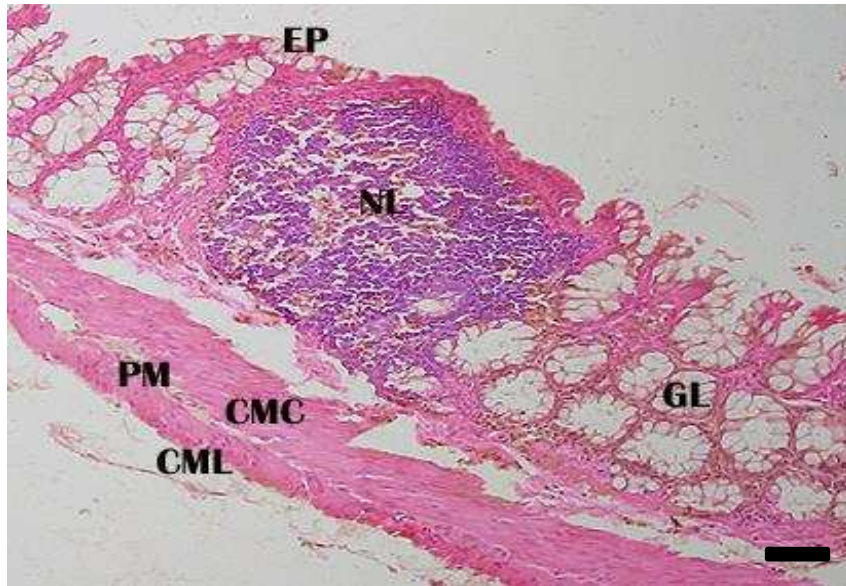


Figura 9: Corte transversal de intestino grosso (segmento médio) de *S. liliium*. Epitélio simples prismático (**EP**); glândula intestinal (**GL**); nódulo linfoide (**NL**); camada muscular circular (**CMC**) e camada muscular longitudinal (**CML**) da túnica muscular; plexo mioentérico (**PM**). H-E. Barra: 10 μ m.

4.5.3. Segmento final

A túnica mucosa apresenta basicamente o mesmo padrão histológico descrito para essa porção do intestino grosso em *D. rotundus*. É revestida por epitélio simples prismático (Figura 10) com presença de células caliciformes. A lâmina própria é constituída de tecido conjuntivo frouxo, com vasos sanguíneos, glândulas intestinais e tecido linfoide difuso. Na lâmina própria encontra-se a muscular da mucosa, constituída por estreita camada de músculo liso que limita a base das glândulas intestinais. Verifica-se ao final desse segmento distal, uma área de transição em que o epitélio simples prismático passa a estratificado pavimentoso, com a presença de folículos pilosos, em pouca quantidade, caracterizando o início da região de transição reto-anal.

A túnica submucosa é estruturada em tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos e glândulas sudoríparas, bastante similar ao descrito para a túnica submucosa de *D. rotundus*.

A túnica muscular encontra-se dividida em uma camada mais espessa, cujas fibras musculares lisas dispõem-se em espiral ao sentido caudal do órgão – a muscular circular, interna, e outra mais delgada, formada por fibras que

seguem paralelas ao eixo principal do órgão – a muscular longitudinal, externa. Interpondo-se entre elas encontra-se o plexo mioentérico. Na região de transição reto-anal, a túnica muscular modifica-se gradualmente em uma estrutura única (Figura 10), constituída de espessa camada de fibras musculares estriadas esqueléticas em disposição concêntrica que parece formar o esfíncter anal. Ao percorrer essa porção desse segmento intestinal, em direção a abertura anal, nota-se, assim como foi observado em *D. rotundus*, a presença de glândulas próximas a folículos pilosos.

A túnica serosa composta por estreita faixa conjuntiva é revestida externamente por epitélio simples pavimentoso (mesotélio).

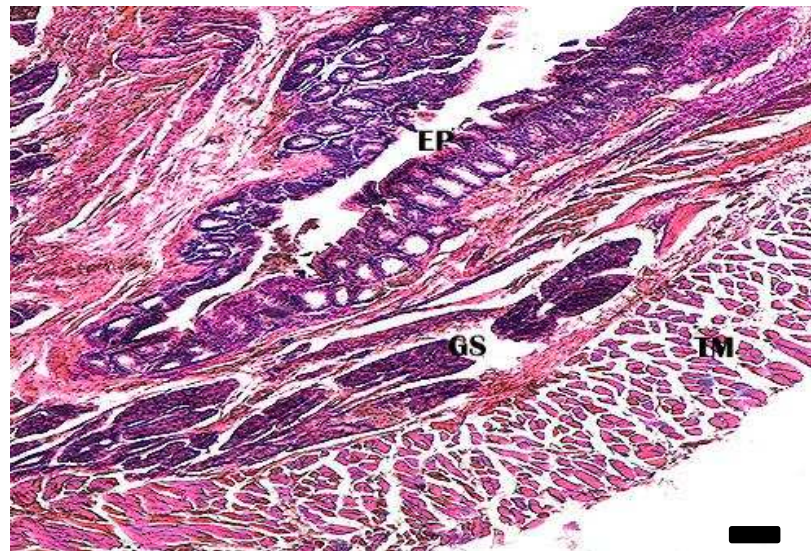


Figura 10: Corte longitudinal de intestino grosso (segmento final/região reto-anal) de *S. liliium*. Epitélio simples prismático (EP); glândula sudorípara (GS); túnica muscular (TM). H-E. Barra: 4 μ m.

4.6. Histomorfometria dos constituintes parietais do intestino grosso de *Desmodus rotundus* e *Sturnira lilium*

Os dados obtidos das espessuras dos constituintes parietais do intestino grosso das espécies estudadas encontram-se nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Espessura, em μm , das túnicas mucosa, submucosa, muscular (camadas musculares circular, interna, e longitudinal, externa) e serosa (média \pm desvio-padrão) de morcegos machos adultos, *D. rotundus* (n=3).

Segmento	Espessura				
	Mucosa	Submucosa	Muscular circular	Muscular longitudinal	Serosa
Inicial	164,73 \pm 55,97 ^a	23,48 \pm 9,57 ^a	64,42 \pm 19,22 ^a	28,12 \pm 7,41 ^a	6,85 \pm 2,08 ^a
Médio	144,52 \pm 40,21 ^a	44,58 \pm 27,05 ^a	65,35 \pm 27,11 ^a	36,62 \pm 16,07 ^b	10,13 \pm 6,72 ^a
Final	184,88 \pm 76,84 ^a	36,13 \pm 24,96 ^a	72,65 \pm 42,34 ^b	33,00 \pm 21,76 ^a	7,88 \pm 6,04 ^a
$\bar{X} \pm dp$ total	164,71 \pm 57,67	34,73 \pm 20,23	67,47 \pm 29,56	32,58 \pm 15,08	8,29 \pm 4,95

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as espessuras das túnicas mucosa, submucosa e serosa entre os segmentos inicial, médio e final em *D. rotundus*. Entretanto, a espessura da camada muscular circular da túnica muscular do segmento final foi maior ($p < 0,05$) que a espessura dessa camada dos demais segmentos. De mesma maneira a espessura da camada muscular longitudinal da túnica muscular do segmento médio foi maior ($p < 0,05$) se comparada com as espessuras das camadas musculares dos segmentos inicial e final.

Tabela 5. Espessura, em μm , das túnicas mucosa, submucosa, muscular (camadas circular, interna e longitudinal, externa) e serosa (média \pm desvio-padrão) de morcegos machos adultos, *S. liliium* (n=3).

Segmento	Espessura				
	Mucosa	Submucosa	Muscular circular	Muscular longitudinal	Serosa
Inicial	348,72 \pm 69,03 ^a	14,48 \pm 3,99 ^a	26,35 \pm 6,00 ^a	13,45 \pm 3,56 ^a	3,07 \pm 0,99 ^a
Médio	256,92 \pm 66,97 ^a	9,05 \pm 2,88 ^a	43,53 \pm 7,40 ^a	17,38 \pm 5,37 ^a	3,97 \pm 1,50 ^a
Final	300,00 \pm 90,51 ^a	24,68 \pm 10,69 ^a	149,68 \pm 62,45 ^b	40,32 \pm 22,06 ^a	7,88 \pm 6,04 ^a
X \pm dp total	301,88 \pm 75,50	16,07 \pm 5,85	73,19 \pm 25,28	23,72 \pm 10,33	4,97 \pm 2,84

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

Em *S. liliium* as espessuras da túnica mucosa, da submucosa, da camada muscular longitudinal da túnica muscular e da serosa não foram diferentes ($p > 0,05$). Também a espessura da camada muscular circular da túnica muscular entre os segmentos inicial e médio, não foi diferente ($p > 0,05$), entretanto, a espessura dessa camada muscular foi maior ($p < 0,05$) no segmento final em rela o aos demais segmentos.

Na análise dos valores das m dias totais das espessuras das túnicas dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de *D. rotundus* e *S. liliium* que em rela o   túnica mucosa, *S. liliium* apresentou essa túnica mais espessa que a de *D. rotundus*. O mesmo foi observado quanto à camada muscular circular da túnica muscular. Em *D. rotundus* as espessuras da túnica submucosa, da camada muscular longitudinal da túnica muscular e da serosa apresentaram maior espessura em compara o com as espessuras das túnicas de *S. liliium*.

Foram calculados os coeficientes de correla o de Pearson entre o peso corporal e as espessuras dos constituintes parietais do segmento inicial, segmento médio e segmento final (Tabela 6) do quiróptero *D. rotundus* e também os coeficientes entre as mesmas variáveis para a espécie *S. liliium* apresentados na Tabela 7.

Tabela 6. Correlação de Pearson entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais do segmento inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *D. rotundus* (n=3).

Peso Corporal	
Segmento Inicial	
Mc	0,68
Sm	- 0,15
Mi	0,92
Me	0,96
Sr	- 0,23
Segmento Médio	
Mc	0,98
Sm	0,95
Mi	0,89
Me	- 0,33
Sr	0,36
Segmento Final	
Mc	- 0,98
Sm	0,91
Mi	0,99
Me	0,05
Sr	0,97

Mc=túnica mucosa; **Sm**=túnica submucosa; **Mi**=camada muscular circular, interna, da túnica muscular; **Me**=camada muscular longitudinal, externa, da túnica muscular, **Sr**=túnica serosa.

A correlação entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais do segmento inicial foi moderada positiva ($r=0,68$) para a túnica mucosa; fraca negativa ($r=- 0,15$) para a submucosa; forte positiva ($r=0,92$) para as camadas musculares circular e longitudinal ($r=0,96$) da túnica muscular e fraca negativa ($r=- 0,23$) para a túnica serosa.

A correlação entre as variáveis, peso corporal e espessura das túnicas do segmento médio, mostrou ser forte positivo para a mucosa ($r=0,98$), submucosa ($r=0,95$) e camada muscular circular ($r=0,89$), enquanto foi fraca negativa para a camada muscular longitudinal ($r=- 0,33$) e fraca positiva ($r=0,36$) para a serosa.

A correlação entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais do segmento final foi forte negativa ($r=- 0,98$) para a túnica mucosa; forte positiva ($r=0,91$) para a submucosa; forte positiva ($r=0,99$) para a camada muscular circular; muito fraca positiva para a camada muscular longitudinal ($r=0,05$) da túnica muscular e forte positiva ($r=0,97$) para a túnica serosa.

Tabela 7. Correlação de Pearson entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais do segmento inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *S. liliium* (n=3).

Peso Corporal	
Segmento Inicial	
Mc	- 0,68
Sm	- 0,12
Mi	0,99
Me	- 0,99
Sr	0,60
Segmento Médio	
Mc	0,99
Sm	0,99
Mi	- 0,94
Me	0,85
Sr	0,60
Segmento Final	
Mc	- 0,68
Sm	0,60
Mi	- 0,95
Me	- 0,39
Sr	0,60

Mc=túnica mucosa; **Sm**=túnica submucosa; **Mi**=camada muscular circular, interna, da túnica muscular; **Me**=camada muscular longitudinal, externa, da túnica muscular, **Sr**=túnica serosa.

A correlação entre as variáveis, peso corporal e espessura das túnicas do segmento inicial, mostrou ser moderada negativa para a mucosa ($r=- 0,68$) e fraca negativa para a submucosa ($r=- 0,12$); forte positiva para a camada muscular circular ($r=0,99$); forte negativa a camada muscular longitudinal ($r=- 0,99$) e moderada positiva ($r=0,60$) para a serosa.

A correlação entre o peso corporal e a espessura dos constituintes parietais do segmento médio foi forte positiva ($r=0,99$) para a túnica mucosa e para a submucosa ($r=0,99$); forte negativa ($r=- 0,94$) para a camada muscular circular; forte positiva ($r=0,85$) para a camada muscular longitudinal e moderada positiva ($r=0,60$) para a túnica serosa.

A correlação entre as variáveis, peso corporal e espessura dos constituintes parietais do segmento final, mostrou ser moderada negativa para a mucosa ($r=- 0,68$); moderada positiva para a submucosa ($r=0,60$); forte negativa para a camada muscular circular ($r=- 0,95$); fraca negativa para a camada muscular longitudinal ($r=- 0,39$) e moderada positiva ($r=0,60$) para a serosa.

Para a verificação do grau de dependência entre as variáveis, comprimento do intestino grosso e as espessuras das túnicas da parede dos segmentos intestinais foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson apresentados na Tabela 8 para a espécie *D. rotundus* e na Tabela 9 para a espécie *S. liliium*.

Tabela 8. Correlação de Pearson entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais do segmento inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *D. rotundus* (n=3).

Comprimento Intestinal	
Segmento Inicial	
Mc	0,86
Sm	- 0,42
Mi	0,99
Me	1,00
Sr	0,05
Segmento Médio	
Mc	0,99
Sm	1,00
Mi	0,98
Me	- 0,58
Sr	0,08
Segmento Final	
Mc	- 0,99
Sm	0,98
Mi	0,92
Me	0,33
Sr	0,99

Mc=túnica mucosa; **Sm**=túnica submucosa; **Mi**=camada muscular circular, interna, da túnica muscular; **Me**=camada muscular longitudinal, externa, da túnica muscular, **Sr**=túnica serosa.

A correlação entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais do segmento inicial foi forte positiva ($r=0,86$) para a túnica mucosa; moderada negativa para a submucosa ($r=- 0,42$); forte positiva ($r=0,99$) para a camada muscular circular; muito forte positiva ($r=1$) para a camada muscular longitudinal e muito fraca positiva ($r=0,05$) para a túnica serosa.

A correlação entre as variáveis, o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais do segmento médio, mostrou ser forte positiva para a túnica mucosa ($r=0,99$); muito forte positiva para a submucosa

($r=1$); forte positiva para a camada muscular circular ($r=-0,98$); moderada negativa para a camada muscular longitudinal ($r=-0,58$) e muito fraca positiva ($r=0,08$) para a serosa.

A correlação entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais do segmento final foi forte negativa ($r=-0,99$) para a túnica mucosa; forte positiva para a submucosa ($r=0,98$); forte positiva ($r=0,92$) para a camada muscular circular; fraca positiva ($r=0,33$) para a camada muscular longitudinal e forte positiva ($r=0,99$) para a túnica serosa.

Tabela 9. Correlação de Pearson entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais do segmento inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *S. liliium* ($n=3$).

Comprimento Intestinal	
Segmento Inicial	
Mc	- 0,34
Sm	- 0,50
Mi	0,87
Me	- 0,87
Sr	0,87
Segmento Médio	
Mc	0,97
Sm	0,87
Mi	- 0,72
Me	0,98
Sr	0,87
Segmento Final	
Mc	- 0,34
Sm	0,87
Mi	- 0,74
Me	0,00
Sr	0,87

Mc=túnica mucosa; **Sm**=túnica submucosa; **Mi**=camada muscular circular, interna, da túnica muscular; **Me**=camada muscular longitudinal, externa, da túnica muscular, **Sr**=túnica serosa.

A correlação entre as variáveis, comprimento do intestino grosso e espessura dos constituintes parietais do segmento inicial, mostrou ser fraca negativa para a túnica mucosa ($r=-0,34$); moderada negativa para a submucosa ($r=-0,50$); forte positiva para a camada muscular circular ($r=0,87$); forte negativa para a camada muscular longitudinal ($r=-0,87$) e forte positiva ($r=0,87$) para a serosa.

A correlação entre o comprimento do intestino grosso e a espessura dos constituintes parietais do segmento médio desse intestino foi forte positiva ($r=0,97$) para a túnica mucosa; forte positiva para a submucosa ($r=0,87$); forte negativa ($r=- 0,72$) para a camada muscular circular; forte positiva ($r=0,98$) para a camada muscular longitudinal e forte positiva ($r=0,87$) para a túnica serosa.

A correlação entre as variáveis, comprimento do intestino grosso e espessura dos constituintes parietais do segmento final mostrou ser fraca negativa para a túnica mucosa ($r=- 0,34$); forte positiva para a submucosa ($r=0,87$); forte negativa para a camada muscular circular ($r=- 0,74$); sem correlação para a camada muscular longitudinal ($r=0$) e forte positiva ($r=0,87$) para a serosa.

4.7. Identificação e quantificação das células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas (IR) à insulina da túnica mucosa dos segmentos do intestino grosso de *Desmodus rotundus*

Neste estudo realizado com a espécie hematófaga *D. rotundus* para identificar e quantificar as células argirófilas, argentafins e IR na insulina da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso, as células endócrinas argirófilas e argentafins tenderam a apresentar formato alongado, com o núcleo arredondado, visualizado em imagem negativa e o citoplasma dotado de granulações coradas em marrom escuro. As células imunorreativas à insulina da túnica mucosa dos segmentos mencionados do intestino grosso apresentaram formato arredondado a alongado, com núcleo visualizado por imagem negativa e citoplasma dotado de granulações coradas em marrom claro a escuro.

As células argirófilas foram localizadas próximas às glândulas intestinais da túnica mucosa (Figura 11) do segmento inicial do intestino grosso, enquanto nos segmentos médio e final foram identificadas no epitélio que reveste essa túnica (Figuras 12 e 13).

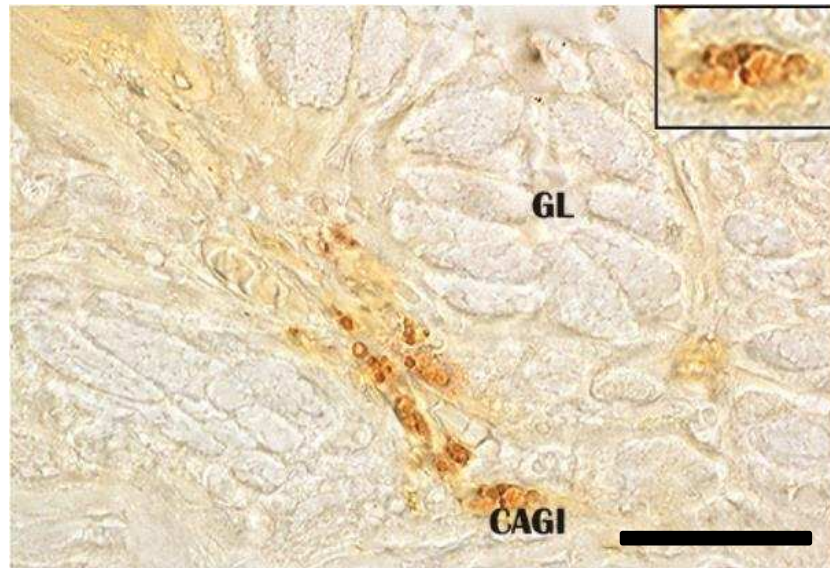


Figura 11: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de *D. rotundus*. Glândula intestinal (**GL**); célula argirófila (**CAGI**). Grimelius. Barra: 100 μ m.



Figura 12: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de *D. rotundus*. Epitélio da túnica mucosa (**EP**); célula argirófila (**CAGI**). Grimelius. Barra: 100 μ m.

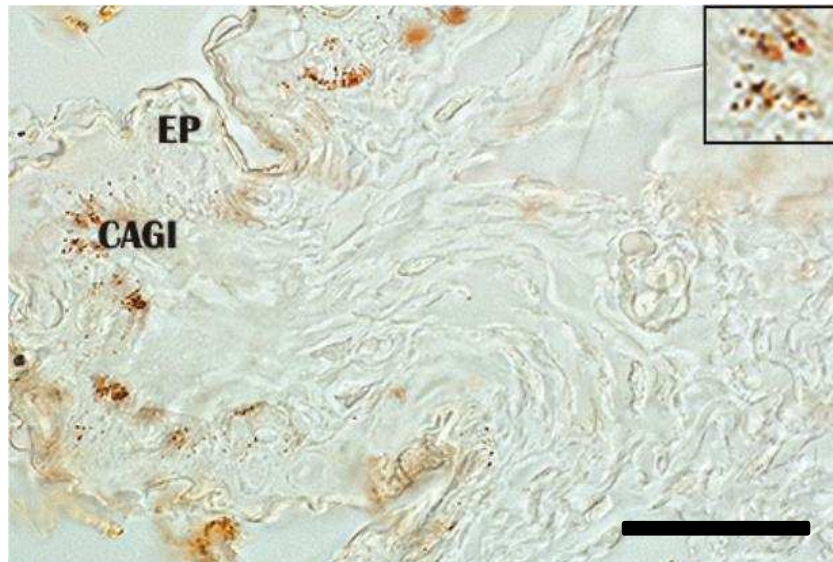


Figura 13: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de *D. rotundus*. Epitélio da túnica mucosa (**EP**); célula argirófila (**CAGI**). Grimelius. Barra: 100 μ m.

As células argentafins foram detectadas próximas às glândulas intestinais da túnica mucosa (Figura 14) do segmento inicial do intestino grosso, no segmento médio foram localizadas no epitélio que reveste essa túnica (Figura 15) e no segmento final também foram identificadas próximas às glândulas intestinais (Figura 16).

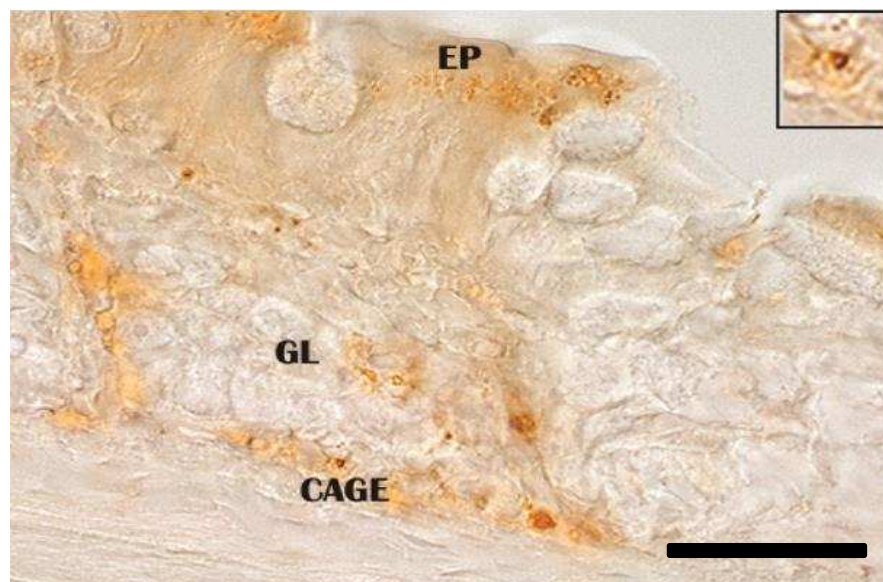


Figura 14: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de *D. rotundus*. Epitélio da túnica mucosa (**EP**); glândulas intestinais (**GL**); célula argentafim (**CAGE**). Masson-Fontana. Barra: 100 μ m.

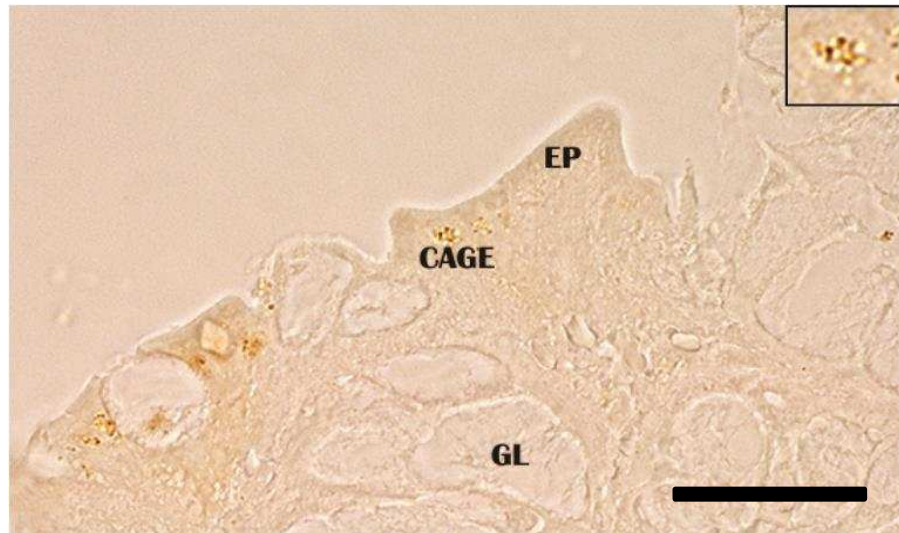


Figura 15: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de *D. rotundus*. Epitélio da túnica mucosa (**EP**); glândulas intestinais (**GL**); célula argentafim (**CAGE**). Masson-Fontana. Barra: 100 μ m.

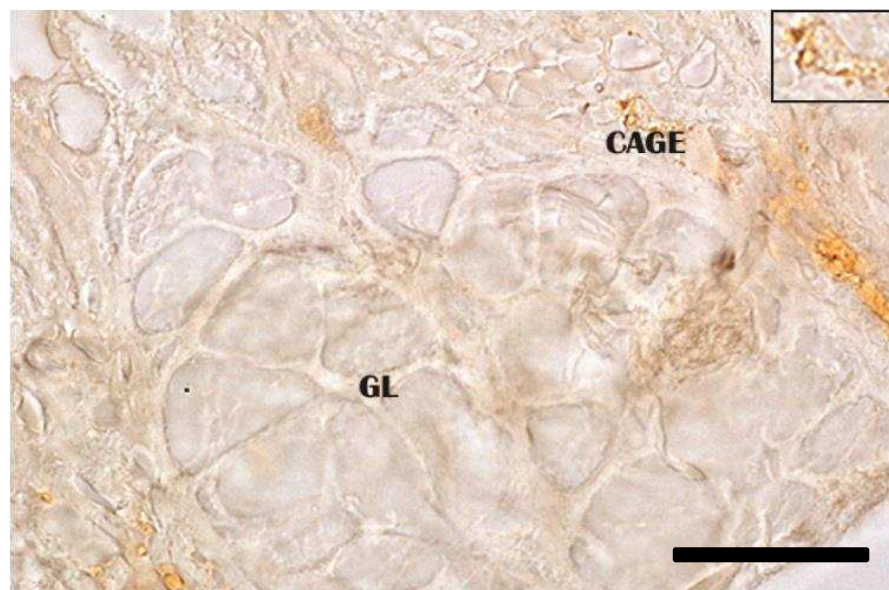


Figura 16: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de *D. rotundus*. Glândulas intestinais (**GL**); célula argentafim (**CAGE**). Masson-Fontana. Barra: 100 μ m.

As células com imunorreatividade à insulina (Figuras 17; 18 e 19) foram identificadas próximas das glândulas intestinais em todos os segmentos, inicial, médio e final do intestino grosso.

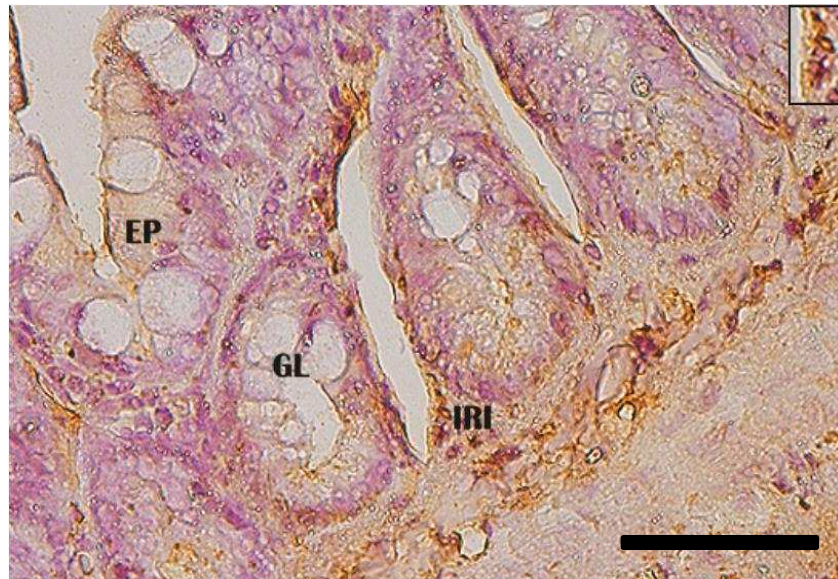


Figura 17: Corte transversal do intestino grosso (segmento inicial) de *D. rotundus*. Epitélio da túnica mucosa (EP); glândulas intestinais (GL); célula imunorreativa à insulina (IRI). Imunoperoxidase indireta. Barra: 100 μ m.

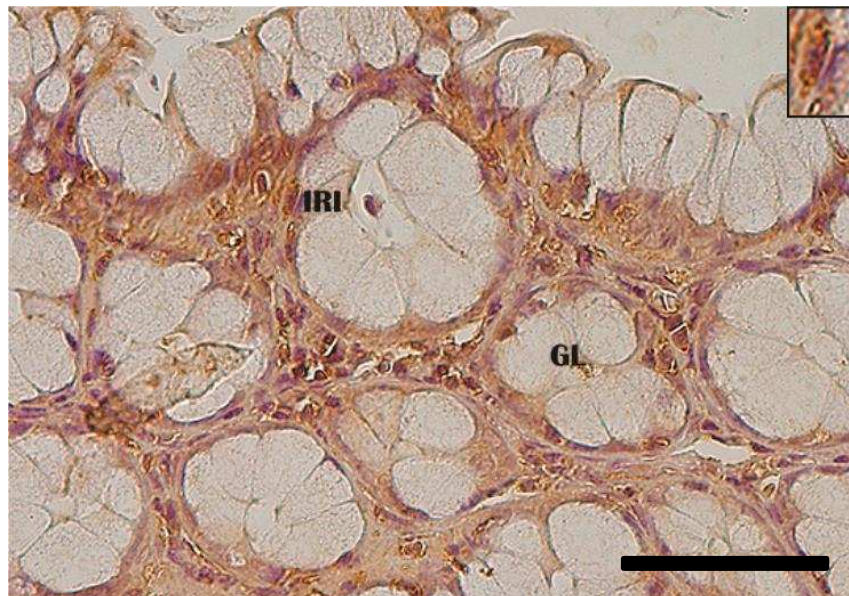


Figura 18: Corte transversal do intestino grosso (segmento médio) de *D. rotundus*. Glândulas intestinais (GL); célula imunorreativa à insulina (IRI). Imunoperoxidase indireta. Barra: 100 μ m.

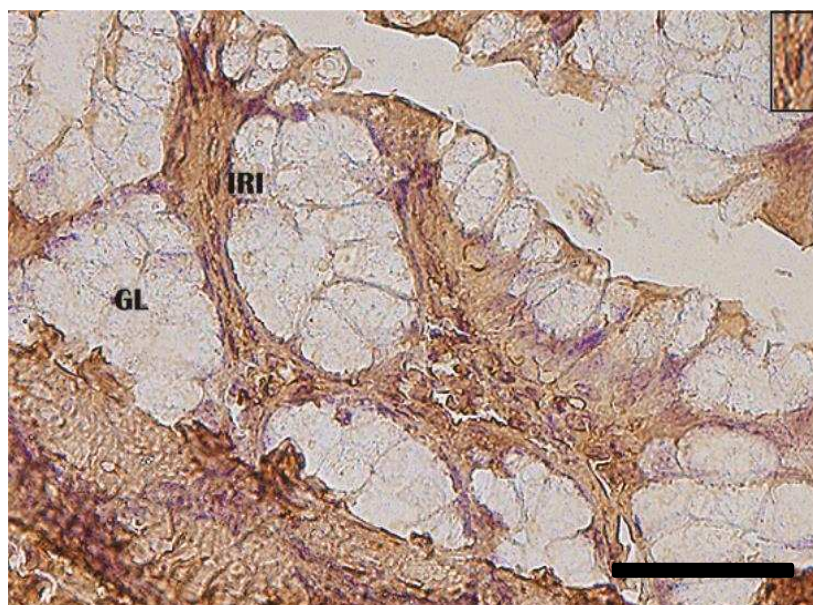


Figura 19: Corte transversal do intestino grosso (segmento final) de *D. rotundus*. Glândulas intestinais (**GL**); célula imunorreativa à insulina (**IRI**). Imunoperoxidase indireta. Barra: 100 μ m.

Os dados obtidos da quantificação das células endócrinas argirófilas, argentafins e IR à insulina localizadas na túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de *D. rotundus* estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10. Número de células endócrinas, por mm^2 , (média \pm desvio-padrão) da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *D. rotundus* (n=3).

Células Endócrinas	Túnica mucosa dos segmentos		
	Inicial	Médio	Final
Argirófilas	94,42 \pm 163,54 ^a	106,50 \pm 184,47 ^a	46,42 \pm 80,40 ^a
Argentafins	110,53 \pm 95,80 ^a	142,32 \pm 128,35 ^a	111,38 \pm 102,72 ^a
IR insulina	20,48 \pm 2,04 ^a	19,85 \pm 1,62 ^a	21,21 \pm 1,76 ^a

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Kendall Wallis.

No quiróptero *D. rotundus* a quantificação das células endócrinas argirófilas nos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso não apresentou diferença entre eles ($p > 0,05$). A mesma situação é verificada para

as outras células endócrinas, argentafins e IR à insulina, para os mesmos segmentos intestinais, ou seja, não houve diferença ao nível de 5% de significância.

Na túnica mucosa do segmento inicial foram quantificadas, em média 225,43 células endócrinas/mm², sendo que dentre elas, 41,88% são argirófilas, 49,03% são argentafins e 9,08% são imunorreativas à insulina. Na do segmento médio foram quantificadas 268,67 células/mm², contabilizando 39,64% argirófilas, 52,97% argentafins e 7,39% imunorreativas à insulina. Já na túnica mucosa do segmento final foram quantificadas 179,01 células/mm², sendo 25,93% argirófilas, 62,22% argentafins e 11,85% imunorreativas à insulina. Essa proporção está apresentada na Tabela 11.

Tabela 11. Número percentual de células endócrinas argirófilas, argentafins e IR à insulina, por mm², da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *D. rotundus* (n=3).

Células endócrinas (%)			
Túnica mucosa dos segmentos	Argirófilas	Argentafins	IR insulina
Inicial	41,88	49,03	9,08
Médio	39,64	52,97	7,39
Final	25,93	62,22	11,85

Para a verificação do grau de dependência entre as variáveis, número de células endócrinas/mm² e espessura da túnica dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de *D. rotundus* foram calculados os coeficientes de correlação de Spearman apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Correlação de Spearman entre o número de células endócrinas, em mm², e a espessura da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de morcegos machos, adultos *D. rotundus* (n=3).

Células endócrinas	Túnica mucosa dos segmentos		
	Inicial	Médio	Final
Argirófilas	0,86	0,00	0,86
Argentafins	0,50	- 0,50	1,00
IR insulina	1,00	0,50	- 0,50

A correlação de Spearman entre as variáveis, número de células endócrinas/mm² e a espessura da túnica mucosa do segmento inicial resultou na seguinte sequência; foi de magnitude forte positiva ($r_s=0,86$) para as células argirófilas, de magnitude moderada positiva ($r_s=0,50$) para as células argentafins e de magnitude muito forte positiva ($r_s=1$) para as células IR à insulina. Em relação a espessura da túnica do segmento médio, mostrou magnitude muito fraca ($r_s=0$) para as células argirófilas, magnitude moderada negativa ($r_s=- 0,50$) para as células argentafins e magnitude moderada positiva ($r_s=0,50$) para as células IR à insulina. Para a espessura da túnica mucosa do segmento final, mostrou magnitude forte positiva ($r_s= 0,86$) para as células argirófilas, magnitude muito forte positiva ($r_s=1$) para as células argentafins e magnitude moderada negativa para as células IR à insulina.

5. DISCUSSÃO

A observação anatômica macroscópica, no presente estudo, do intestino grosso de *Desmodus rotundus* (hematófago) e *Sturnira liliium* (frugívoro) em que se nota a sua continuidade do intestino delgado apenas por um discreto aumento de seu diâmetro e que não se consegue estabelecer a divisão sequencial dos seus constituintes, ceco, cólons ascendente, transverso e descendente e o reto, está em conformidade ao descrito por ISHIKAWA et al. (1985) para o morcego *Myotis frater kaguae* ao descreverem que o diâmetro do intestino grosso era ligeiramente maior que o do intestino delgado e que também não visualizaram a presença do ceco e nem dos cólons ascendente e transverso e descendente e do reto, como é visualizada na maioria dos mamíferos. Em razão desse fato, esses autores consideraram o intestino grosso constituído pelo cólon descendente e o reto. Verificaram, ainda, a ausência de tênias do cólon, haustros e apêndice epiplóico.

De igual maneira, GADELHA-ALVES et al. (2008) no estudo histomorfológico comparativo realizado com cinco espécies de morcegos filostomídeos, descreveram que para *Phyllostomus hastatus* e *Carollia perspicillata* havia o aumento do diâmetro na junção entre os intestinos delgado e grosso; ainda, para essas espécies e as outras estudadas, *Sturnira liliium*, *Glossophaga soricina*, e *Desmodus rotundus*, o intestino grosso apresentava-se destituído de ceco e que estava, anatomicamente, estruturado em cólon descendente e reto e que também estavam ausentes as tênias do cólon e o apêndice epiplóico.

Na pesquisa sobre a morfologia dos intestinos delgado e grosso do quiróptero *Myotis myotis* (PAKSUZ e PAKSUZ, 2015) relataram também essa descrição anatômica para o intestino grosso e, inclusive, mencionaram que nos morcegos insetívoros *Tadarida nigeriae* e *Rhinolophus hildebrandti*, não existe o cólon e somente o reto é encontrado.

No presente estudo com os filostomídeos *D. rotundus* e *S. liliium* os segmentos denominados de inicial e médio corresponderiam ao cólon descendente das várias espécies aqui descritas e o segmento final referente ao reto.

Os quirópteros estudados, *D. rotundus* e *S. liliium*, apresentaram, em média, os pesos corporais em valores aproximados aos relatados para esses e outros filostomídeos conforme o relatado por REIS et al. (2007). Comparando o peso corporal com o comprimento do intestino grosso desses animais, observou-se uma correlação de magnitude forte e positiva entre as variáveis o que indicou uma relação de proporcionalidade direta entre elas, ou seja, o decréscimo ou acréscimo de uma delas, obrigatoriamente, implicará o mesmo para a outra. Essa constatação permite inferir que o aumento do peso corporal nesses animais corresponderia, de maneira diretamente proporcional, a um maior comprimento do intestino grosso.

ISHIKAWA et al. (1985) ao estudarem o morcego insetívoro *Myotis frater kaguae* consideraram que a porção final do intestino delgado denominado de íleo-cólon corresponderia, anatomicamente, aos cólons ascendente e transversos presentes na maioria dos mamíferos e que seria uma derivação evolutiva para a continuação do intestino delgado. Dessa forma pode-se inferir que a redução do intestino grosso levaria também à diminuição do tubo intestinal na sua totalidade e, em consequência, a redução do peso corporal. Em relação ao comprimento intestinal total, GADELHA-ALVES et al. (2008) apesar de afirmarem que o intestino grosso é curto para a maioria das espécies pesquisadas, relataram que o comprimento intestinal total de *S. liliium* apresentasse longo, de *D. rotundus*, *P. hastatus* e *C. perspicillata* moderado e em *G. soricina* curto.

Ainda, segundo esses autores, o intestino mais curto levaria à redução do peso corporal facilitando manobras realizadas durante o voo, além de aumentar o trânsito e a absorção de nutrientes. Esses argumentos estão de acordo com CAVIEDES-VIDAL et al. (2007; 2008) nas pesquisas realizadas sobre a adaptação do tubo digestivo de vertebrados voadores. Eles constataram que pássaros e morcegos apresentavam o intestino mais curto quando comparado a vertebrados não-voadores e esse fato além de reduzir o peso corporal desses animais também contribuiria para aumentar o trânsito do conteúdo intestinal e a rápida absorção de nutrientes, facilitando assim, o voo.

O padrão histológico dos constituintes parietais do intestino grosso, observado em *D. rotundus* e *S. liliium*, é bastante similar entre essas espécies, entretanto, observou-se que a localização de nódulos linfóides e de tecido

linfoide difuso é diferente nesses quirópteros. Em *D. rotundus* essas estruturas encontram-se distribuídas na túnica mucosa do segmento final do intestino grosso, enquanto em *S. liliium* distribuem-se na túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final.

A descrição histológica relatada para esse segmento intestinal dos animais estudados no presente trabalho, está referenciada aos achados de ISHIKAWA et al.(1985) sobre os intestinos delgado e grosso para o morcego insetívoro *M. frater kaguae*. De maneira similar na pesquisa comparativa histomorfológica destes intestinos entre cinco espécies de morcegos filostomídeos, e, dentre eles, as duas espécies de quirópteros, hematófaga e frugívora, analisadas neste trabalho, GADELHA-ALVES et al. (2008) também verificaram a uniformidade do padrão histológico descrito. Também na descrição da morfologia dos intestinos delgado e grosso de *Myotis myotis* (PAKSUZ e PAKSUZ, 2015) relataram, para o último segmento intestinal, semelhanças nos constituintes parietais mencionados anteriormente.

A túnica mucosa visualizada nos segmentos do intestino grosso de *D. rotundus* e *S. liliium* revestida por epitélio simples prismático com células caliciformes está condizente ao mencionado por GADELHA-ALVES et al. (2008) para essas espécies relatadas. Esse padrão histológico parece ser comum a todos os quirópteros, independente do hábito alimentar, uma vez que esta descrição coincide com a realizada por ISHIKAWA et al. (1985) para o insetívoro *M. frater kaguae*, GADELHA-ALVES et al. (2008) para o onívoro *P. hastatus*; o frugívoro e, ocasionalmente, insetívoro *C. perspicillata* e o nectívoro que também pode exercer a insetivoria e a frugivoria *G. soricina*, nectívoro e por PAKSUZ e PAKSUZ (2015) para o insetívoro *M. myotis*.

O muco produzido e liberado pelas células caliciformes atua na lubrificação da superfície luminal o que facilita o percurso das fezes até o ambiente externo, conforme exposto por GEORGE et al. (1998), JUNQUEIRA e CARNEIRO (2008) e MENEZES (2013). Nos estudos de OKON (1977) apud ISHIKAWA et al. (1985) foi mencionado que no quiróptero insetívoro *Tadarida nigeriae* o cólon está ausente e que o intestino grosso consistia somente do segmento reto. Esse segmento intestinal apresentava a mucosa quase inteiramente estruturada com células caliciformes, as quais suprem com

bastante muco essa região para a sua lubrificação, facilitando assim o percurso do conteúdo intestinal constituído basicamente de quitina.

A presença de agregados de nódulos linfóides e de tecido linfóide difuso no intestino grosso é coincidente com o fato de que nessa região o bolo fecal acumula aumentando a superfície de contato deste com o epitélio, o que poderia desencadear algum tipo de contaminação por patógenos agregados ao alimento ingerido que porventura sobrevivessem à passagem pelos segmentos iniciais do tubo digestivo, podendo haver também a contaminação proveniente do meio externo próximo à região anal.

No presente estudo com as espécies *D. rotundus* e *S. liliium*, foi verificado que no segmento final do intestino grosso, do primeiro animal, há nódulos linfóides isolados e associados além de tecido linfóide difuso; enquanto no segundo animal foi observado no segmento médio, desse mesmo intestino, nódulos linfóides e tecido linfóide difuso e no segmento final visualizou-se também tecido linfóide difuso. No trabalho desenvolvido com os mesmos quirópteros GADELHA-ALVES et al. (2008) relataram a presença de tecido linfóide e agregados de nódulos linfóides tanto no intestino delgado quanto no grosso, enquanto no morcego *M. myotis*, PAKSUZ e PAKSUZ (2015) notificaram um aglomerado de tecido linfóide somente no íleo do intestino delgado.

A lâmina própria da túnica mucosa observada em todos os segmentos do intestino grosso de *D. rotundus* e *S. liliium*, estruturada por tecido conjuntivo frouxo bastante celular e com glândulas intestinais formando invaginações tubulares secretoras, parece ser constante no intestino grosso dos morcegos, conforme mencionado por ISHIKAWA et al. (1985) no estudo anatômico do intestino de *M. frater kaguae*, verificado também nos relatos de GADELHA-ALVES et al. (2008) ao descrever sobre a histomorfologia comparada do intestino de cinco filostomídeos e também nos relatos de PAKSUZ e PAKSUZ (2015) na pesquisa desse segmento intestinal em *M. myotis*.

A estruturação histológica da muscular da mucosa e da túnica submucosa descrita para as espécies listadas no presente estudo, segue o mesmo padrão histológico descrito pelos pesquisadores acima citados.

A descrição da túnica muscular visualizada em *D. rotundus* e *S. liliium* coincide com os relatos feitos pelos autores mencionados anteriormente na descrição das várias espécies de quirópteros estudadas. A disposição da túnica

muscular parece ser constante em mamíferos, conforme o descrito por GARCIA e SILVA (2000) para a paca (*Cuniculus paca*), SHIMODA et al. (2000) para o macaco japonês (*Macaca fuscata*), HELENO et al. (2011) para o cachorro-domato (*Cerdocyon thous*) e MENEZES (2013) para o tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*).

Na região de transição reto-anal, a bicamada de musculatura lisa da túnica muscular, de maneira gradual, modifica-se em uma estrutura única dotada de espessa camada de fibras musculares estriadas esqueléticas, o que pode caracterizar a formação do esfíncter anal. Essa observação não encontra suporte nas descrições sobre a túnica muscular do intestino grosso de outras espécies de morcegos mencionadas neste presente trabalho. Entretanto, no estudo conduzido por MENEZES (2013) sobre o intestino grosso de *M. tridactyla*, esse autor verificou que a túnica muscular modificava-se em uma única estrutura espessada, ainda no reto, um pouco antes da transição reto-anal, conservando porém o padrão de fibras musculares lisas.

A descrição para a túnica serosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso dos quirópteros *D. rotundus* e *S. liliium*, é similar ao verificado para as espécies de morcegos estudadas por ISHIKAWA et al. (1985), GADELHA-ALVES et al. (2008) e PAKSUZ e PAKSUZ (2015).

A maior espessura da túnica mucosa do segmento inicial do intestino grosso de *S. liliium*, possivelmente, é porque nesse segmento, ainda, seja realizada alguma absorção de nutrientes, principalmente, quando se verifica o hábito alimentar frugívoro dessa espécie. Quanto às espessuras das demais túnicas mensuradas no intestino grosso de *D. rotundus* e *S. liliium*, observa-se que não houve expressiva diferença entre essas estruturas intestinais.

A correlação entre as variáveis, peso corporal e as espessuras das túnicas do segmento inicial do intestino grosso de *D. rotundus*, mostrou que em relação às túnicas mucosa e muscular (camadas musculares circular e longitudinal) há proporcionalidade direta, no aumento ou diminuição do peso corporal, com as espessuras dessas túnicas. Entretanto, o mesmo não foi verificado para as túnicas submucosa e serosa.

Ao analisar essas mesmas variáveis para o segmento intestinal médio, a correlação foi de proporção direta entre o peso corporal e as túnicas mucosa, submucosa e para a camada muscular circular da túnica muscular, ou seja, um

maior ou menor peso corporal do quiróptero corresponderia ao aumento ou diminuição dessas túnicas. Em relação ao observado para a camada muscular longitudinal da túnica muscular e o peso corporal, a correlação demonstrou que um possível aumento ou diminuição do peso corporal não corresponderia ao aumento ou diminuição da espessura dessa camada. Já em relação à túnica serosa, a correlação indicou que um aumento ou diminuição do peso corporal, possivelmente, não teria o mesmo resultado direcionado a essa túnica.

Para o segmento final a correlação entre o peso corporal e a espessura da túnica mucosa indicou uma acentuada proporcionalidade inversa, ou seja, um aumento ou diminuição do peso corporal não corresponderia à mesma condição para a espessura dessa túnica. Para a túnica submucosa, camada muscular circular da túnica muscular e túnica serosa, os resultados mostraram uma correlação de proporcionalidade direta muito expressiva entre essas e o peso corporal, ou seja, o aumento ou diminuição do peso corporal levaria ao correspondente aumento das espessuras das túnicas. Já entre a camada muscular longitudinal da túnica muscular e o peso corporal, a correlação indicou que se ocorresse um aumento ou diminuição desse peso não necessariamente haveria um correspondente aumento ou diminuição na espessura dessa camada muscular.

Para o quiróptero *S. liliium* a análise da correlação entre as variáveis peso corporal e espessuras dos constituintes parietais dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso mostrou que foi, conforme os resultados para cada segmento, bastante similar ao encontrado para a espécie *D. rotundus*.

Na verificação da correlação entre as variáveis comprimento do intestino grosso e as espessuras das túnicas constituintes da parede dos segmentos intestinais, os coeficientes encontrados resultaram numa interpretação correlata para aquela verificada nas correlações das variáveis descritas anteriormente, peso corporal e espessura das túnicas. Merece destacar o resultado observado para a correlação entre o comprimento intestinal e a camada muscular longitudinal da túnica muscular do segmento inicial e da túnica submucosa do segmento médio do quiróptero *D. rotundus*, em que para as duas situações a correlação representou o que se denomina de perfeita, ou seja, quando $r=1$.

As correlações entre o comprimento intestinal e as espessuras dos constituintes parietais dos segmentos do intestino grosso da espécie *S. liliium*, mostraram uma interpretação similar à descrita para a outra espécie desse estudo. O fato que se destacou foi na correlação entre o comprimento intestinal e a espessura da camada muscular longitudinal da túnica muscular, interpretada como sendo sem correlação, o que acontece quando $r=0$.

Conforme POLAK et al. (1993) as células endócrinas são classificadas em argirófilas ou argentafins devido reagirem com sais de prata, exceto aquelas que são imunorreativas à somatostatina, insulina e colecistocinina. Estas células encontram-se distribuídas em diferentes órgãos, dentre os quais, órgãos do sistema digestório, respiratório e urinário (RODRIGUES et al., 2005). Na espécie *D. rotundus*, investigada no presente trabalho foram detectadas e quantificadas células argirófilas e argentafins, além de identificadas e também quantificadas células imunorreativas à insulina na túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso. Em várias espécies de morcegos foram relatadas a presença de células enteroendócrinas ao longo do trato digestório, especificamente no estômago, intestinos delgado e grosso (YAMADA et al., 1984; YAMADA et al., 1988; ASHIHARA et al., 1999; KOMORI et al., 2000; SANTOS et al., 2008a; 2008b e 2009).

As células argirófilas e argentafins foram detectadas, em geral, tanto na superfície epitelial quanto na proximidade das glândulas intestinais da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de *D. rotundus*. A localização dessas células coincide com o relatado sobre células endócrinas identificadas no intestino grosso dos quirópteros *A. cinerius* e *S. liliium* (SANTOS et al., 2008b) e também dos morcegos *A. geoffroyi*, *G. soricina* e de *D. rotundus* (SANTOS et al., 2009). Quanto às células imunorreativas à insulina foram detectadas, no presente estudo, somente próximas às glândulas intestinais da túnica mencionada anteriormente.

No segmento inicial do intestino grosso de *D. rotundus*, o número de células endócrinas argentafins detectadas foi, em proporção, maior em relação às outras células endócrinas, sendo que, as células imunorreativas à insulina foram detectadas em menor número. A mesma relação entre as células endócrinas foi verificada nos segmentos intestinais médio e final.

Considerando a proporção do número de cada tipo de célula endócrina em relação aos segmentos intestinais notou-se que as células argirófilas foram, numericamente, decrescentes do segmento inicial ao final. Quanto à proporção da quantidade de células argentafins foi verificado o inverso, ou seja, houve um número crescente dessas células a partir do segmento inicial. Porém, em relação às células imunorreativas à insulina, o resultado foi diferente das observações anteriores. A quantidade dessas células foi, proporcionalmente, maior no segmento final, sequenciado pelo segmento inicial e, por último, no segmento médio.

A correlação entre as variáveis, número de células endócrinas/mm² e a espessura da túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final mostrou que no segmento inicial a espessura da túnica mucosa apresentou uma correlação de magnitude forte positiva em relação às células argirófilas, magnitude moderada positiva para as células argentafins e de magnitude muito forte positiva em relação às células IR à insulina. Essas correlações indicam que um aumento da espessura da túnica mucosa do segmento inicial induz de maneira direta também ao aumento na quantidade dessas células endócrinas estudadas.

Para as variáveis espessura da túnica mucosa do segmento médio e o número de células endócrinas, foi verificada uma correlação de magnitude muito fraca para as células argirófilas, magnitude moderada negativa para as células argentafins e magnitude moderada positiva para as células IR à insulina. Esses resultados sinalizam que um aumento da espessura da túnica mucosa do segmento médio, possivelmente, não levaria ao aumento da quantidade de células argirófilas. Em relação às células argentafins o resultado indica que se ocorresse um aumento da espessura da mencionada túnica, possivelmente, haveria na mesma proporção, uma diminuição na quantidade dessas células. Já entre as variáveis espessura da túnica da mucosa e o número de células IR à insulina a correlação indica que o aumento da espessura dessa túnica poderia induzir também ao aumento da quantidade dessas células.

A correlação entre a espessura da túnica mucosa do segmento final e o número de células endócrinas mostrou uma magnitude forte positiva para as células argirófilas, muito forte positiva para as células argentafins e moderada negativa para as células IR à insulina. Esses resultados indicam que um aumento da espessura da mencionada túnica poderia direcionar ao aumento da

quantidade de células argirófilas e, em relação às células argentafins, poderia haver sem dúvida, o aumento do número dessas células, enquanto para as células IR à insulina poderia haver, na mesma proporção, uma diminuição na quantidade destas.

Conforme KENDZIERSKI et al. (2000) os peptídeos pancreáticos são sintetizados no intestino de mamíferos. Esses autores relataram a detecção de células com imunorreatividade à insulina no epitélio do cólon e em glândulas do intestino grosso de ratos. Na investigação desse tipo celular, RIBEIRO (2009) localizou em gambás pós-púberes e adultos, células IR à insulina no intestino delgado, fato corroborado também por BASILE (2011) para esse mesmo órgão em gambás adultos. No presente estudo, foram identificadas e quantificadas células IR à insulina próximas às glândulas intestinais localizadas na túnica mucosa dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso do mamífero voador *D. rotundus*.

Segundo SILVERTHORN (2010) a atuação da insulina no metabolismo da glicose é amplamente conhecida, além de agir na síntese de glicogênio, evitar a degradação de proteínas em aminoácidos e induzir à síntese de gorduras. A autora relatou, ainda, que na refeição contendo carboidratos, os hormônios incretinas peptídeo insulinoatrópico dependente da glicose que, anteriormente, era denominada peptídeo inibidor gástrico (GIP) e o peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) são liberados por antecipação promovendo a secreção da insulina pelo pâncreas endócrino o que retarda a entrada do quimo no intestino, diminuindo, assim, a motilidade gástrica e a secreção ácida. Ainda, conforme a autora, o aumento da concentração de aminoácidos no plasma também promove a liberação de insulina.

KENDZIERSKI et al. (2000) relataram que a insulina sintetizada no tubo intestinal tem atividade parácrina, que além de outras funções, atua na motilidade intestinal. A atividade parácrina da insulina no intestino também foi registrada por TRACY et al. (2007) ao verificarem que o morcego frugívoro egípcio *Rousettus aegyptiacus* absorve a glicose e outras substâncias análogas, por exemplo a 3-O-metil-D-glicose (3OMD-glicose), de forma passiva mais por via paracelular do que por via transcelular. Também CAVIEDES-VIDAL et al. (2008) ao pesquisarem sobre o intestino de pássaros e dos quirópteros frugívoros *Artibeus lituratus* e *Rousettus aegyptiacus*, relataram que o intestino

desses animais por ser curto e com pouco tecido intestinal, seria compensado com alta permeabilidade facilitando, assim, a absorção passiva de carboidratos por via paracelular. Fato esse confirmado por PRICE et al. (2015) ao realizarem uma revisão de literatura sobre a absorção de 3OMD-glicose e de L-arabinose no intestino delgado de pássaros e morcegos.

FREITAS et al. (2013) relataram que a elevação da concentração de glicose sanguínea e de aminoácidos como a leucina induz à secreção de insulina em muitos mamíferos. Observaram também que os níveis de insulina eram três vezes mais baixos no sangue do quiróptero hematófago *D. rotundus* do que em ratos quando ambos eram alimentados com dieta regular elevada de carboidratos. Verificaram, ainda, que a leucina, um dos aminoácidos presentes na dieta desse morcego, estimulava a secreção de insulina mais do que a presença de glicose. Relataram que esse fato, provavelmente, estava relacionado com a distribuição escassa de células- β nas ilhotas pancreáticas, o que também poderia explicar os baixos níveis séricos de insulina.

Possivelmente, a presença de células IR à insulina detectadas no intestino grosso de *D. rotundus*, estaria, também, relacionada com as atividades fisiológicas de absorção paracelular de glicose e aumento da motilidade intestinal, quando se verificou que a camada muscular circular, interna, da túnica muscular, teve um aumento em espessura no segmento final. Esse segmento, quando comparado ao intestino grosso dos outros quirópteros citados neste presente estudo, correspondeu ao reto. As atividades fisiológicas, anteriormente mencionadas, facilitariam para essa espécie, um metabolismo rápido dos nutrientes advindos da sua dieta hematófaga, proporcionando uma reserva energética suficiente que propiciaria ao quiróptero alçar voo e realizar manobras eficientes.

6. CONCLUSÕES

A disposição anatômica dos segmentos inicial, médio e final do intestino grosso de *D. rotundus* e *S. liliium* descrita no presente estudo, é similar ao relatado, por outros autores, como sendo correspondente ao cólon descendente (segmentos inicial e médio) e ao reto (segmento final) na maioria dos quirópteros.

O padrão histológico dos constituintes parietais do intestino grosso observado nessas espécies é bastante similar, entretanto, a distribuição de nódulos linfoides e de tecido linfoide difuso é diferenciada nos segmentos do intestino grosso, possivelmente, devido ao hábito alimentar distinto.

Houve correlação entre o peso corporal e as espessuras das túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa dos segmentos do intestino grosso dos quirópteros estudados, assim também entre o comprimento desse intestino e as espessuras das túnicas mencionadas.

Não houve diferença significativa na distribuição das células endócrinas argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina na túnica mucosa dos segmentos do intestino grosso de *D. rotundus*. Verificou-se que o número de células argentafins foi, proporcionalmente, maior que as outras células endócrinas.

Quanto às células endócrinas IR à insulina, provavelmente, estejam relacionadas com as atividades fisiológicas de absorção paracelular de nutrientes pelos enterócitos e com o aumento da motilidade intestinal, o que resultaria no rápido metabolismo dos nutrientes e, possivelmente, numa reserva energética propícia para esse quiróptero realizar as manobras adequadas ao voo.

Espera-se com a parte deste estudo sobre as células IR à insulina no intestino grosso de *D. rotundus*, juntamente com as pesquisas que descreveram estas células enteroendócrinas em outras espécies de mamíferos, possa contribuir para estudos relacionados às patologias metabólicas, principalmente, sobre os dois tipos de diabetes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P. N.; MÁLAGA-ALBA, M. Economic losses due to *Desmodus rotundus*. IN: GREENHAL, A. M.; SCHIMIDT, U. (Eds). **Natural history of vampire bats**. Boca Raton: CRC Press. 1988, p. 208-213.
- ALMARAZ, P.C.J. Hormonas gastrointestinales. IN: SACRISTÁN, A.G., MONTIJANO, F.C., Palomino, L.F.C., GALLEGO, J.G., SILANES, M.D.M.L., RUIZ, G.S. **Fisiologia Veterinária**. 1.ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana, 1996. 107p.
- ALTRINGHAM, J.D. **Bats: biology and behavior**. Oxford: Oxford University Press, University of Leeds, 1996. 262p.
- ANTHONY, E.L.P. Age determination in bats. IN: KUNZ, T.H. (Eds). **Ecological and behavioral methods for the study of bats**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1988. P. 47-58.
- ASHIHARA, N., TADDEI, V. A., HONDO, E.; KITAMURA, N., PAI, V. D., CAMPOS, J., CHOLOQ, N., YAMADA, J. An immunohistochemical study of gut endocrine cells in Nectarivorous and Frugi-nectarivorous Phyllostomid Bat (Chiroptera: *Anoura caudifer* and *Carollia perspicilata*). **Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 4, n. 2, p. 125-133, 1999
- BANCROFT, I. D, STEVENS, A. **Theory and Practice of Histological Techniques**. 6. ed. New York: Churchill Livingstone, 2008. 766p.
- BARBOSA, A.J.A., CASTRO, L.P.F.; NOGUEIRA, A.M.F. A simple and economical modification of the Masson-Fontana method for staining melanin granules and enterochromaffin cells. **Stain Technology**, v.59, n.4, p.193-196, 1984.
- BASILE, D. R. S. Morfologia, imunohistoquímica e aspectos ultraestruturais das células imunorreativas à insulina no intestino delgado do gambá *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826) adulto. 2011. 99 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011.
- BERNARD, E. Diet, activity and reproduction of bat species (Mammalia, Chiroptera) in Central Amazonia, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n. 1, p. 173-188, 2002.
- BHIDE, S.A. Observations on the anatomy, histology and histochemistry of the stomach of the vespertilionid bat *Miniopterus schreibersii* (Kuhl). **Proceedings of Indian Academy of Sciences**, v. 88b, p. 1-12, 1979.
- BRETT, A.; ARAÚJO, F.A.A.; CAETANO-Jr; RODRIGUES, M.G.R.; YOSHIKAWA, M.; SILVA, M.M.S. **Morcegos em áreas urbanas e rurais:**

manual de manejo e controle. Brasília: Fundação Nacional da Saúde, Brasília, 1998.

BRUN, A.; PRICE, E.R.; GONTERO-FOURCADE, M.N.; FERNANDEZ-MARINONE, G.; CRUZ-NETO, A.P.; KARASOV, W.H.; CAVIEDES-VIDAL, E. High paracellular nutrient absorption in intact bats is associated with high paracellular permeability in perfused intestinal segments. **The Journal of Experimental Biology**, v.217, p. 3311-3317, 2014.

CARVALHO, C., GONÇALVES, J.F., FRANCO, R., CASAGRANDE, D.K.A., PEDRO, W.A., QUEIROZ, L.H. Caracterização da fauna de morcegos (Mammalia, Chiroptera) e ocorrência de vírus rábico na região noroeste do estado de São Paulo, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n.3, p. 490-503, 2011.

CAVIEDES-VIDAL, E.; McWHORTER, T.J.; LAVIN, S.R.; CHEDIACK, J.G.; TRACY, C.R.; KARASOV, W.H. The digestive adaptation of flying vertebrates: high intestinal paracellular absorption compensates for smaller guts. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 48, p. 19132-19137, 2007.

CAVIEDES-VIDAL, E.; KARASOV, W.H.; CHEDIACK, J.G.; FASULO, V.; CRUZ-NETO, A.P.; OTANI, L. Paracellular absorption: a bat breaks the mammal paradigm. **Issue**, v. 1, p. 1-7, 2008.

DANCEY, C.; REIDY, J. **Estatística sem matemática para Psicologia: usando SPSS para Windows.** Porto Alegre : Ed. Artmed, 2006. 608p.

DEVENEY, C.W., WAY, L.W. Regulatory peptides of gut. IN: GREENSPAN, F.S., FORSHAM, P.H. (Eds.). **Basic and Clinical Endocrinology.** Singapore: Maruzen, 1983. 499p.

EL-DESOUKI, N.I.; MADKOUR, G.; SAYED, A.E.H.H.; ATTIA, W.Y.; EL-REFAIY, A.I. Histological, cytological and histochemical studies on the stomach of two common species of egyptian bats, *Rousettus aegyptiacus* and *Taphozous nudiventris*. **Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)**, v. 2, p. 137-152, 2006.

EVELYN, M.J.; STILES, D.A. Roosting requirements of two frugivorous bats (*Sturnira lilium* and *Artibeus intermedius*) in fragmented neotropical forest. **Biotropica**, v. 35, n.3, p. 405-418, 2003.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JÚNIOR, J. A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 8, n. 1, p. 115-146, 2009.

FORMAN, G.L. Studies of gastric morphology in North American Chiroptera (Emballonuridae, Noctilionidae, and Phyllostomatidae). **Journal of Mammalogy**, v. 54, p. 909-1023, 1973.

FORMAN, G.L. The structure of Peyer's patches and their associated nodules in New World bats in relation to food habits. **Journal of Mammalogy**, v. 55, p. 738-746, 1974.

FORMAN, G.L., PHILLIPS, A.J., ROUK, C.S. Alimentary tract. IN: BAKER, R.J., JONES Jr., J.K., CARTER, D.C., eds. **Biology of bats of the New World Family Phyllostomatidae. Part III.** Special Publications the Museum Texas Technological University 1979. 441p.

FREITAS, M.B.; QUEIROZ, J.F.; DIAS GOMES, C.I.; COLLARES-BUZATO, C.B.; BARBOSA, H.C.; BOSCHERO, A.C.; GONÇALVES, C.A.; PINHEIRO, E.C. Reduced insulin secretion and glucose intolerance are involved in the fasting susceptibility of common vampire bats. **General and Comparative Endocrinology**, v. 183, p. 1-6, 2013.

GADELHA-ALVES, R., ROZENSZTRANCH, A.M.S., ROCHA-BARBOSA, O. Comparative intestinal histomorphology of five species of Phyllostomid Bats (Phyllostomidae, Microchiroptera): ecomorphological relations with alimentary habits. **Internacional Journal of Morphology**, v. 26, n. 3, p. 591-602, 2008.

GANNON, M.R.; WILLIG, M.R.; JONES Jr, J.K. *Sturnira lilium*. **Mammalian Species**, v. 333, p. 1-5, 1989.

GARCIA, G. C.; SILVA, L. S. Aspectos morfológicos e histoquímicos del tubo digestório de la lapa (*Agouti paca*) I. **Histología. Revista Facultad de Ciencias Veterinarias**, Maracay, v. 41, n. 4, p. 131-140, 2000.

GEORGE, L.L., ALVES C.E.R., CASTRO, R.R.L. **Histologia Comparada**. 2. ed., São Paulo: Ed. Roca, 1998. 286p.

GREENHAL, A.M.; JOERMANN, G.; SCHIMIDT, U.; SEIDEL, M.R. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**, v. 2002, p. 1-6, 1983.

GRIMALDI FILHO; G. **Técnica Histológica**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1981. 70p.

GRIMELIUS L.A. Silver nitrate stain for α -cells in human pancreatic islets. **Acta Society Medicine Upsala**, v.73, p. 243-270, 1968.

HELENO, A. R.; SANTOS, L. M.; MIGLINO, M. A.; PERES, J. A.; GUERRA, R. R. Biometria, histologia e morfometria do sistema digestório do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 24, n. 4, p. 111-119, 2011.

HENRIKSON, R.C., KAYE, G.I., MAZURKIEWICZ, J.E. **Histologia**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 533p.

HULLEY, S.B.; CUMMINGS, S.R.; BROWNER, W.S.; GRADY, D.; HEARST, N.; NEWMAN, T.B. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 2 ed., Porto Alegre: Ed. Artmed, 2003. 384 p.

ISHIKAWA, O.K., MATOBA, M., TANAKA, H., ONO, K. Anatomical study of the intestine of the insect feeder bat, *Myotis frater kaguae*. **Journal of Anatomy**, v. 142, p. 141-150, 1985.

JACOBSHAGEN, E. Mittel-und Enddarm. IN: BOLK, L.; GÖPPERT, E.; KALLIUS, E.; LUBOSCH, W. (Eds.). **Anatomie der Wirbeltiere, Dritter Band**. Amsterdam: A. Asher Co., 1967. 563-724.

JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 427p.

KAMIYA, T, PIRLOT, P. Comparative gastric morphology of Old World bats. Part 1. In light microscopy. **Journal Mammals Society Japanese**, v. 6. p 145-154, 1975.

KENDZIERSKI, S. K.; PANSKY, B.; BUDD, G. C.; SAFFRAN, M. Evidence for biosynthesis of preproinsulin in gut of rat. **Endocrine**, v. 13, n. 3, p. 353-359, 2000.

KENT, G.C. **Comparative Anatomy of the Vertebrates**. 4 ed. Saint Louis: The C. V. Mosby Co, 1978. 251 p.

KOMORI, M., TADDEI, A., HONDO, E., KITAMURA, N., PAI, V.D., CHOLIQ, C.N., YAMADA, J. An immunohistochemical study of gut endocrine cells in Piscivorous Bat (Chiroptera: Noctilio leporinus). **Japanese Journal of Zoology and Wildlife Medicine**, v. 5, n. 1, p. 45-54, 2000.

KOOPMAN, K.F. Systematics and distribution. IN: GREENHAL, A.M.; SCHIMIDT, U. (Eds.). **Natural history of vampire bats**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 246 p.

KU, S.K., LEE, H.S., LEE, J.H., PARK, K.D. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the alimentary tract of Red-eared Slider (*Trachemys scripta elegans*). **Anatomy Histology Embryology**, v.30, n.1, p. 33-39, 2001.

KU, S.K., LEE, H.S., LEE, J.H. Immunohistochemical study of gastrointestinal endocrine cells in the alimentary the BALB/c mouse. **Anatomy Histology Embryology**, v.33, n.1, p. 42-48, 2004.

LIM, B.K., PEDRO, W.A., PASSOS, F.C. Differentiation and species status of the Neotropical yellow-eared bats *Vampyressa pusilla* and *V. thyone* (Phyllostomidae) with a molecular phylogeny and review of the genus. **Acta Chiropterologica, Warszawa**, v.5. n. 1. p 15-29, 2003.

MACNAB, B.K. Energetics and the distribution of vampire bats. **Journal of Mammalogy**. v. 31, p. 227-268, 1973.

MADKOUR, G.A. A comparative study of certain features of the alimentary canal and disposition of the viscera in Egyptian bats. **Annals of Zoology (Agra)**, v.13. p. 63-81, 1977.

MAKANYA, A.N.; MAYHEW, T.M.; MAINA, J.N. Stereological methods for estimating the functional surfaces of the chiropteran small intestine. **Journal of Anatomy**, v. 187, p. 361-368, 1995.

MAKANYA, A.N.; MAINA, J.N.; MAYHEW, T.M.; TSCHANZ, S.A.; BURRI, P.H. A stereological comparison of villous and microvillous surfaces in small intestines of frugivorous and entomophagous bats: species, inter-individual and craniocaudal differences. **The Journal of Experimental Biology**, v. 200, p. 2415-2423, 1997.

MENEZES, L. T. Morfologia do tubo digestório do tamanduá bandeira *Myrmecophaga tridactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae). 2013. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2013.

NASCIMENTO, A. A, SALES, A., CARDOSO, T.R.D., PINHEIRO, N.L., MENDES, R.M.M., Immunocytochemical study of the distribution of endocrine cells in the pancreas of the Brazilian sparrow species (*Zonotrichia capensis subtorquata*). **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 4. p. 735-740, 2007.

NOWAK, R. M. **Walkers Mammals of the World**. Baltimore: Johns Hopkins University Press. v.1., 5.ed., 1991. 642p.

OKON, E.E. Functional anatomy of the alimentary canal in the fruit bat, *Eidolon helvum*, and the insect bat *Tadarida nigeriae*. IN: ISHIKAWA, O.K., MATOBA, M., TANAKA, H., ONO, K. Anatomical study of the intestine of the insect feeder bat, *Myotis frater kaguae*. **Journal of Anatomy**, v. 142, p. 141-150, 1985.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 522 p.

PAKSUZ, E.P.; PAKSUZ, S. The morphology of the intestine of the greater mouse-eared bat, *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) **Global Veterinaria**, v. 14, n. 5, p. 686-692, 2015.

PAN, Q.S., FANG, Z.P., HUANG, F.J. Identification, localization and morphology of APUD cells in gastroenteropancreatic system of stomach-containing teleosts. **World Journal of Gastroenterology**, v. 6, n. 6, p. 842-847, 2002.

PASSOS, F.C.; SILVA, W.R.; PEDRO, W.A.; BONIN, M.R. Frugivoria em morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Parque Estadual Intervales, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 511-517, 2003.

POLAK, J.M.; BISHOP, A.E.; BARBOSA, A.J.A.; BLOOM, S.R. Hormônios gastrointestinais. IN: DANI, R.; PAULA CASTRO, L. **Gastroenterologia Clínica**. Rio de Janeiro: Koogan, 1993. P. 1446-1465.

PRICE, E.R.; BRUN, A.; CAVIEDES-VIDAL, E.; KARASOV, W.H. Digestive adaptations of aerial lifestyles. **Physiology**, v. 30, p. 69-78, 2015.

RAWDON, B. B., ANDREW, A. An immunocytochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal tract of chicks at hatching. **Cell and Tissue Research**, v. 220, n. 2, p. 279-292, 1981.

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

REIS, N.R.; FREGONEZI, M.N.; PERACCHI, A.L.; SHIBATTA, O.A. *Morcegos do Brasil: guia de campo*. 1 ed. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 2013. 252 p.

RIBEIRO, G. M. F. Análise histológica e morfométrica de componentes neuroendócrinos do intestino Delgado do gambá *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826. 2009. 69 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2009.

ROBIN, H.A. Recherches anatomiques sur les Mammifères de l'ordre des Chiropteres. IN: GADELHA-ALVES, R., ROZENSZTRANCH, A.M.S., ROCHA-BARBOSA, O. Comparative intestinal histomorphology of five species of Phyllostomid Bats (Phyllostomidae, Microchiroptera): ecomorphological relations with alimentary habits. **Internacional Journal of Morphology**, v. 26, n. 3, p. 591-602, 2008.

RODRIGUES, S.S.; FONSECA, C.C.; NEVES, M.T.D. Células endócrinas do sistema gastroenteropancreático: conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 8, n. 2, p. 171-180, 2005.

SANTOS, G. C. E., ZUCOLOTO, S. Células endócrinas gastrointestinais: um breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia óptica. **Archives of Gastroenterology**, v. 1, n. 33, p. 36-44, 1996.

SANTOS, C. M., NASCIMENTO, A. A., PERACCHI, A. L., SALES, A., MIKALOUSKAS, J. S., GOUVEIA, S. F. Immunocytochemical study of gastrointestinal endocrine cells in insectivorous bats (Mammalia, Chiroptera). **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 3, p. 663-669, 2008a.

SANTOS, C. M., NASCIMENTO, A. A., PERACCHI, A. L., DIAS, D., RIBEIRO, T. P., SALES, A. Comparative immunocytochemical study of endocrine cells in the digestive tract of two frugivorous bats: *Artibeus cinerius* and *Sturnira lilium*. **Acta Histochemica**, vol. 110, p. 134-142, 2008b.

SANTOS, C. M., NASCIMENTO, A. A., PERACCHI, A. L., SALES, A., MIKALOUSKAS, J. S., ROCHA, P.A.; SALES, A. Distributions of the endocrine cells in the gastrointestinal tract of nectarivorous and sanguivorous bats: A comparative immunocytochemical study. **Tissue and Cell**, v. 41. p. 222-229, 2009.

SCHULTZ, W. Studien über den Magen-Darm-Kanal der Chiropteren. **Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie**, v. 171. p. 240-391, 1965.

SCILLITANI, G.; ZIZZA, S.; LIQUORI, G.E.; FERRI, D. Lectin histochemistry of gastrointestinal glycoconjugates in the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum* (Schreber, 1774). **Acta Histochemica**, v. 109, p. 347-357, 2007.

SHIMODA, H.; KUDO, T.; TAKAHASHI, Y.; KATOS, S. Ultrastructural and histochemical characterization of special muscle cells in the monkey small intestine. **Archives of Histology and Cytology**, Berlin, v. 63, n. 3, p. 217-228, 2000.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 5 ed. Porto Alegre: Artemd, 2010. 992p.

SIMMONS, N. B. Order Chiroptera. IN: WILSON, D. E., REEDER, D. M. (Eds). **Mammals Species of the World: a taxonomic and geographic reference**. 3.ed., v.1. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p.312-529, 2005.

STERNBERGER, L. A. **Immunocytochemistry**. New York. Ed. John Wiley & Sons. 1979. 104p.

STROBEL, S.; ROSWAGA, A.; BECKER, N.I.; TRENCZEK, T.E.; ENCARNAÇÃO, J.A. Insectivorous bats digest chitin in the stomach using acid mammalian chitinase. **Issue**, v. 8, n. 9, p. 1-6, 2013.

TAVARES, V., GREGORIN, R., PERACCHI, A. L. Diversidade de morcegos no Brasil: lista atualizada com comentários sobre distribuição e taxonomia. IN: **Morcegos no Brasil: Biologia, Sistemática, Ecologia e Conservação**. PACHECO, S. M., MARQUES, R. V., ESBÉRARD, C. E. L.(Eds.) Porto Alegre: Armazém Digital, 2008. p. 25-28.

TAVARES, V.; AGUIAR, L.M.; PERINI, F.A.; FALCÃO, F.C.; GREGORIN, R. Bats of the state of Minas Gerais, southeastern Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 1, p. 675-705, 2010.

TORRES, F. D., VALENÇA, C., ANDRADE FILHO, G. V. First record of *Desmodus rotundus* in urban area from the city of Olinda, Pernambuco, Northeastern Brazil: a case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 47.n. 2: p. 107-108, 2005.

TRACY, C.R.; McWHORTER, T.J.; KORINE, C.; WOJCIECHOWSKI, M.S.; PINSHOW, B.; KARASOV, W.H. Absorption of sugars in the Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*): a paradox explained. **The Journal of Experimental Biology**, v. 210, p. 1726-1734, 2007.

UIEDA, W. The common vampire bat in urban environments from southeastern Brazil. **Chiroptera Neotropical**. v. 1. n. 2. p. 22-24, 1995.

UIEDA, W.; HAYASHI, M.M.; GOMES, L.H.; SILVA, M.M.S. Espécies de quirópteros diagnosticados com raiva no Brasil. **Boletim do Instituto Pasteur**, v. 2, n. 1, p. 17-36, 1996.

VIEIRA, M.F.; CARVALHO-OKANO, R.M. Pollination biology of *Mabea fistulifera* (Euphorbiaceae) in Southeastern Brazil. **Biotropica**, v. 28, n. 1, p. 61-68, 1996.

VIZOTTO, L.D.; TADDEI, V.A. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. **Revista da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras São José do Rio Preto – Boletim de Ciências**, v. 1, p. 1-72, 1973.

YAMADA, J., CAMPOS, V. J. M., KITAMURA, N., PACHECO, A. C., YAMASHITA, T., CABAMACHI, U. Immunocytochemical study of gastroenteropancreatic (GEP) endocrine cells in the vampire bat (*Desmodus rotundus*). **Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch**, v. 130, n. 6, p. 845-856, 1984.

YAMADA, J., BAOREN, L., DENG, Z., KITAMURA, N., YAMASHITA, T., PHILLIPS, J. An immunocytochemical study of gut endocrine cells in two species of insectivorous vespertilinid bat (Chiroptera: *Pipistrellus abramus* and *Plecotus auritus sacrimontis*). **Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch**, v. 134, n. 6, p. 79-91, 1988.

APÊNDICE A – Técnica de coloração Hematoxilina-Eosina
Protocolo do Laboratório de Morfofisiologia – DBA/UFV

- 1) Desparafinização
Lâminas com os cortes em estufa (40 °C / 60 min)
Xilol I (15 min)
Xilol II (5 min)
Xilol III (5 min)
- 2) Hidratação
Álcool absoluto (5 min)
Álcool 90% (5 min)
Álcool 80% (5 min)
Álcool 70% (5 min)
Água destilada (10 min)
- 3) Coloração
Hematoxilina (2 min)
Lavar em água corrente rapidamente
Eosina (1 min)
Lavar em água corrente rapidamente
- 4) Desidratação
Álcool 70% (30 s)
Álcool 80% (30 s)
Álcool 90% (30 s)
Álcool absoluto (5 min)
- 5) Diafanização
Xilol I (5 min)
Xilol II (5 min)
Xilol III (5 min)
- 6) Montagem

APÊNDICE B – Técnica de Grimelius (detectar células argirófilas)
Protocolo do Laboratório de Biologia Estrutural – DBG/UFV

- 1) Solução incubadora (utilizar béquer com agitador magnético)
Dissolver 80 mg de AgNO_3 em 90 mL de água destilada
Adicionar 10 mL de tampão acetato de sódio pH 5,6 – 0,02 M

OBS: Se o estoque de tampão for 0,2 M fazer a diluição:
1 mL de tampão em 9 mL de água destilada

- 2) Solução reveladora (utilizar béquer com agitador magnético)
Dissolver 1 g de hidroquinona e 5 g de sulfito de sódio anidro em 100 mL de água destilada

OBS: Deixar as duas cubas contendo as soluções enroladas em papel alumínio

- 3) Desparafinizar e hidratar as lâminas com os cortes
- 4) Colocar a cuba contendo a solução reveladora e a cuba da solução incubadora com as lâminas no banho-maria por 60 °C / 3 h (enroladas em papel alumínio)
- 5) Colocar as lâminas na solução reveladora por 50 s
- 6) Interromper a revelação lavando com água destilada
- 7) Desidratar e montar (permanecer com as lâminas no álcool absoluto e passar rapidamente pelo álcool-xilol)

APÊNDICE C – Técnica de Masson-Fontana (detectar células argentafins)
Protocolo do Laboratório de Biologia Estrutural – DBG/UFV

- 1) Solução A (utilizar béquer com agitador magnético)
Dissolver 1 g de AgNO_3 em 200 mL de água destilada
Adicionar de 18 a 20 gotas [com pipeta de Pasteur] de hidróxido de amônio (até ficar na cor de palha bem clara)
- 2) Filtrar a solução
Cobrir o béquer com papel alumínio após a filtração
- 3) Solução B (utilizar béquer com agitador magnético)
Dissolver 5 g de tiosulfato de sódio em 200 mL de água destilada
Tampar o béquer com papel alumínio
- 4) Desparafinizar e hidratar as lâminas com os cortes
- 5) Colocar as lâminas na solução A em estufa a 60 °C / 2 h (cuba enrolada em papel alumínio)
- 6) Lavar em água destilada, rapidamente
- 7) Passar pela solução B por 40 s
- 8) Lavar em água destilada, rapidamente
- 9) Desidratar e montar (permanecer com as lâminas no álcool absoluto e passar rapidamente pelo álcool-xilol)

APÊNDICE D – Técnica de Imunohistoquímica
Protocolo do Laboratório de Biologia e Controle de
Hematozoários e Vetores – BIOAGRO/UFV

- 1) Desparafinizar, hidratar e inibir a peroxidase endógena
Xilol – 2 vezes / 1 h (cada)
Álcool absoluto – 2 vezes / 5 min (cada)
Peróxido de hidrogênio 30 V mais metanol 3% - 30 min (enrolar cuba com lâminas em papel alumínio e colocar em chapa agitadora)
Álcool 96% - 2 vezes / 5 min (cada)
Álcool 70% - 1 vez / 5 min
PBS (solução de tampão fosfato) – 2 vezes / 5 min (cada)
- 2) Recuperação antigênica (utilizar micro-ondas)
Colocar as lâminas em tampão citrato pH 6 – 2 vezes / 5 min (na 2ª vez completar com água destilada)
Potência de 750 W e após deixar em temperatura ambiente
Mergulhar as lâminas em recipiente com PBS a 5%
- 3) Bloqueio de uniões inespecíficas
Secar as lâminas em papel toalha
Incubar as lâminas em câmara úmida com BSA (soro albumina bovino) a 1% por 30 min (se for possível deixar em estufa a 37 °C)
- 4) Incubação com anticorpo primário
Escorrer e secar as lâminas
Pingar o anticorpo primário monoclonal ou policlonal pronto para uso com a diluição específica
Para controle negativo trocar o anticorpo por PBS ou soro normal de rato ou cabra
Incubar em câmara úmida por 1 h a 37 °C ou por 2 h à temperatura ambiente
Lavar as lâminas com PBS – 3 vezes / 5 min (cada)
Escorrer e secar as lâminas
- 5) Incubação com anticorpo secundário
Incubar as lâminas com o anticorpo secundário em câmara úmida por 30 min à temperatura ambiente
Lavar com PBS – 2 vezes / 5 min (cada)
Escorrer e secar as lâminas
Revelar na ausência de luz com DAB (diaminobenzidina) por 1 min
Interromper a reação em água corrente
Lavar com água destilada
Constratar com hematoxilina por 2 min
Lavar em água corrente e água destilada
- 6) Desidratação
Álcool 70% - 5 min
Álcool 96% - 5 min

Álcool 96% - 5 min
Álcool absoluto – 5 min
Xilol – 5 min
Xilol – 5 min

7) Montagem

ANEXO A – Autorização para atividades com finalidade científica

IBAMA/SISBIO nº 36215-1, emitido em 17/10/2012



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 36215-1	Data da Emissão: 17/10/2012 09:20	Data para Revalidação*: 16/11/2013
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Maurício da Aparecida Santana	CPF: 285.305.606-63
Título do Projeto: Histomorfometria Comparativa do Intestino Grosso, Estudos Imunohistoquímicos e Ultraestrutural das Células Imunorreativas à Insulina em Morcegos de Hábitos Alimentares Distintos	
Nome da Instituição: UFV - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA	CNPJ: 25.944.455/0001-96

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de morcegos, aferição de parâmetros morfológicos, revisão bibliográfica	03/2013	12/2013
2	Coloração: HE, PAS, Grimelius, Imunoperoxidase direta, Masson-Fontana modificado	01/2014	04/2014
3	Quantificação de gânglios nervosos, de células argirófilas, argentafins e imunorreativas à insulina	05/2014	07/2014
4	Microscopia eletrônica de transmissão, análise das fotomicrografias e eletronicografias	08/2014	12/2014
5	Análise estatística, revisão bibliográfica	01/2015	02/2015
6	Redação de artigos, qualificação, entrega de tese e defesa	02/2015	08/2015

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Exportação).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	As redes de neblinas deverão ser verificadas de 30 em 30 minutos.
---	---

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	VIÇOSA	MG	Matas do entorno da UFV e do Município de Viçosa-MG	Fora de UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 33719541



Página 1/4

ANEXO B – Autorização para atividades com uso de animais
CEUA/UFV nº 70/2012, emitido em 26/10/2012

CERTIFICADO

A Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA)/UFV certifica que o processo n.º 70/2012, intitulado “*Histomorfometria comparativa do intestino grosso, estudos imunohistoquímicos e ultraestrutural das células imunorreativas à insulina em morcegos de hábitos alimentares distintos*”, coordenado pelo professor Cláudio César Fonseca, do Departamento de Veterinária está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal/Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (COBEA/SBCAL) e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 26/10/12, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 70/2012, named “*Comparative histomorphometry of large intestine, immunohistochemical and ultrastructural studies of insulin immunoreactive cells in different behavior habits bats*” is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA/SBCAL) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Commission on October 26, 2012 approved this process. This certificate expire in 12 months.

Viçosa, 26 de outubro de 2012


Vanner Boere Souza

Comissão de Ética no Uso de Animais da UFV - CEUA