

**CARLOS HENRIQUE DE SOUZA SILVA**

**PLASTICIDADE DIGESTIVA, METABOLISMO ENERGÉTICO E COMPOSIÇÃO  
CORPORAL NO MORCEGO *Anoura caudifer* (PHYLLOSTOMIDAE:  
GLOSSOPHAGINAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Sirlene S. Rodrigues Sartori

Coorientadores: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho  
Mariella B. D. de Freitas  
Reggiani Vilela Gonçalves  
Clovis Andrade Neves  
Guilherme S. T. Garbino

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586p  
2022  
Silva, Carlos Henrique de Souza, 1994-  
Plasticidade digestiva, metabolismo energético e  
composição corporal no morcego *Anoura caudifer*  
(Phyllostomidae: Glossophaginae) / Carlos Henrique de Souza  
Silva. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (85 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Animal, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.328>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Chiroptera - Nutrição. 2. Alimentos - Variações sazonais.  
3. Sistema gastrointestinal. 4. Glicogênio hepático. I. Sartori,  
Sirlene Souza Rodrigues, 1981-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Animal. III. Título.

CDD 22. ed. 599.45

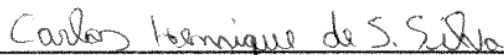
**CARLOS HENRIQUE DE SOUZA SILVA**

**PLASTICIDADE DIGESTIVA, METABOLISMO ENERGÉTICO E COMPOSIÇÃO  
CORPORAL NO MORCEGO *Anoura caudifer* (PHYLLOSTOMIDAE:  
GLOSSOPHAGINAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

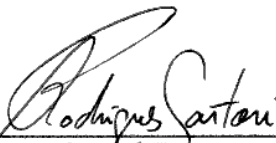
APROVADA: 25 de fevereiro de 2022

Assentimento:



---

Carlos Henrique de Souza Silva  
Autor



---

Sirlene Souza Rodrigues Sartori  
Orientadora

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa - UFV, por proporcionar a oportunidade e experiência de fazer parte dessa respeitada e reconhecida instituição;

Ao programa de pós-graduação em Biologia Animal, pela infraestrutura e oportunidade dada para contribuir para a sua evolução no campo da pesquisa;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, indispensável para o desenvolvimento da minha pesquisa e custo de vida na cidade de Viçosa;

À minha orientadora professora Sirlene Souza Rodrigues Sartori, pela admirável solicitude e confiança depositada nas minhas capacidades, quanto a execução da pesquisa. Por todos os ensinamentos, amizade, consideração e compreensão, nos momentos de dificuldades e incertezas;

Ao professor Oswaldo Pinto Ribeiro Filho, pelo imenso e valioso auxílio no desenvolvimento e conclusão da minha pesquisa, além de contribuições para a minha formação como profissional pesquisador;

À professora Danielle Barbosa Morais, por toda a amizade e contribuição, desde a graduação ao mestrado; por todo aprendizado e oportunidades proporcionados ao longo da minha formação e a participação como membro da banca avaliadora da minha defesa;

À professora Mariella Bontempo Duca de Freitas e ao Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros, juntamente com a sua equipe, que contribuíram para a realização das coletas e execução dos métodos de análise de metabolismo energético;

Ao professor Guilherme Siniciato Terra Garbino e sua equipe, pela colaboração na identificação e coleta dos animais estudados;

Ao Departamento de Zootecnia da UFV e o Laboratório de Nutrição Animal, onde foi possível realizar as análises de proteína e gordura dos animais estudados;

A todos os amigos, colegas e familiares que fazem e fizeram parte da minha trajetória e contribuíram, direta e indiretamente, para a minha evolução como pesquisador e pessoa;

A meu pai e minha mãe, a quem eu devo todo apoio incondicional, carinho e esforços dedicados à minha formação e confiança nas minhas capacidades;

A mim, pela resiliência, paciência e dedicação que permitiram o desenvolvimento e a conclusão desta pesquisa;

A Deus e forças superiores que conspiraram a favor da minha chegada à essa etapa conclusiva e da realização de toda a minha formação como mestre em Biologia Animal.

## RESUMO

SILVA, Carlos Henrique de S., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Plasticidade digestiva, metabolismo energético e composição corporal no morcego *Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae)**. Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Mariella Bontempo Duca de Freitas, Oswaldo Pinto Ribeiro Filho, Reggiani Vilela Gonçalves, Clovis Andrade Neves e Guilherme Siniciato Terra Garbino.

Variações na dieta, volume e qualidade do alimento, podem provocar alterações no trato gastrointestinal, além de influenciarem nas reservas de glicogênio e deposição de gordura corporal. O morcego nectarívoro *Anoura caudifer* tem a capacidade de mudar sua dieta, em diferentes estações do ano, para outros recursos alimentares, podendo produzir respostas morfológicas e fisiológicas a essas variações. Considerando isto, o objetivo deste trabalho foi investigar como a mudança de dieta provoca alterações na morfologia intestinal e nos teores de reservas energéticas e de proteínas nessa espécie. Para isso, foram analisados parâmetros corporais, índices hepatossomático, lipossomático e viscerossomático, conteúdo gastrointestinal, morfologia, histoquímica e morfometria dos intestinos delgado (ID) e grosso (IG), teores de glicose, glicogênio muscular e hepático, proteínas, gordura, e matéria seca em machos e fêmeas, entre as estações chuvosa e seca. Na estação chuvosa, *A. caudifer* consumiu insetos e fibras vegetais, as vilosidades foram frequentemente digitiformes e de menor altura (815,71  $\mu\text{m}$ ) e o IG apresentou pregas circulares; na estação seca, a escassez de alimento restringiu esta espécie ao consumo de pólen, poucas fibras vegetais e possivelmente néctar; houve maior altura da mucosa, maior altura e variação na forma das vilosidades (1.080,32  $\mu\text{m}$ ) e IG sem pregas circulares. Os teores de glicose e glicogênio e o índice hepatossomático foram significativamente maiores na estação chuvosa. Comparando os gêneros, presença de gordura corpórea foi encontrado somente nas fêmeas na estação chuvosa e o teor de proteína bruta corpórea foi maior nas fêmeas em ambas as estações. A mucosa do ID foi ajustada para acomodar um maior volume de alimento no período chuvoso, e as pregas circulares do IG podem ter otimizado o maior volume de alimento digerido e de massa fecal, indicando que essa espécie encontra condições alimentares favoráveis nesse período. Na estação seca, a mucosa do ID se desenvolveu para compensar a menor quantidade disponível de alimento. A alta taxa glicêmica e de reserva glicídica,

refletindo no índice hepatossomático, é condizente com a maior disponibilidade de alimento na estação chuvosa. Em relação aos teores de proteína bruta e gordura, a diferença entre machos e fêmeas certamente se relaciona com aspectos reprodutivos, com maior demanda energética nas fêmeas para a reprodução. Deste modo, a sazonalidade de recursos alimentares provoca ajustes na morfologia intestinal, o que se adequa à sincronização reprodutiva para a estação mais favorável, onde as reservas de glicogênio, gordura e proteína corporais garantem um melhor desempenho e sobrevivência dessa espécie.

Palavras-chave: Sazonalidade. Dieta. Trato Gastrointestinal. Glicogênio Hepático. Chiroptera.

## ABSTRACT

SILVA, Carlos Henrique de S., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Digestive plasticity, energy metabolism and body composition in the bat *Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae)**. Advisor: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisors: Mariella Bontempo Duca de Freitas, Oswaldo Pinto Ribeiro Filho, Reggiani Vilela Gonçalves, Clovis Andrade Neves and Guilherme Siniciato Terra Garbino.

Variations in diet, volume and quality of food can cause changes in the gastrointestinal tract, in addition to influencing glycogen reserves and body fat deposition. The nectar-feeding bat *Anoura caudifer* can change its diet at different seasons of the year to other food resources, and it is able to produce morphological and physiological responses to these variations. Considering this, the objective of this work was to investigate how the change in diet causes alterations in intestinal morphology and in the levels of energy and protein reserves in this species. For this, body parameters, hepatosomatic, liposomatic and viscerosomatic indices, gastrointestinal content, morphology, histochemistry and morphometry of the small (SI) and large (LI) intestines, glucose, muscle and liver glycogen, protein, fat, and dry matter in males and females, between the rainy and dry seasons. In the rainy season, *A. caudifer* consumed insects and plant fibers, the villi were often digitiform and had shorter height (815.71  $\mu\text{m}$ ) and the LI presented circular folds; in the dry season, the scarcity of food restricted this species to the consumption of pollen, few vegetable fibers and possibly nectar; there was greater mucosal height, greater height, and variation in the shape of the villi (1,080.32  $\mu\text{m}$ ) and LI without circular folds. The glucose and glycogen contents and the hepatosomatic index were significantly higher in the rainy season. Comparing the genders, the presence of body fat was found only in females in the rainy season and the body crude protein content was higher in females in both seasons. The SI mucosa was adjusted to accommodate a greater volume of food in the rainy season, and the circular folds of the LI may have optimized the greater volume of digested food and fecal mass, indicating that this species finds favorable food conditions in this period. In the dry season, the SI mucosa developed to compensate for the lesser amount of food available. The high glycemic rate and glucose reserve, reflecting on the hepatosomatic index, is consistent with the greater availability of food in the rainy season. Regarding crude protein and fat contents, the difference between males and females is certainly

related to reproductive aspects, with greater energy demand in females for reproduction. In this way, the seasonality of food resources causes adjustments in the intestinal morphology, which suits the reproductive synchronization for the most favorable season, where the body's glycogen, fat and protein reserves guarantee a better performance and survival of this species.

Keywords: Seasonality. Diet. Villi. Liver Glycogen. Chiroptera.

## SUMÁRIO

REVISÃO DE LITERATURA .....	10
1. BIOLOGIA DOS CHIROPTERA E A DIVERSIDADE ALIMENTAR .....	10
2. A PLASTICIDADE FENOTÍPICA .....	12
2.2. A plasticidade no trato digestório .....	13
3. FLEXIBILIDADE DO METABOLISMO ENERGÉTICO E COMPOSIÇÃO CORPORAL NOS MORCEGOS .....	16
4. BIOLOGIA E ECOLOGIA DO MORCEGO-FOCINHUDO ( <i>Anoura caudifer</i> ) ....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	20
ARTIGO 1 “PLASTICIDADE MORFOLÓGICA DO TRATO DIGESTIVO DO MORCEGO-FOCINHUDO <i>ANOURA CAUDIFER</i> COMO RESPOSTA À SAZONALIDADE ALIMENTAR ” .....	31
1. INTRODUÇÃO.....	32
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	33
3. RESULTADOS .....	36
4. DISCUSSÃO.....	45
5. CONCLUSÕES.....	54
6. REFERÊNCIAS .....	56
ARTIGO 2 “EFEITOS DA SAZONALIDADE NO METABOLISMO E NO ESTADO NUTRICIONAL E ENERGÉTICO DO MORCEGO NECTARÍVORO <i>ANOURA CAUDIFER</i> (CHIROPTERA: PHYLLOSTOMIDAE)” .....	63
1. INTRODUÇÃO.....	64
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	65
3. RESULTADOS .....	68
4. DISCUSSÃO.....	72
5. CONCLUSÕES.....	76
6. REFERÊNCIAS .....	77
ANEXOS .....	81

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. BIOLOGIA DOS CHIROPTERA E A DIVERSIDADE ALIMENTAR

A origem dos morcegos é atribuída ao limite Cretáceo-Paleogênico (K-Pg), com uma rápida radiação no Eoceno, há aproximadamente 65 milhões de anos (Teeling et al., 2005; O'Leary et al., 2013; Tsagkogeorga et al., 2013). Tradicionalmente, o grupo Chiroptera tem sido classificado em Microchiroptera e Megachiroptera, com base em suas características morfológicas, no entanto, dados de filogenia molecular sugerem a divisão em Yinpterochiroptera e Yangochiroptera, sendo a primeira representada pela superfamília de morcegos ecolocalizadores Rhinolophoidea como grupo irmão da família Pteropodidae, a qual não fazem ecolocalização laringeal; a segunda subordem inclui todas as outras famílias que utilizam esse tipo de orientação baseada na emissão de ultrassons (Teeling et al., 2005; Wang et al., 2017; Amador et al., 2018).

Dentro da ordem Chiroptera, ocorreu uma grande diversificação de espécies, originando a segunda maior ordem entre os mamíferos; em torno de 1.400 espécies, distribuídas em todos os continentes, com exceção da Antártica (Gunnell e Simmons, 2005; Venditti et al., 2011; Simmons e Cirranello, 2018). São animais facilmente reconhecíveis por sua capacidade de realizarem voo verdadeiro e a grande maioria das espécies utilizam a ecolocalização para obter informações do ambiente (Arita e Fenton, 1997; Fenton et al., 2012).

Os morcegos insetívoros possuem importância indispensável para a manutenção dos ecossistemas, atuando como controladores de populações de insetos, inclusive pragas agrícolas, e a perda dessas espécies de morcegos resultaria em um impacto na agricultura (Boyles et al., 2011). Os morcegos nectarívoros polinizam cerca de 528 espécies de plantas (Fleming e Muchhala, 2008; Fleming et al., 2009), e a extinção desses animais também prejudicaria a reprodução e o comércio de muitas plantas (Ratto et al., 2018). Morcegos frugívoros contribuem para a dispersão de sementes de plantas, o que favorece a regeneração de florestas (Muscarella e Fleming, 2007). Na saúde pública, esses animais têm importância por serem vetores de zoonoses e reservatórios naturais de muitos vírus (Olival et al., 2017); como coronavírus, Ebola, Marburg, Nipah, Hendra e o vírus da raiva, os quais

podem ser transmitidos e causar infecções em humanos e animais (Mishra et al., 2019; Wang e Anderson, 2019).

O cenário evolutivo em que os morcegos sofreram sua maior irradiação, com muitos nichos a serem ocupados, permitiu a sua diversificação alimentar. Embora os morcegos do Velho Mundo e Novo Mundo possuam dietas herbívora e insetívora, respectivamente, considera-se que a dieta do ancestral comum dessas duas linhagens era baseada em insetos (Heller e Volleth, 1995; Ferrarezzi e Gimenez, 1996). Muitas espécies divergiram para outros recursos alimentares, como néctar e pólen, frutos, sementes, folhas, pequenos vertebrados e sangue (Freeman, 2000; van Cakenberghe et al., 2002; Nogueira et al., 2005; Duque-Márquez et al., 2019).

Apesar de existirem espécies restritas a dietas específicas, como sangue e néctar, muitas espécies escolhem explorar recursos alternativos em épocas de escassez do alimento principal ou como complemento nutricional (Herrera et al., 2001; Sánchez et al., 2012). Esse comportamento é observado em morcegos frugívoros, que podem consumir insetos e até folhas, principalmente por serem ricas fontes de cálcio, proteínas e água (Nelson et al., 2005; Duque-Márquez et al., 2019; Gnocchi et al., 2019). Os nectarívoros também apresentam certa flexibilidade na dieta e podem ingerir insetos, frutos ou pólen como fonte de proteínas (Soto-Centeno e Kurta, 2006; Barros et al., 2013). A ingestão de insetos por morcegos nectarívoros pode ser encarada tanto como uma forma de complementar a dieta com proteínas, como uma forma oportunística de comer insetos presentes nas flores (Howell, 1974).

A disponibilidade e abundância de frutos e insetos específicos, ou a qualidade e concentração de açúcares do néctar, exercem um papel importante sobre o tipo de alimento preferido a ser consumido, o que vai refletir na amplitude de recursos consumidos entre diferentes estações do ano e gerar diferentes respostas como a mudança comportamental no forrageamento para manter o ganho de energia constante (Ayala-Berdon et al., 2009; Sánchez et al., 2012; Salinas-Ramos et al., 2015).

A dieta consumida pode ser determinada por meio da análise fecal, conteúdo gastrointestinal, observação do comportamento alimentar e determinação de taxas de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio incorporados nos tecidos corporais, (Dalerum e Angerbjörn, 2005; Painter et al., 2009) como exemplo, no morcego *Artibeus lituratus* a taxa de isótopos estáveis revelou maior consumo de insetos no

verão, em fragmentos de florestas, do que em florestas contínuas durante o ano, com maior consumo de frutas (Muñoz-Lazo et al., 2019).

Assim, por de diferentes técnicas, alguns trabalhos têm relatado mudanças sazonais na dieta de espécies de morcegos, como é o caso de *Antrozous pallidus*, que altera sua dieta de insetos para néctar no período de inverno; *Anoura geoffroyi*, que se alimenta de néctar, pólen e insetos em proporções distintas em diferentes estações do ano; e *Carollia perspicillata*, que muda sazonalmente a sua dieta quando a abundância de frutos de pimenta-de-macaco (*Piper*) é menor (Mello et al., 2004; Frick et al., 2014). Embora essas espécies possuam um recurso alimentar principal, e dispõem de aspectos morfofisiológicos para explorá-lo, a variação na dieta com inclusão de outros itens alimentares representa uma vantagem adaptativa, sobretudo diante de um ambiente instável (Muchhala e Jarrín-V, 2002).

Ainda, a mudança de dieta pode estar relacionada com o período reprodutivo, sincronizada com o período de frutificação das plantas e abundância de insetos, a fim de garantir um aporte mais adequado de nutrientes (Orr et al., 2016).

## 2. A PLASTICIDADE FENOTÍPICA

Condições estressantes do ambiente que envolve a vida animal, sejam bióticas ou abióticas, podem induzi-los a expressarem diferentes fenótipos, seja na morfologia, fisiologia ou comportamentos, como forma de ajuste para garantir a sobrevivência (Agrawal, 2001; Chevin et al., 2010).

A capacidade de produção de dois ou mais fenótipos a partir de um único genótipo, sob pressão de diferentes condições ambientais, é definida como plasticidade fenotípica (West-Eberhard, 1989; Garland e Kelly, 2006). Os indivíduos que desenvolvem respostas plásticas podem ter uma capacidade adaptativa melhor do que aqueles que não as desenvolvem (Price et al., 2003), e as mudanças a níveis individual e populacional podem levar a profundos efeitos na seleção natural (Fordyce, 2006).

Diversos fatores estressantes, como alterações na temperatura, salinidade, no fotoperíodo, pH e nos recursos alimentares, seja pela sazonalidade ou outros fatores, além das mudanças climáticas, tornam-se desafios para a sobrevivência dos animais, mas também podem induzi-los à tolerância por meio da produção de fenótipos vantajosos (Nijhout, 2003; Hoffmann e Sgrò, 2011). Por outro lado, a capacidade de

um genótipo plástico exibir fenótipos alternativos pode ser restringida pelos custos de manutenção energética e mudanças morfofisiológicas, além de custos genéticos tendo em vista efeitos pleiotrópicos e epistáticos (DeWitt et al., 1998; Fusco e Minelli, 2010).

O desenvolvimento do genótipo plástico pode resultar em caráter adaptativo, o qual implementa a função de um determinado traço e a adaptabilidade do organismo (Nunney e Cheung, 1997; Fusco e Minelli, 2010). Entretanto, a resposta plástica pode ser não-adaptativa, ou seja, não confere vantagens para a sobrevivência do indivíduo (Ghalambor et al., 2007). Esse fenômeno tem sido investigado mais intensivamente nas últimas décadas, e em diversas espécies de animais, dada sua importância para o entendimento dos processos evolutivos e ecológicos, como no ciclo de vida e desenvolvimento em borboletas, na termorregulação em aves e répteis, morfologia digestiva e forma corporal em peixes e a flexibilidade metabólica em mamíferos (Hegrenes, 2001; van Dyck e Wiklund, 2002; Franssen et al., 2013; van Breukelen e Martin, 2015; Caldwell et al., 2017; Ruuskanen et al., 2021).

## **2.2. A plasticidade no trato digestório**

Ao longo da evolução, a seleção natural resultou em diferentes hábitos alimentares entre os animais. Muitas espécies evoluíram adaptações específicas para explorar, com eficiência, uma gama limitada de recursos, outras tornaram-se generalistas, consumindo alimentos diversos, mas com baixo grau de especialização (Lavery e Plowright, 1988). Algumas espécies alcançaram graus diferentes de flexibilidade, podendo forragear de acordo com a sazonalidade e a quantidade ou qualidade dos alimentos, como a presença de toxinas, fibras e outros conteúdos nutricionais (Singer e Bernays, 2003; Pillans et al., 2004; Zhao e Wang, 2007; Melin et al., 2014). A flexibilidade do trato digestório pode afetar fatores como a digestibilidade e eficiência de assimilação energética (Minter et al., 2020).

Assim, as estruturas e funções do aparelho digestório, a exemplo da expressão de enzimas e transportadores e do tempo de retenção do alimento, são alvos de ajustes, que podem ser provocados por variações da dieta, estado reprodutivo, estratégias de alimentação, hibernação ou períodos de jejum (O'Brien et al., 1989; Carey e Cooke, 1991; Johnson et al., 2001; Karasov et al., 2011). Diferenças sazonais com aumentos na massa do estômago e comprimento dos intestinos já foram

observadas em vários vertebrados, como no anuro *Cyclorana alboguttata*, após estivação; em serpentes do gênero *Python*, após voltar a ingerir alimentos; e no roedor *Apodemus chevrieri*, no verão (Cramp e Franklin, 2005; Ott e Secor, 2007; Wan-Long et al., 2012).

Alguns trabalhos relatam diferenças no tamanho e peso do intestino delgado entre estações do ano, evidenciando a relação entre a flexibilidade fenotípica do intestino e temperatura, e qualidade e quantidade do alimento. Por exemplo, foi observado aumento do comprimento intestinal em gerbivos (*Meriones unguiculatus*) no inverno (Liu et al., 2013). No marsupial *Dromiciops gliroides*, o tipo de alimentação influenciou a massa e o tamanho do intestino delgado, com aumento nesse órgão em indivíduos alimentados com insetos, o que não ocorreu com a dieta à base de frutas (Cortés et al., 2011).

As massas fresca e seca, que são as medidas de biomassa dos órgãos digestivos, também sofrem oscilações, como no lagarto *Sauromalus obesus* e na ave *Zonotrichia capensis*, em que a massa fresca é maior no verão (Tracy e Diamond, 2005; Ramirez-Otarola et al., 2018). Já o conteúdo aquoso, principalmente da mucosa intestinal, sofre alterações conforme a taxa de ingestão de alimentos, podendo refletir aclimações a temperaturas diferentes e níveis de disponibilidade de recursos (Hammond e Diamond, 1992).

Mudanças na área de superfície da mucosa e na altura e densidade de vilosidades foram relatados no esquilo *Spermophilus tridecemlineatus*, relacionadas aos seus períodos ativo e de hibernação (Carey, 1990). Em ratos, a atrofia da mucosa intestinal, com redução do tamanho de vilosidades e criptas, bem como da massa intestinal total, foram relacionadas ao jejum prolongado (Dunel-Erb et al., 2001; Hbold et al., 2004). No pardal-montês (*Passer montanus*), a altura das vilosidades e profundidade das criptas duodenais foram superiores no inverno, e no verão sofreram atrofia, no entanto, a espessura das camadas musculares permaneceram estáveis (Lv et al., 2014).

A área de superfície nominal do ceco sofreu aumento no roedor *Microcavia australis*, devido a um maior consumo de fibra na estação seca (Sassi et al., 2007). No roedor subterrâneo *Ctenomys talarum*, o consumo de fibra no outono resultou na expansão do ceco, aumentando a capacidade de fermentação desse material alimentar (del Valle e Mañanes, 2011). A dilatação do cólon foi observada em saguis *Callithrix* sp. na estação seca, quando ocorre uma mudança do regime alimentar

insetívoro para gomívoro nesses animais (Guimarães-Lopes et al., 2020). A mudança de dieta tem um papel fundamental no intestino grosso; uma ingestão de fibras requer uma maior atividade microbiana e, para que ocorra a fermentação, determinadas porções intestinais podem sofrer dilatações, como é o caso do ceco e do cólon (Scott et al., 2008).

Nos morcegos, a morfologia corporal foi modificada principalmente em função do voo e ecolocalização (Arévalo et al., 2020). Diversas espécies se especializaram em diferentes dietas para a obtenção de energia, e os animais tiveram que se ajustar à menor complexidade estrutural e menor área de superfície intestinal disponível (Caviedes-Vidal et al., 2008). Diversos autores investigaram a morfologia do trato gastrointestinal dos morcegos, relatando um padrão geral típico: tubo digestório simples, com comprimento relativamente curto e sem distinções externas entre intestinos delgado e grosso, presença apenas de cólon descendente e ausência de ceco, apêndices, sáculos ou tênias (Park e Hall, 1951; Rouk e Glass, 1970; Ishikawa et al., 1985; Tedman e Hall, 1985; Makanya et al., 2001; Scillitani et al., 2007; Strobel et al., 2015; Aylward et al., 2019; Silva et al., 2020). Segundo Forman (1971; 1973) e Aylward et al. (2019), o estômago dos morcegos possui formas mais variáveis, como triangular, arredondado ou tubular.

Na literatura, é escassa a quantidade de investigações sobre plasticidade digestiva em morcegos, com detalhamento das mudanças estruturais e funcionais no tubo digestivo. Alguns estudos se concentram nas mudanças de massa dos órgãos digestivos em função de atividades de migração, como no morcego insetívoro *Tadarida brasiliensis*, em que as demandas energéticas causaram alterações fenotípicas com aumento na massa intestinal nos períodos de lactação, pré-migração e migração (Sommers et al., 2019). No morcego *Lasiurus cinereus*, os órgãos digestivos sofreram redução em sua massa, como resultado também das demandas energéticas dessa atividade (McGuire et al., 2013).

A hibernação também constitui um fator que provoca mudanças fenotípicas na morfologia digestiva, como já foi descrito para o morcego insetívoro *Myotis myotis*, onde esse mecanismo de sobrevivência acarretou alterações na altura e largura de vilosidades e profundidade das criptas, além de afetar a produção de mucinas ácidas e neutras das células caliciformes dos intestinos delgado e grosso (Paksuz, 2014).

Apesar desses parâmetros notáveis, em que a flexibilidade fenotípica pode ocorrer, e não somente nos órgãos digestivos, outras pressões ambientais como a

sazonalidade alimentar, pode atuar como gatilho para o desenvolvimento de respostas plásticas. No morcego nectarívoro *Glossophaga soricina*, as mudanças estacionais na dieta provocaram alterações consideráveis na morfologia grossa e fina dos órgãos digestivos, com aumento na massa do estômago e volume intestinal, bem como uma área de superfície absorptiva incrementada, no período chuvoso, quando os animais trocaram o néctar por insetos e frutas (Vázquez-Domínguez, 2016). Em outra espécie de nectarívoro, *Glossophaga commissarisi*, a mudança de néctar para frutos não alterou a morfologia digestiva, mas é provável uma flexibilidade nas enzimas digestivas e transportadores de nutrientes (Kelm et al., 2008).

Os constituintes químicos do tipo de dieta, consumida por um animal, influencia consideravelmente as funções do trato digestório, bem como a eficiência digestiva e de manipulação do tipo de alimento, além de revelar a diversidade estrutural e fisiológica encontrada entre os animais (Bjorndal e Bolten, 1993; Karasov et al., 2011).

### **3. FLEXIBILIDADE DO METABOLISMO ENERGÉTICO E COMPOSIÇÃO CORPORAL NOS MORCEGOS**

Todos os organismos vivos dependem da aquisição de energia de moléculas orgânicas ou inorgânicas, necessária para realizar todas as atividades das células. O conjunto de reações químicas que promove a produção, distribuição e utilização dessas moléculas como recurso, constitui o metabolismo energético (Ye e Medzhitov, 2019). Nos animais, a energia é obtida pela quebra de compostos de carbono, processo chamado de catabolismo, e o produto é o armazenamento dessa energia na forma de ATP (Hardier, 2012). A síntese de moléculas corporais e construção de compostos energéticos, como glicogênio e gordura, caracteriza o anabolismo dos processos metabólicos (Ye e Medzhitov, 2019).

O metabolismo energético compreende as fases pós-prandial e de jejum, onde ocorre, respectivamente, síntese e degradação de proteínas, lipídios e carboidratos (Yang et al., 2016). O controle homeostático de energia corporal permite manter as funções orgânicas, como termorregulação, locomoção, processos fisiológicos, crescimento e reprodução (Czenze et al., 2018). Nos animais, esse balanço energético é regulado por interações dinâmicas entre o sistema nervoso autônomo e hormônios, como a insulina e glucagon, relacionados com o controle da glicose, e a leptina, relacionada com o depósito de gordura. Outros hormônios, como a adrenalina

e os glicocorticoides, atuam em conjunto regulando a síntese e degradação das reservas de glicogênio, gordura e proteínas (Yahagi, 2017).

As reservas de glicogênio hepático, por meio da glicogênese, são o resultado do armazenamento da glicose sanguínea, a qual resulta da digestão de alimentos ricos em carboidratos, proteínas e lipídios. Essa reserva é uma importante fonte de energia para os processos vitais do organismo. Nos períodos de jejum, a reserva de glicogênio pode ser quebrada, por glicogenólise, liberando glicose na corrente sanguínea (Stapleton et al., 2010).

Além dos componentes de carboidratos, os constituintes do corpo dos animais podem ser organizados em componentes não-gordurosos, que inclui os conteúdos de proteínas e água, e os gordurosos, que inclui o conteúdo de lipídeos (Demling, 2009).

Lipídeos podem ser armazenados no organismo, na forma de triglicerídeos, no tecido adiposo. Essas reservas são consideradas fontes eficientes de energia disponível para a realização das funções orgânicas, já que a oxidação das gorduras pode suprir energeticamente o corpo por períodos longos de jejum (Bentley, 1998; Gleeson, 2005).

Em morcegos, níveis de glicose, glicogênio e gordura corporal têm sido relacionados com diversos fatores, como a disponibilidade de alimentos e o período reprodutivo. No morcego *Scotophilus heathi*, reservas de gordura variam de acordo com a alimentação, e a reprodução das fêmeas também pode estar diretamente conectada com a deposição de gordura (Srivastava e Krishna, 2008). Morcegos insetívoros e frugívoros, segundo McNab (1976), sofrem diminuição das suas reservas de lipídeos na estação seca, provavelmente devido à escassez de alimento.

Reservas de glicogênio hepático e muscular já foram investigadas no morcego *Molossus molossus*, as quais foram reduzidas no inverno, possivelmente pela diminuição da disponibilidade de alimento nesse período (Araújo, 2010). No morcego *Eidolon helvum*, concentrações de glicogênio hepático variaram ao longo do dia, sendo ajustadas conforme esta espécie se alimentava ou quando estava em jejum, quando utiliza o glicogênio armazenado para liberar glicose na corrente sanguínea (Okon et al., 1978).

#### **4. BIOLOGIA E ECOLOGIA DO MORCEGO-FOCINHUDO (*Anoura caudifer*)**

*Anoura caudifer* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1818) é um morcego nectarívoro da família Phyllostomidae, subfamília Glossophaginae, um dos menores do gênero *Anoura*, com massa corporal variando entre 8,5 e 12 g e comprimento corporal variando entre 52 e 76 mm (Molinari, 1994; Muchhala et al., 2005; Mantilla-Meluk e Baker, 2006; Pacheco et al., 2018). Possui um rostro e língua alongados, folha nasal pequena, trágus curto, uropatágio estreito e uma pelagem quase preta (Somsen, 1997; Oprea et al., 2009).

Essa espécie encontra regiões adequadas em diferentes altitudes, desde o norte dos Andes, com elevação até 2.500 m, até a Mata Atlântica do sudeste brasileiro (Muchhala et al., 2005; Weber e Grelle, 2012). Ela se distribui por Colômbia, Venezuela, Guianas, Peru, Equador, Bolívia e uma rara ocorrência na Argentina, além do Brasil, onde já foi registrada em toda a região sudeste e sul, e também no Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Bahia e na maioria dos estados da região norte (Peracchi et al., 2006).

Cavernas, buracos em árvores, túneis, canos de drenagem, esgotos e construções são os abrigos preferidos dessa espécie de morcego (Somsen, 1997; Barquez et al., 1999). Embora seja um morcego que utiliza néctar como recurso principal, pode também consumir pólen, insetos ou frutos de forma complementar ou oportunista, como relatam Sazima, 1976; Gardner, 1977; Teixeira e Peracchi, 1996; Zortéa, 2003; e Barros et al., 2013. *Anoura caudifer* foi encontrado em plantações de bananeira (*Musa paradisiaca*), onde utiliza o néctar das inflorescências dessa planta (Luz et al., 2015; Pedrozo et al., 2018), porém, também consome néctar, pólen ou frutos de outras plantas como as das famílias Piperaceae, Moraceae, Bromeliaceae, Myrtaceae, Fabaceae, Malvaceae e muitas outras (Barros et al., 2013).

O morcego *A. caudifer* apresenta características morfológicas, da região oral, bem adaptadas para o consumo de néctar, como o rostro e a língua alongados e ausência de incisivos inferiores (Barquez et al., 1999). Ademais, o estômago com formato tubular e intestino extremamente curto são características compartilhadas com outras espécies de *Anoura* (Forman, 1971).

Apesar de existirem poucos estudos com *A. caudifer*, considera-se que a absorção intestinal paracelular seja um processo essencial nos morcegos, onde a glicose pode ser rapidamente absorvida e utilizada como combustível para o voo (Voigt e Speakman, 2007; Brun et al., 2019). Por outro lado, problemas decorrentes de hiperglicemia podem ser superados, nessa espécie, com a ação da insulina, além

do exercício corporal que impede o estabelecimento da condição patológica de uma hiperglicemia crônica (Kelm et al., 2011; Castro et al., 2021).

Alguns aspectos do metabolismo energético já foram investigados em *A. caudifer*, como a taxa metabólica basal, onde vários estudos revelaram altas taxas de metabolismo basal dentre os Glossophaginae (McNab, 1969; Cruz-Neto et al., 2001), o que implica dizer que esta espécie demanda grande quantidade de energia e alto metabolismo para performar as suas atividades fisiológicas (Arends et al., 1995). Helversen e Reyer (1984) observaram a necessidade de 3-4 h de forrageamento, com aproximadamente 800 a 1000 visitas de flores por noite, para poder cumprir as exigências energéticas de *A. caudifer*, considerando a sua alimentação de néctar.

O período reprodutivo de *A. caudifer* é variável e depende do seu local de distribuição e, provavelmente, está relacionado à sazonalidade dos alimentos que explora, dessa forma, parece obedecer a um padrão reprodutivo e de lactação na estação chuvosa, no cerrado brasileiro (Zortéa, 2003; Oprea et al., 2009).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, M. R. **Variação sazonal nos parâmetros metabólicos em morcegos insetívoros machos *Molossus molossus* Pallas, 1766 (Chiroptera: Molossidae)**. Monografia apresentada à Universidade Federal de Juiz de Fora, p. 50, 2010.
- AGRAWAL, A. A. **Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species**. *Science* (New York, N.Y.), v. 294, n. 5541, p. 321–326, 2001.
- AMADOR, L. I.; MOYERS, A. R. L.; ALMEIDA, F. C.; et al. **Bat systematics in the light of unconstrained analyses of a comprehensive molecular supermatrix**. *Journal of mammalian evolution*, vol. 25, no. 1, p. 37–70, 2018.
- ARENDS, A.; BONACCORSO, F. J.; GENOUD, M. **Basal rates of metabolism of nectarivorous bats (Phyllostomidae) from a semiarid thorn forest in Venezuela**. *Journal of Mammalogy*, v. 76, n. 3, p. 947–956, 1995.
- ARÉVALO, F. et al. **Seasonal variations in the lipid composition of white and brown tissues in the bat *Pipistrellus pipistrellus***. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, v. 95, n. 3, p. 535–539, 1990.
- ARITA, H. T.; FENTON, M. B. **Flight and echolocation in the ecology and evolution of bats**. *Trends in ecology & evolution*, v. 12, n. 2, p. 53–58, 1997.
- AYALA-BERDON, J.; SCHONDUBE, J. E.; STONER, K. E. **Seasonal intake responses in the nectar-feeding bat *Glossophaga soricina***. *Journal of comparative physiology b*, v. 179, n. 5, p. 553–562, 2009.
- AYLWARD, M. et al. **A comparative morphological and histological study of the gastrointestinal tract of four insectivorous bat species: *Asellia tridens*, *Chaerephon pumilus*, *Nycteris thebaica*, *Rhinopoma hardwickii***. *Journal of Morphology*, v. 280, n. 8, p. 1106–1117, 2019.
- BARQUEZ, R. M. et al. **The bats of Argentina**. Lubbock, TX, USA: Museum of Texas Tech University, 1999.
- BARROS, M. A. S.; RUI, A. M.; FABIAN, M. E. **Seasonal variation in the diet of the bat *Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae) at the southern limit of its geographic range**. *Acta chiropterologica*, v. 15, n. 1, p. 77–84, 2013.
- BENTLEY, P. J. **Hormones and nutrition**. In: BENTLEY, P. J. (ed.). *Comparative Vertebrate Endocrinology*. University Press, UK, p. 223–268, 1998.
- BJORNDAL, K. A.; BOLTEN, A. B. **Digestive efficiencies in herbivorous and omnivorous freshwater turtles on plant diets: Do herbivores have a nutritional advantage?** *Physiological zoology*, v. 66, n. 3, p. 384–395, 1993.
- BOYLES, J. G.; CRYAN, P. M.; MCCRACKEN, G. F.; et al. **Conservation. Economic importance of bats in agriculture**. *Science* (New York, N.Y.), vol. 332, no. 6025, p. 41–42, 2011.

BRUN, A. et al. **Morphological bases for intestinal paracellular absorption in bats and rodents**. *Journal of morphology*, v. 280, n. 9, p. 1359–1369, 2019.

CALDWELL, A. J.; WHILE, G. M.; WAPSTRA, E. **Plasticity of thermoregulatory behaviour in response to the thermal environment by widespread and alpine reptile species**. *Animal behaviour*, v. 132, p. 217–227, 2017.

CAREY, H. V. **Seasonal changes in mucosal structure and function in ground squirrel intestine**. *The American journal of physiology*, v. 259, n. 2 Pt 2, p. R385-92, 1990.

CAREY, H. V.; COOKE, H. J. **Effect of hibernation and jejunal bypass on mucosal structure and function**. *The American journal of physiology*, v. 261, n. 1 Pt 1, p. G37-44, 1991.

CASTRO, D. L. J. et al. **Insulin and glucose regulation at rest and during flight in a Neotropical nectar-feeding bat**. *Mammalian Biology*, v. 101, n. 6, p. 987-996, 2021.

Caviedes-Vidal, E. et al. **Paracellular absorption: a bat breaks the mammal paradigm**. *PloS one*, v. 3, n. 1, p. e1425, 2008.

CHEVIN, L.-M.; LANDE, R.; MACE, G. M. **Adaptation, plasticity, and extinction in a changing environment: towards a predictive theory**. *PLoS biology*, v. 8, n. 4, p. e1000357, 2010.

CORTÉS, P. A. et al. **Bioenergetics and intestinal phenotypic flexibility in the microbiotherid marsupial (*Dromiciops gliroides*) from the temperate forest in South America**. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, v. 160, n. 2, p. 117–124, 2011.

CRAMP, R. L.; FRANKLIN, C. E. **Arousal and re-feeding rapidly restores digestive tract morphology following aestivation in green-striped burrowing frogs**. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, v. 142, n. 4, p. 451–460, 2005.

CRUZ-NETO, A. P.; GARLAND, T.; ABE, A. S. **Diet, phylogeny, and basal metabolic rate in phyllostomid bats**. *Zoology*, v. 104, n. 1, p. 49-58, 2001.

CZENZE, Z. J. et al. **Spatiotemporal and demographic variation in the diet of New Zealand lesser short-tailed bats (*Mystacina tuberculata*)**. *Ecology and evolution*, v. 8, n. 15, p. 7599–7610, 2018.

DALERUM, F.; ANGERBJÖRN, A. **Resolving temporal variation in vertebrate diets using naturally occurring stable isotopes**. *Oecologia*, v. 144, n. 4, p. 647–658, 2005.

del VALLE, J. C.; MAÑANES, A. A. L. **Digestive flexibility in females of the subterranean rodent *ctenomys talarum* in their natural habitat**. *Journal of*

**experimental zoology.** Part A, Ecological genetics and physiology, v. 315, n. 3, p. 141–148, 2011.

DEMLING, R. H. **Nutrition, anabolism, and the wound healing process: an overview.** Eplasty, v. 9, p. e9, 2009.

DeWITT, T. J.; SIH, A.; WILSON, D. S. **Costs and limits of phenotypic plasticity.** Trends in ecology & evolution, v. 13, n. 2, p. 77–81, 1998.

DUKE, G. E. **Alimentary canal: secretion and digestion, special digestive functions, and absorption.** In: Avian physiology. Springer, New York, NY, 1986. p. 289-302.

DUNEL-ERB, S. et al. **Restoration of the jejunal mucosa in rats refed after prolonged fasting. Comparative biochemistry and physiology.** Part A, Molecular & integrative physiology, v. 129, n. 4, p. 933–947, 2001.

DUQUE-MÁRQUEZ, A. et al. **Bat folivory in numbers: how many, how much, and how long?** Acta chiropterologica, v. 21, n. 1, p. 183–191, 2019.

FENTON, M. B.; FAURE, P. A.; RATCLIFFE, J. M. **Evolution of high duty cycle echolocation in bats.** The journal of experimental biology, v. 215, n. Pt 17, p. 2935–2944, 2012.

FERRAREZZI, H.; GIMENEZ, E. A. **Systematic patterns and the evolution of feeding habits in Chiroptera (Archonta: Mammalia).** Journal of comparative biology, v. 1, n. 3, p. 75–94, 1996.

FLEMING, T. H.; GEISELMAN, C.; KRESS, W. J. **The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective.** Annals of botany, v. 104, n. 6, p. 1017–1043, 2009.

FLEMING, T. H.; MUCHHALA, N. **Nectar-feeding bird and bat niches in two worlds: pantropical comparisons of vertebrate pollination systems.** Journal of Biogeography, v. 35, p. 764–780, 2008.

FORDYCE, J. A. **The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity.** The journal of experimental biology, v. 209, n. Pt 12, p. 2377–2383, 2006.

FORMAN, G. L. **Histochemical differences in gastric mucus of bats.** Journal of Mammalogy, v. 52, n. 1, p. 191-193, 1971.

FRANSSSEN, N. R.; STEWART, L. K.; SCHAEFER, J. F. **Morphological divergence and flow-induced phenotypic plasticity in a native fish from anthropogenically altered stream habitats.** Ecology and evolution, v. 3, n. 14, p. 4648–4657, 2013.

FREEMAN, P. W. **Macroevolution in Microchiroptera: recoupling morphology and ecology with phylogeny.** Evolutionary ecology research, v. 2, p. 317–335, 2000.

FRICK, W. F. et al. **Seasonal reliance on nectar by an insectivorous bat revealed by stable isotopes**. *Oecologia*, v. 174, n. 1, p. 55–65, 2014.

FUSCO, G.; MINELLI, A. **Phenotypic plasticity in development and evolution: facts and concepts**. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, v. 365, n. 1540, p. 547–556, 2010.

GARDNER, A. L. **Feeding habits**. In: BAKER et al. *Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae, Part II*. Texas: Texas Tech University Press. p. 293-300, 1977.

GARLAND, T., JR; KELLY, S. A. **Phenotypic plasticity and experimental evolution**. *The journal of experimental biology*, v. 209, n. Pt 12, p. 2344–2361, 2006.

GHALAMBOR, C. K. et al. **Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments**. *Functional ecology*, v. 21, n. 3, p. 394–407, 2007.

GLEESON, M. **Basic metabolism I: Fat**. The medicine publishing company Ltd, v. 23, n. 3, p. 83-88, 2005.

GNOCCHI, A. P.; HUBER, S.; SRBEK-ARAUJO, A. C. **Diet in a bat assemblage in Atlantic Forest in southeastern Brazil**. *Tropical ecology*, v. 60, n. 3, p. 389–404, 2019.

GUIMARÃES-LOPES, V. de P. et al. **Anatomical parameters of the body and the digestive tract of *Callithrix* sp. marmosets under the influence of seasonality**. *Anatomia, histologia, embryologia*, v. 49, n. 4, p. 511–520, 2020.

GUNNELL, G. F.; SIMMONS, N. B. **Fossil evidence and the origin of bats**. *Journal of mammalian evolution*, v. 12, n. 1–2, p. 209–246, 2005.

HABOLD, C. et al. **Effects of fasting and refeeding on jejunal morphology and cellular activity in rats in relation to depletion of body stores**. *Scandinavian journal of gastroenterology*, v. 39, n. 6, p. 531–539, 2004.

HAMMOND, K. A.; DIAMOND, J. **An experimental test for a ceiling on sustained metabolic rate in lactating mice**. *Physiological zoology*, v. 65, n. 5, p. 952–977, 1992.

HARDIE, D. G. **Organismal carbohydrate and lipid homeostasis**. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, v. 4, n. 5, p. a006031–a006031, 2012.

HEGRENES, S. **Diet-induced phenotypic plasticity of feeding morphology in the orange spotted sunfish, *Lepomis humilis***. *Ecology of freshwater fish*, v. 10, n. 1, p. 35–42, 2001.

HELLER, K. G.; VOLLETH, M. **Community structure and evolution of insectivorous bats in the Palaeotropics and Neotropics**. *Journal of tropical ecology*, v. 11, n. 3, p. 429–442, 1995.

HELVERSEN, O. V.; REYER, H.-U. **Nectar intake and energy expenditure in a flower visiting bat.** *Oecologia*, v. 63, n. 2, p. 178-184, 1984.

HERRERA, M, L. G. et al. **Sources of protein in two species of phytophagous bats in a seasonal dry forest: evidence from stable-isotope analysis.** *Journal of mammalogy*, v. 82, n. 2, p. 352–361, 2001.

HOFFMANN, A. A.; SGRÒ, C. M. **Climate change and evolutionary adaptation.** *Nature*, v. 470, n. 7335, p. 479–485, 2011.

HOWELL, D. J. **Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterophily.** *Comparative biochemistry and physiology part a: physiology*, v. 48, n. 2, p. 263–276, 1974.

JOHNSON, M. S.; THOMSON, S. C.; SPEAKMAN, J. R. **Limits to sustained energy intake. I. Lactation in the laboratory mouse *Mus musculus*.** *The journal of experimental biology*, v. 204, n. Pt 11, p. 1925–1935, 2001.

KARARLI, T. T. **Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals.** *Biopharmaceutics & drug disposition*, v. 16, n. 5, p. 351–380, 1995.

KARASOV, W. H.; MARTÍNEZ DEL RIO, C.; CAVIEDES-VIDAL, E. **Ecological physiology of diet and digestive systems.** *Annual review of physiology*, v. 73, n. 1, p. 69–93, 2011.

KELM, D. H. et al. **Efficiency of facultative frugivory in the nectar-feeding bat *Glossophaga commissarisi*: the quality of fruits as an alternative food source.** *Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology*, v. 178, n. 8, p. 985–996, 2008.

KELM, D. H. et al. **High activity enables life on a high-sugar diet: blood glucose regulation in nectar-feeding bats.** *Proceedings of the Royal Society B*, v. 278, p. 3490–3496, 2011.

LAVERTY, T. M.; PLOWRIGHT, R. C. **Flower handling by bumblebees: a comparison of specialists and generalists.** *Animal behaviour*, v. 36, n. 3, p. 733–740, 1988.

LIU, Q. S. et al. **Seasonal plasticity of gut morphology and small intestinal enzymes in free-living Mongolian gerbils.** *Journal of Comparative Physiology B*, v. 183, n. 4, p. 511–523, 2013.

LUZ, J. L.; COSTA, L. M.; ESBÉRARD, C. E. L. **Variação de recursos alimentares e abundância de morcegos em plantações de banana.** *Oecologia Australis*, v. 19, n. 1, p. 244-260, 2015.

LV, J. et al. **Seasonal plasticity of duodenal morphology and histology in *Passer montanus*.** *Zoomorphology*, v. 133, n. 4, p. 435–443, 2014.

- MAKANYA, A. N. et al. **Gut morphology and morphometry in the epauletted wahlberg's fruit bat (*Epomophorus wahlbergi*, Sundevall, 1846).** Acta Biologica Hungarica, v. 52, n. 1, p. 75-89, 2001.
- MANTILLA-MELUK, H.; BAKER, R. J. **Systematics of small *Anoura* (Chiroptera: Phyllostomidae) from Colombia, with description of a new species.** Occasional papers, Museum of Texas Tech University, n. 261, p. 1–18, 2006.
- MCGUIRE, L. P.; FENTON, M. B.; GUGLIELMO, C. G. **Phenotypic flexibility in migrating bats: seasonal variation in body composition, organ sizes and fatty acid profiles.** Journal of Experimental Biology, v. 216, n. 5, p. 800-808, 2013.
- MCNAB, B. K. **The economics of temperature regulation in neotropical bats.** Comparative biochemistry and physiology, v. 31, n. 2, p. 227-268, 1969.
- MCNAB, B. K. **Seasonal fat reserves of bats in two tropical environments.** Ecology, v. 57, n. 2, p. 332-338, 1976.
- MELIN, A. D. et al. **Seasonality, extractive foraging and the evolution of primate sensorimotor intelligence.** Journal of human evolution, v. 71, p. 77–86, 2014.
- MELLO, M. A. R. et al. **Seasonal variation in the diet of the bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) in an Atlantic Forest area in southeastern Brazil.** Mammalia, v. 68, n. 1, 49–55, 2004.
- MISHRA, N. et al. **A viral metagenomic survey identifies known and novel mammalian viruses in bats from Saudi Arabia.** PloS one, v. 14, n. 4, p. e0214227, 2019.
- MOLINARI, J. **A new species of *Anoura* (Mammalia Chiroptera Phyllostomidae) from the Andes of northern South America.** Tropical Zoology, v. 7, n. 1, p. 73-86, 1994.
- MUCHHALA, N.; JARRÍN-V, P. **Flower visitation by bats in Cloud Forests of Western Ecuador.** Biotropica, v. 34, n. 3, p. 387–395, 2002.
- MUCHHALA, N.; MENA, P., V.; ALBUJA, L., V. **A new species of *Anoura* (Chiroptera: Phyllostomidae) from the Ecuadorian Andes.** Journal of mammalogy, v. 86, n. 3, p. 457–461, 2005.
- MUÑOZ-LAZO, F. J. J. et al. **Trophic niche changes associated with habitat fragmentation in a Neotropical bat species.** Biotropica, v. 51, n. 5, p. 709–718, 2019.
- MUSCARELLA, R.; Fleming, T. H. **The role of frugivorous bats in tropical forest succession.** Biological reviews, v. 82, n. 4, p. 573–590, 2007.

NELSON, S. L.; KUNZ, T. H.; HUMPHREY, S. R. **Folivory in fruit bats: leaves provide a natural source of calcium.** *Journal of chemical ecology*, v. 31, n. 8, p. 1683–1691, 2005.

NIJHOUT, H. F. **Development and evolution of adaptive polyphenisms.** *Evolution & development*, v. 5, n. 1, p. 9–18, 2003.

NOGUEIRA, M. R. et al. **Ecomorphological analysis of the masticatory apparatus in the seed-eating bats, genus *Chiroderma* (Chiroptera: Phyllostomidae).** *Journal of zoology*, v. 266, n. 4, p. 355–364, 2005.

NUNNEY, L.; CHEUNG, W. **The effect of temperature on body size and fecundity in female *Drosophila melanogaster*: Evidence for adaptive plasticity.** *Evolution; international journal of organic evolution*, v. 51, n. 5, p. 1529, 1997.

OKON, E. E.; UMUKORO, R. M.; AJUDA, A. **diurnal variations of the glycogen and fat stores in the liver and breast muscle of the fruit bat, *Eidolon helvum* (Kerr).** *Physiology & Behavior*, v. 20, n. 2, p. 121-123, 1978.

O'LEARY, M. A. et al. **The placental mammal ancestor and the post-K-Pg radiation of placentals.** *Science (New York, N.Y.)*, v. 339, n. 6120, p. 662–667, 2013.

OLIVAL, K. J. et al. **Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals.** *Nature*, v. 546, n. 7660, p. 646-650, 2017.

OPREA, M.; AGULIAR, L.; WILSON, D. E. ***Anoura caudifer* (Chiroptera: Phyllostomidae).** *Mammalian Species*, n. 844, p. 1-8, 2009.

ORR, T. J. et al. **Diet choice in frugivorous bats: gourmets or operational pragmatists?** *Journal of mammalogy*, v. 97, n. 6, p. 1578–1588, 2016.

OTT, B. D.; Secor, S. M. **Adaptive regulation of digestive performance in the genus *Python*.** *The journal of experimental biology*, v. 210, n. Pt 2, p. 340–356, 2007.

PACHECO, V.; SÁNCHEZ-VENDIZÚ, P.; SOLARI, S. **A new species of *Anoura* Gray, 1838 (Chiroptera: Phyllostomidae) from Peru, with taxonomic and biogeographic comments on species of the *Anoura caudifer* complex.** *Acta chiropterologica*, v. 20, n. 1, p. 31-50, 2018.

PAINTER, M. L. et al. **Diet of spotted bats (*Euderma maculatum*) in Arizona as indicated by fecal analysis and stable isotopes.** *Canadian journal of zoology*, v. 87, n. 10, p. 865–875, 2009.

PAKSUZ, E. P. **The effect of hibernation on the morphology and histochemistry of the intestine of the greater mouse-eared bat, *Myotis myotis*.** *Acta Histochemica*, v. 116, n. 8, p. 1480-1489, 2014.

- PARK, H.; HALL, E. R. **The gross anatomy of the tongues and stomachs of eight new world bats**. Transactions of the Kansas Academy of Science (1903-), v. 54, p. 64-72, 1951.
- PEDROZO, A. R.; GOMES, L. A.; UIEDA, W. **Feeding behavior and activity period of three Neotropical bat species (Chiroptera: Phyllostomidae) on *Musa paradisiaca* inflorescences (Zingiberales: Musaceae)**. Iheringia. Série Zoologia, v. 108, p. 1-8, 2018.
- PILLANS, R. D.; FRANKLIN, C. E.; TIBBETTS, I. R. **Food choice in *Siganus fuscescens*: influence of macrophyte nutrient content and availability**. Journal of fish biology, v. 64, n. 2, p. 297–309, 2004.
- PRICE, T. D.; QVARNSTRÖM, A.; IRWIN, D. E. **The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution**. Proceedings. Biological sciences, v. 270, n. 1523, p. 1433–1440, 2003.
- RAMIREZ-OTAROLA, N.; NAYA, D. E.; SABAT, P. **Seasonal changes in digestive enzymes in five bird species**. Canadian journal of zoology, v. 96, n. 7, p. 707–712, 2018.
- RATTO, F. et al. **Global importance of vertebrate pollinators for plant reproductive success: a meta-analysis**. Frontiers in ecology and the environment, v. 16, n. 2, p. 82–90, 2018.
- REIS, N. R. dos et al. **Riqueza de espécies de morcegos (Mammalia, Chiroptera) em dois diferentes habitats, na região centro-sul do Paraná, sul do Brasil**. Revista Brasileira de Zoologia, v. 23, n. 3, p. 813-816, 2006.
- ROUK, C. S.; GLASS, B. P. **Comparative gastric histology of five north and central American bats**. Journal of Mammalogy, v. 51, n. 3, p. 455–472, 1970.
- RUUSKANEN, S.; HSU, B.-Y.; NORD, A. **Endocrinology of thermoregulation in birds in a changing climate**. Molecular and cellular endocrinology, v. 519, n. 111088, p. 111088, 2021.
- SALINAS-RAMOS, V. B. et al. **Dietary overlap and seasonality in three species of mormoopid bats from a tropical dry forest**. Molecular ecology, v. 24, n. 20, p. 5296–5307, 2015.
- SÁNCHEZ, M. S. et al. **Seasonal patterns in the diet of frugivorous bats in the subtropical rainforests of Argentina**. Mammalia, v. 76, n. 3, p. 269–275, 2012.
- SASSI, P. L.; BORGHI, C. E.; BOZINOVIC, F. **Spatial and seasonal plasticity in digestive morphology of cavies (*Microcavia australis*) inhabiting habitats with different plant qualities**. Journal of mammalogy, v. 88, n. 1, p. 165–172, 2007.
- SAZIMA, I. **Observations on the feeding habits of phyllostomatid bats (*Carollia*, *Anoura*, and *Vampyrops*) in southeastern Brazil**. Journal of Mammalogy, v. 57, n. 2, p. 381-382, 1976.

- SCILLITANI, G. et al. **Lectin histochemistry of gastrointestinal glycoconjugates in the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum* (Schreber, 1774).** Acta Histochemica, v. 109, n. 5, p. 347-357, 2007.
- SCOTT, K. P.; DUNCAN, S. H.; FLINT, H. J. **Dietary fiber and the gut microbiota.** Nutrition bulletin, v. 33, n. 3, p. 201–211, 2008.
- SILVA, C. H. S. et al. **Comparative study on the small and large intestines of the bats *Artibeus planirostris* and *Diphylla ecaudata*: influence of food habits on morphological parameters.** Acta Chiropterologica, v. 22, n. 2, p. 435-448, 2020.
- SIMMONS, N. B.; CIRRANELLO, A. L. **Bat Species of the World: A taxonomic and geographic database.** 2018. <http://batnames.org>. Acessado em 19/03/2020.
- SINGER, M. S.; BERNAYS, E. A. **Understanding omnivory needs a behavioral perspective.** Ecology, v. 84, n. 10, p. 2532–2537, 2003.
- SOLMSEN, E. H. **New world nectar-feeding bats: biology, morphology and craniometric approach to systematics.** Zoologisches Forschungsinst, 1998.
- SOMMERS, A. S.; ROGERS, E. J.; MCGUIRE, L. P. **Migration and reproduction are associated with similar degrees of phenotypic flexibility in an insectivorous bat.** Oecologia, v. 190, n. 4, p. 747–755, 2019.
- SOTO-CENTENO, J. A.; KURTA, A. **Diet of two nectarivorous bats, *Erophylla sezekorni* and *Monophyllus redmani* (Phyllostomidae), on Puerto Rico.** Journal of mammalogy, v. 87, n. 1, p. 19–26, 2006.
- SRIVASTAVA, R. K.; KRISHNA, A. **Seasonal adiposity, correlative changes in metabolic factors and unique reproductive activity in a vespertilionid bat, *Scotophilus heathi*.** Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, v. 309, n. 2, p. 94-110, 2008.
- STAPLETON, D. et al. **Analysis of hepatic glycogen-associated proteins.** Proteomics, v. 10, n. 12, p. 2320-2329, 2010.
- STROBEL, S. ET AL. **Histological and histochemical analysis of the gastrointestinal tract of the common pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*).** European Journal of Histochemistry: EJH, v. 59, n. 2, p. 2477, 2015.
- TEDMAN, R. A.; HALL, L. S. **The morphology of the gastrointestinal tract and food transit time in the fruit bats *Pteropus alecto* and *P. poliocephalus* (Megachiroptera).** Australian Journal of Zoology, v. 33, p. 625-640, 1985.
- TEELING, E. C. et al. **A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record.** Science (New York, N.Y.), v. 307, n. 5709, p. 580–584, 2005.

TEIXEIRA, S. C.; PERACCHI, A. L. **Morcegos do Parque Estadual da Serra da Tiririca, Rio de Janeiro, Brasil (Mammalia, Chiroptera)**. Revista Brasileira de Zoologia, v. 13, p. 61-66, 1996.

TRACY, C. R.; DIAMOND, J. **Regulation of gut function varies with life-history traits in chuckwallas (*Sauromalus obesus*: Iguanidae)**. Physiological and biochemical zoology: PBZ, v. 78, n. 4, p. 469–481, 2005.

TSAGKOGEOGA, G. et al. **Phylogenomic analyses elucidate the evolutionary relationships of bats**. Current biology: CB, v. 23, n. 22, p. 2262–2267, 2013.

van BREUKELEN, F.; MARTIN, S. L. **The hibernation continuum: Physiological and molecular aspects of metabolic plasticity in mammals**. Physiology (Bethesda, Md.), v. 30, n. 4, p. 273–281, 2015.

van CAKENBERGHE, V.; HERREL, A.; AGUIRRE, L. F. **Evolutionary relationships between cranial shape and diet in bats (Mammalia: Chiroptera)**. Topics in functional and ecological vertebrate morphology, p. 205–236, 2002.

van DYCK, H.; WIKLUND, C. **Seasonal butterfly design: morphological plasticity among three developmental pathways relative to sex, flight and thermoregulation: Seasonal butterfly design**. Journal of evolutionary biology, v. 15, n. 2, p. 216–225, 2002.

VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, G. **Plasticidad digestiva estacional del murciélago nectarívoro *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae: Glossophaginae)**. Tesis de Maestría presentada a la Universidad Nacional Autónoma de México, p. 9-40, 2016.

VENDITTI, C.; MEADE, A.; PAGEL, M. **Multiple routes to mammalian diversity**. Nature, v. 479, n. 7373, p. 393–396, 2011.

VOIGT, C. C.; SPEAKMAN, J. R. **Nectar-feeding bats fuel their high metabolism directly with exogenous carbohydrates**. Functional ecology, v. 21, n. 5, p. 913–921, 2007.

WANG, LIN-FA; ANDERSON, D. E. **Viruses in bats and potential spillover to animals and humans**. Current opinion in virology, v. 34, p. 79–89, 2019.

WANG, Z.; ZHU, T.; XUE, H.; et al. **Prenatal development supports a single origin of laryngeal echolocation in bats**. Nature ecology & evolution, vol. 1, no. 2, p. 21, 2017.

WAN-LONG, Z. et al. **Seasonal variations of body mass, thermogenesis and digestive tract morphology in *Apodemus chevrieri* in Hengduan mountain region**. Animal biology (Leiden, Netherlands), v. 62, n. 4, p. 463–478, 2012.

WEBER, M. M.; GRELE, C. E. V. **Does environmental suitability explain the relative abundance of the tailed tailless bat, *Anoura caudifer***. Natureza and Conservação, v. 10, p. 221-227, 2012.

WEST-EBERHARD, M. J. **Phenotypic plasticity and the origins of diversity.** Annual review of ecology and systematics, v. 20, n. 1, p. 249–278, 1989.

YAHAGI N. **Hepatic control of energy metabolism via the autonomic nervous system.** J Atheroscler Thromb. v. 24, n. 1, p. 14-18, 2017.

YANG, S.-W. et al. **Comparison of the histological morphology between normal skin and scar tissue.** Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical sciences], v. 36, n. 2, p. 265–269, 2016.

YE, J.; MEDZHITOV, R. **Control strategies in systemic metabolism.** Nature metabolism, v. 1, n. 10, p. 947–957, 2019.

ZHAO, Z.-J.; WANG, D.-H. **Effects of diet quality on energy budgets and thermogenesis in Brandt's voles.** Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology, v. 148, n. 1, p. 168–177, 2007.

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

## Artigo 1

### “Plasticidade morfológica do trato digestório do morcego-focinhudo *Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae) como resposta à sazonalidade alimentar”

**Carlos Henrique de S. Silva | Gustavo Oliveira Rocha | Kaique F. de Macedo | Pedro Henrique C. Neves | Kemilli P. Gregório | Stella Bicalho Silva | Juliano Alfenas S. V. Paes | Guilherme Ciniciato T. Garbino | Mariella Bontempo D. de Freitas | Oswaldo Pinto Ribeiro Filho | Sirlene Souza R. Sartori**

#### Resumo

O morcego *Anoura caudifer* é conhecido por mudar sazonalmente a sua dieta de néctar para insetos e frutos, podendo provocar alterações e ajustes na morfologia e fisiologia dos órgãos digestivos. Para investigar o desenvolvimento de plasticidade digestiva, analisamos o conteúdo gastrointestinal e comparamos a morfologia e morfometria dos intestinos delgado e grosso em 14 indivíduos coletados entre estações chuvosa e seca. O consumo de insetos e fibras vegetais, na estação chuvosa, provocou alterações na forma e diminuição da altura das vilosidades, resultando em 815,71  $\mu\text{m}$ . Na estação seca, houve consumo de néctar, pólen e alguns filamentos fibrosos vegetais, porém a escassez de alimentos levou ao desenvolvimento da mucosa, que ocupou grande parte do lúmen, com aumento na altura das vilosidades (1.080,32  $\mu\text{m}$ ), possivelmente como forma compensatória à quantidade e qualidade dos alimentos. O intestino grosso apresentou pregas circulares, na estação chuvosa, significando um aumento de contato com o material alimentar não-digerido e a massa fecal, certamente com repercussão na retenção destes para maior ação intestinal. Na estação seca este segmento apresentou-se mais simples, sem pregas e com lúmen maior, evidenciando a mudança quali-quantitativa dos alimentos e redução de volume da massa fecal. Logo, pode-se dizer que respostas plásticas foram desenvolvidas por esta espécie de morcego frente às variações sazonais na disponibilidade dos diferentes itens alimentares ingeridos .

**Palavras-chave:** Chiroptera. Histologia. Morfometria. Intestino. dieta.

## 1. Introdução

Chiroptera é o segundo táxon de mamíferos mais abundante em número de espécies, contendo mais de 1.300, distribuídas mundialmente, com exceção da Antártica (Gunnell e Simmons, 2005; Venditti et al., 2011; Simmons e Cirranello, 2018). É um dos grupos mais diversificados em hábitos alimentares, consumindo desde insetos, frutos, pólen, folhas, néctar, pequenos vertebrados e sangue (Freeman, 2000; van Cakenberghe et al., 2002; Nogueira et al., 2005; Duque-Márquez et al., 2019). Tais hábitos conferem a esses animais importância ecológica essencial para a manutenção dos ecossistemas que integram, como a polinização de mais de 500 plantas, dispersão de sementes e o controle populacional de várias espécies de insetos (Muscarella e Fleming, 2007; Fleming e Muchhala, 2008; Boyles et al., 2011).

A nectarivoria é atribuída, no novo mundo, aos morcegos Glossophaginae, Phyllostercinae e Brachyphyllinae, os quais desenvolveram adaptações únicas para a subsistência consumindo uma solução rica em açúcares (von Helversen e Winter, 2003; Fleming et al., 2009). Esses morcegos conseguem oxidar rapidamente a glicose do néctar e convertê-la em ATP durante o voo e, para isso, contam majoritariamente com a absorção intestinal paracelular, cuja eficiência, rapidez e dispensação de energia superam os custos energéticos com o voo e compensam a redução do tamanho do tubo digestório (Solmsen, 1998; Voigt e Speakman, 2007; Brun et al., 2019).

Diversos estudos realizados por diferentes autores descreveram a morfologia intestinal de várias espécies de morcegos e, apesar de obedecerem a um padrão comum geral, com redução do tamanho e ausência de cólons, apêndices e cecos (e.g. Makanya et al., 2001; Scillitani et al., 2007; Strobel et al., 2015; Aylward et al., 2019; Silva et al., 2020), o intestino desses animais assumiu, no tempo evolutivo, adaptações para melhor extrair os nutrientes em cada dieta, sem exigir um grande custo energético (Price et al., 2015).

A diversidade de dietas e as mudanças estacionais dos recursos alimentares podem provocar alterações e ajustes na morfologia e fisiologia dos órgãos digestivos (Karasov et al., 2011; Wan-Long et al., 2012). O morcego nectarívoro *Glossophaga soricina* consome insetos e frutas no período chuvoso, o que resultou em massa estomacal e volume intestinal maiores, além de uma área de superfície de absorção

mais desenvolvida (Vázquez-Domínguez, 2016). Em outro nectarívoro (*Anoura geoffroyi*) foram relatadas diferentes respostas do trato digestório à ingestão de néctar, somadas a mudanças na massa corporal, no período de inverno e primavera, quando esse recurso oscila em concentrações de açúcar, o que indica fortes evidências de plasticidade digestiva (Ayala-Berdon et al., 2018).

A investigação sobre plasticidade digestiva em morcegos ainda é escassa na literatura, havendo alguns registros em casos de sazonalidade alimentar, como também em casos de migração, hibernação e reprodução/lactação das fêmeas (McGuire et al., 2013; Paksuz, 2014; Vázquez-Domínguez, 2016; Ayala-Berdon et al., 2018; Sommers et al., 2019). Dessa forma, os morcegos carecem de mais investigações em seus aspectos digestivos, com mais detalhes morfofisiológicos e metabólicos, especialmente frente às variações sazonais da dieta.

*Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae), comumente encontrado na América do Sul (Reis et al., 2006), é conhecido por mudar sazonalmente a sua dieta de néctar para insetos e frutos, na estação chuvosa (Teixeira e Peracchi, 1996; Zortéa, 2003; Barros et al., 2013), porém, não se sabe se estes ajustes comportamentais na alimentação provocam alguma modificação a nível morfológico do trato gastrointestinal, como também no metabolismo energético.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de investigar variações sazonais na dieta e sua repercussão sobre aspectos morfológicos do trato gastrointestinal no morcego-focinhudo *A. caudifer*.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Animais e procedimentos experimentais**

Animais adultos de *Anoura caudifer* (n=14), dentre 9 machos e 5 fêmeas não grávidas, foram coletados em uma área de plantação de bananeiras, pertencente à Universidade Federal de Viçosa – UFV, Minas Gerais, Brasil (20°45'37"S e 42°52'4"W), próxima a uma área remanescente de Mata Atlântica. Os indivíduos foram capturados por meio de redes de neblina, durante os meses de março-abril (estação chuvosa) e junho-julho (estação seca) no ano de 2021, sendo sete indivíduos em cada estação.

Os indivíduos capturados foram identificados utilizando livro guia de campo (Díaz et al., 2016), e foram alimentados no local com dose única de solução de água

com 10% de açúcar para evitar que morressem, pois são muito sensíveis ao jejum. Em seguida foram acondicionados individualmente dentro de bolsas de tecido e pesados com balança do tipo pesola. Posteriormente ao trabalho de campo, eles foram levados ao Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros (UFV), onde foi realizada a eutanásia por meio de decapitação em guilhotina. Todos os procedimentos de campo e de experimentação foram aprovados, respectivamente, pelo Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade – ICMBio (licença 78020-1) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFV (1054/2021).

Os órgãos abdominais dos animais foram retirados e pesados individualmente usando balança digital de precisão. O intestino, além de pesado, foi medido usando paquímetro, sendo as medidas de peso e comprimento intestinais utilizadas para calcular os índices intestino-somáticos (ou medidas relativas): peso intestinal relativo = peso intestinal / peso corporal; comprimento intestinal relativo = comprimento intestinal / comprimento corporal, e expressos em porcentagem. Em seguida, os intestinos foram fixados em uma solução de paraformaldeído a 4%, por 24 horas, e então conservados em álcool 70% para as análises histológicas, sendo também utilizado para análise do conteúdo intestinal. O estômago foi armazenado em freezer -20°C para análise do conteúdo gástrico. Fígado e músculos peitorais maiores foram fragmentados em duas porções, sendo uma incluída em solução de hidróxido de potássio a 30% para determinação de glicogênio, e a outra conservada em ultrafreezer a -80°C e liofilizada para determinação de gorduras, proteínas e matéria seca.

## **2.2. Conteúdo gastrointestinal**

O estômago de cada animal foi descongelado e incisado longitudinalmente para visualização do seu conteúdo sob estereomicroscópio binocular (FWL-SMZ 7.5), sendo identificados os itens alimentares. Amostra do intestino delgado de cada animal também foi utilizada para análise de conteúdo.

## **2.3. Morfologia intestinal**

Dois fragmentos dos intestinos delgado e grosso de cada animal foram utilizados para inclusão em historesina. Tais fragmentos foram desidratados em uma sequência de banhos crescentes em álcool 70%, 80%, 90%, 95% e 3x em álcool

100%. Posteriormente foram embebidos “overnight” em historesina de metacrilato. Uma solução de historesina combinada com composto endurecedor foi então utilizada para emblocar os fragmentos em uma fôrma plástica. Depois de formados os blocos endurecidos, estes eram colados em suportes de madeira e mantidos em estufa com sílica. Os blocos foram cortados em micrótomo semiautomático rotativo para obtenção de secções transversais de 3 µm de espessura, que foram coradas com azul de toluidina para a visualização geral dos tecidos, ou com uma combinação dos corantes Alcian Blue (pH 2,5), para mucopolissacarídeos ácidos, e Ácido Periódico de Schiff, para mucopolissacarídeos neutros, sendo os núcleos contracorados com Hematoxilina de Harris por 2 minutos. Após coradas, as lâminas histológicas foram montadas com entelã.

Outros fragmentos dos intestinos delgado e grosso, retirados logo abaixo dos primeiros, foram utilizados para inclusão em parafina (Paraplast®). Para tal, eles foram desidratados em banhos crescentes de álcool 70%, 80%, 90%, 95%, 3x em álcool 100%, álcool-xilol e 3x em xilol, seguidos por três banhos em parafina à 58 °C. O emblocamento dos fragmentos foi feito em fôrmas de papel e deixados até endurecer à temperatura ambiente, para então serem fixados em suportes de madeira. Os cortes transversais foram feitos em micrótomo rotativo manual (Olympus America Inc. CUT 4055), à 5 µm de espessura, e posteriormente, foram desparafinizados em banhos de xilol (3x) e álcool-xilol (1x) e hidratados em série decrescente de álcool (100%, 95%, 90%, 80%, 70%) e água destilada. Empregamos duas técnicas de coloração com sais de prata (AgNO<sub>3</sub>), Masson-Fontana e Grimelius, para células argentafins e argirófilas, respectivamente (Grimelius e Wilander, 1980; Barbosa et al., 1984). Após coradas, as lâminas histológicas foram processadas para montagem em bálsamo do Canadá. Tal processamento envolveu a desidratação em série crescente de álcool 70%, 80%, 90%, 95%, e a diafanização com rápida passagem (em torno de 3 segundos) por banhos de álcool-xilol e xilol (3x).

As lâminas foram observadas e fotografadas utilizando-se fotomicroscópio com câmera acoplada (Leica MC170 HD) e sistema de captura de imagens. Os protocolos usados para as técnicas histológicas podem ser vistos no Anexo 1.

#### **2.4. Morfometria intestinal**

Para a morfometria das estruturas parietais, imagens das lâminas coradas com azul de toluidina foram capturadas utilizando o fotomicroscópio na objetiva de 10x, com médias em torno de 31 imagens de intestino delgado e 22 de intestino grosso.

Foi utilizado o “software” Image J para a realização das medidas, sendo duas medições por cada imagem para a espessura das camadas mucosa, submucosa, muscular total, muscular circular e muscular longitudinal. Na camada mucosa medimos duas vilosidades, obtendo medidas de altura e de largura (apical e basal, calculando-se a largura média), bem como de profundidade e largura de duas criptas. A partir dessas medidas foram calculadas medidas relativas de cada estrutura intestinal, dividindo-se a altura das camadas pela altura da parede intestinal, assim como a altura dos vilos e das criptas pela altura da mucosa, e a largura dessas últimas pela sua altura, a fim de ajustar os dados histométricos para melhor comparação dos animais entre estações. Essas medidas relativas foram expressas em porcentagem.

## **2.5. Análise estatística**

Os dados biométricos e morfométricos foram comparados, entre os animais das estações chuvosa e seca, usando o teste-t pareado, considerando um intervalo de confiança de 95% ( $P = 0,05$ ). Foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk; os dados que falharam a esse teste foram submetidos ao teste de Wilcoxon, como alternativa ao teste-t de Student. Foi utilizado o software SigmaPlot® 14.0 para a realização dos testes estatísticos. Os dados estão representados como média  $\pm$  desvio padrão.

## **3. Resultados**

Durante a execução das coletas, foram coletados dados pluviométricos, com informações do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) do Brasil. A região municipal de Viçosa-MG obteve o maior volume de chuva acumulada no mês de março (120 mm), e menor no mês de julho (10 mm), conforme mostrado na Figura 1.

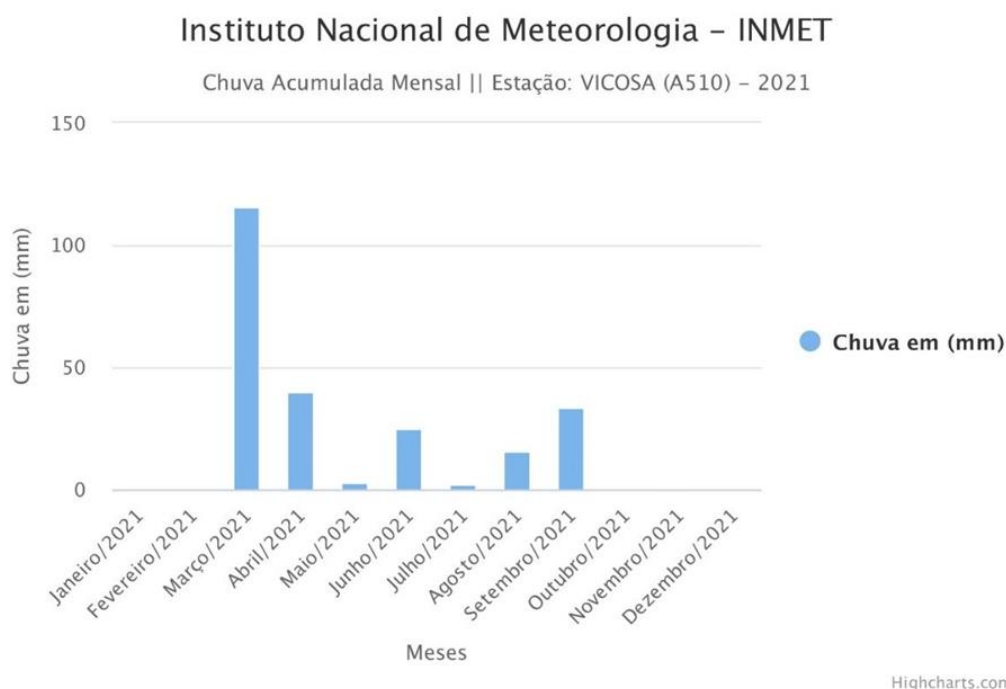


Fig. 1: Proporção de chuva acumulada mensal no município de Viçosa-MG, em 2021.  
Fonte: INMET.

As coletas dos animais foram mais difíceis na estação chuvosa, impondo um esforço de captura maior nessa época. Na estação seca, os animais caíram nas redes mais frequentemente, exigindo um esforço de captura menor.

### 3.1. Conteúdo gastrointestinal

Pelas análises estomacais, quatro indivíduos da estação chuvosa revelaram fragmentos de exoesqueleto de besouro, filamentos de antenas e resíduos alimentares contendo fragmentos de insetos não identificados; dois indivíduos apresentaram estômago vazio e um indivíduo com pólen (Fig. 2a). No intestino de alguns animais, foram identificados omatídios de coleópteros e outros fragmentos de insetos não identificados, geralmente na porção anterior, e resíduos na porção posterior, além de materiais fibrosos de origem vegetal (Fig. 2b). Apenas um animal apresentou intestino vazio.

No estômago dos animais da estação seca, quatro indivíduos estavam com o estômago vazio, dois continham massas de pólen e um apresentou materiais fibrosos não identificados, porém, com aspecto vegetal (Fig. 2c). Em alguns indivíduos da estação seca, a porção posterior do intestino continha resíduos alimentares com

pólen, enquanto em outros, encontramos resíduos não identificados (Fig. 2d). A porção anterior não conteve nenhum resíduo de alimento.

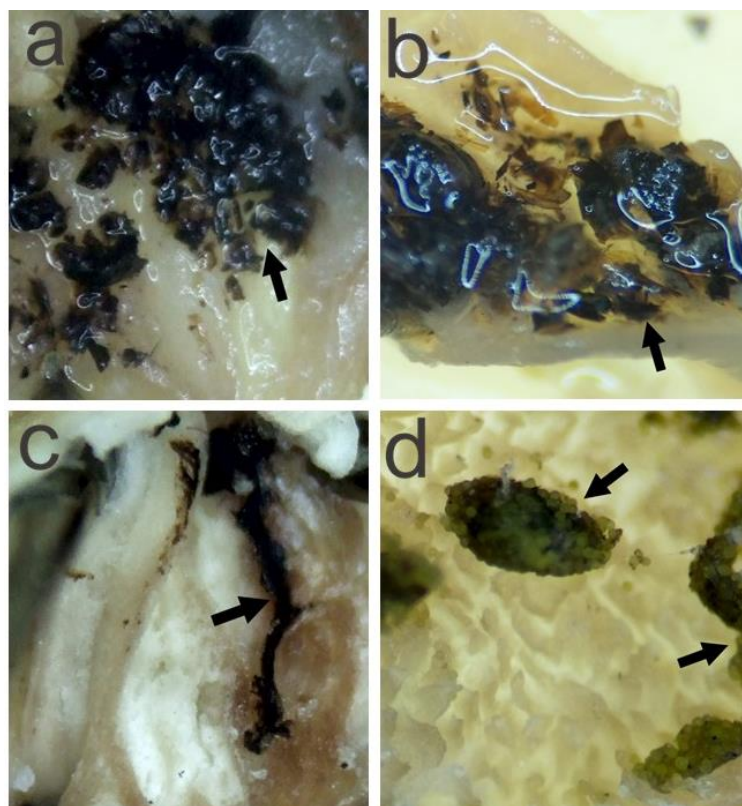


Fig. 2 Imagens fotográficas dos conteúdos gastrointestinais do morcego *Anoura caudifer*. Estômago (a) e segmento intestinal (b) de animal coletado na estação chuvosa, com setas indicando fragmentos de exoesqueleto de insetos; estômago (c) e segmento intestinal (d) de animal coletado na estação seca; com as setas indicando a presença de material fibroso no estômago, e massas de pólen no intestino.

## 3.2. Morfologia

### 3.2.1. Aspectos anatômicos

O peso corporal de *A. caudifer* foi significativamente maior na estação chuvosa, com 11,04 g, comparado à estação seca, o qual foi de 10,14 g ( $P = 0,037$ ). As medidas de comprimento cabeça-corpo também resultaram em diferença estatisticamente significativa, sendo maior na estação chuvosa, com 7,17 cm, que na estação seca, com 6,07 cm ( $P = 0,026$ ). O comprimento do antebraço não resultou em diferença estatística entre as estações.

Os intestinos delgado e grosso apresentaram-se como um tubo contínuo e sem distinções macroscópicas entre si. O intestino grosso é extremamente curto, sem divisão dos cólons, e sem haustros e tênias. Os dados biométricos intestinais, bem como os dados de biometria dos animais, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados biométricos do morcego *Anoura caudifer*, coletado nas estações chuvosa e seca.

	Estação chuvosa	Estação seca
Peso corporal (g)	11,04 ± 1,01 <sup>a</sup>	10,14 ± 1,00 <sup>b</sup>
Comprimento cabeça-corpo (cm)	7,17 ± 0,40 <sup>a</sup>	6,07 ± 0,66 <sup>b</sup>
Comprimento do antebraço (mm)	36,71 ± 1,88 <sup>a</sup>	36,28 ± 2,05 <sup>a</sup>
Peso intestinal (g)	0,29 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,03 <sup>a</sup>
Comprimento intestinal (cm)	12,52 ± 1,57 <sup>a</sup>	13,47 ± 0,82 <sup>a</sup>
Peso intestinal relativo (%)	2,64 ± 0,81 <sup>a</sup>	2,50 ± 0,39 <sup>a</sup>
Comprimento intestinal relativo (%)	58,26 ± 9,97 <sup>a</sup>	45,17 ± 5,30 <sup>a*</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ( $p < 0,05$ ). \* Diferença estatística considerando  $p = 0,05$ .

### 3.2.2. Aspectos histológicos

O arranjo histológico do intestino delgado de *A. caudifer* apresentou algumas distinções entre as estações chuvosa e seca. Nos animais da chuvosa predominaram as vilosidades digitiformes e, em geral, o lúmen foi mais amplo e evidente, enquanto nos animais da seca, as vilosidades apresentaram formatos variados, a maioria digitiforme com ápice afilado, algumas piramidais e outras em zigue-zague, ocupando uma grande porção do intestino e assim reduzindo seu lúmen (Fig. 3a, b e e). Por outro lado, as criptas ou glândulas (de Lieberkühn) seguiram o mesmo padrão entre as estações, sendo retilíneas e não-ramificadas (Fig. 3a e b).

As camadas submucosa e muscular apareceram em uma disposição uniforme ao longo do intestino delgado. Um fino arranjo de tecido conjuntivo frouxo da submucosa sustenta e supre a mucosa, e a camada muscular se organiza em duas subcamadas, circular interna e longitudinal externa (Fig. 3a, b e f). Em alguns cortes foi possível visualizar o plexo mioentérico com o gânglio nervoso entre as camadas

musculares, e alguns resquícios de camada serosa, de tecido conjuntivo revestido pelo mesotélio pavimentoso (Fig. 3f). Não foram identificadas glândulas na submucosa, nem nódulos linfóides ou placas de Peyer.

No intestino grosso, a diferença mais notável foi a presença de pregas circulares em alguns animais da chuvosa, com a elevação de porções das camadas mucosa e submucosa. Nos animais da seca, esse segmento intestinal apresentou-se mais simples e sem pregas circulares. A camada mucosa foi composta por glândulas intestinais retas e não-ramificadas, aparentemente com mais células caliciformes nos animais da estação chuvosa, dando um aspecto diferente à mucosa (Fig. 3c e d). Alguns nódulos linfóides foram vistos entre as glândulas (Fig. 3h).

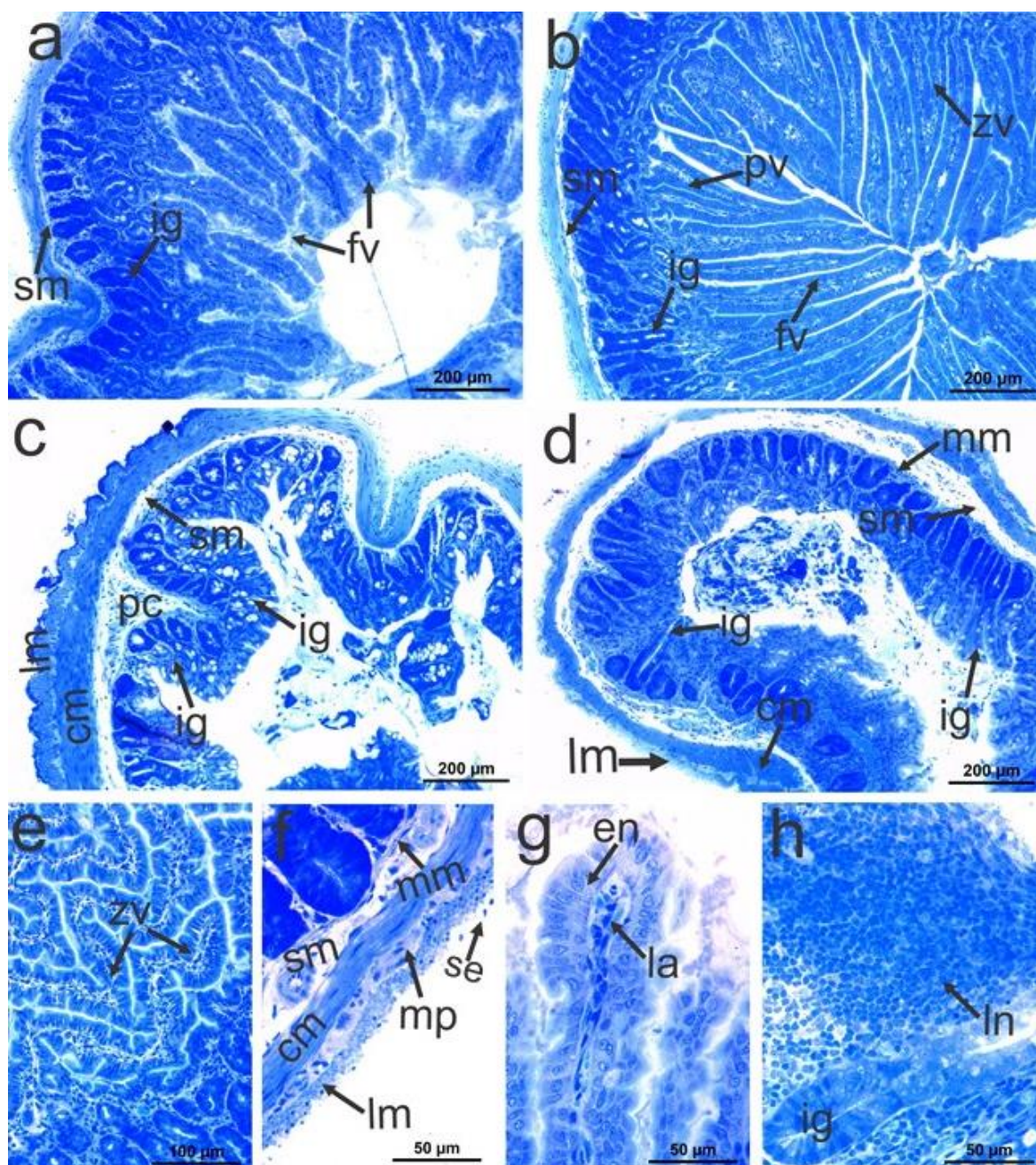


Fig. 3 – Fotomicrografias dos intestinos delgado e grosso do morcego *Anoura caudifer*, coletado nas estações chuvosa (imagens a e c) e seca (imagens b e d). a e b. Intestino delgado; c e d. Intestino grosso; e-h. Detalhes de estruturas intestinais. e. Vilosidades em zigue-zague; f. Gânglio nervoso do plexo mioentérico no intestino delgado; g. Vilosidade com o seu vaso lácteo central preenchido por linfócitos; h. Nódulo linfoide no intestino grosso. cm: muscular circular; en: enterócito; fv: vilosidade digitiforme; ig: glândulas intestinais; la: lácteo central; lm: muscular longitudinal; ln: nódulo linfoide; mm: muscular da mucosa; mp: plexo mioentérico; pc: prega circular; pv: vilosidade piramidal; sm: submucosa; zv: vilosidade em zigue-zague. Coloração: azul de toluidina.

A camada submucosa apresentou-se mais espessa que a do intestino delgado, sendo uniforme em toda a sua extensão. As camadas musculares circular e longitudinal também foram mais desenvolvidas que as do intestino delgado, e entre as duas camadas foi possível visualizar a presença do plexo mioentérico (Fig. 3c e d). A serosa apresentou-se como uma fina camada de tecido conjuntivo revestido pelo mesotélio pavimentoso.

O epitélio que reveste a mucosa do intestino delgado foi do tipo simples cilíndrico (Fig. 3g) com enterócitos e células caliciformes, estas últimas aumentaram em quantidade em sentido caudal. Não houve distinções morfológicas entre os animais das estações chuvosa e seca. Estas células foram positivas para o Alcian blue, indicando a produção de mucinas ácidas, e a borda estriada foi positiva para o PAS, evidenciando a presença de glicoproteínas neutras no glicocálix (Fig. 4a e b). Abaixo do epitélio esteve presente uma estreita lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo com pequenos vasos sanguíneos e linfáticos, e em evidência o lácteo central repleto de linfócitos (Fig. 3g). Uma fina camada de muscular da mucosa esteve presente, separando a camada mucosa da submucosa (Fig. 3f).

No intestino grosso (Fig. 4c e d), o epitélio foi composto por enterócitos e numerosas células caliciformes, as quais foram reativas, em sua maioria, ao Alcian blue, e algumas foram reativas ao PAS. A borda estriada foi menos evidente que a do intestino delgado, mas continuou positiva ao PAS. Visualmente, houve marcação maior de células caliciformes na estação chuvosa, principalmente positivas ao Alcian Blue. Já a muscular da mucosa foi mais desenvolvida no intestino grosso que no delgado.

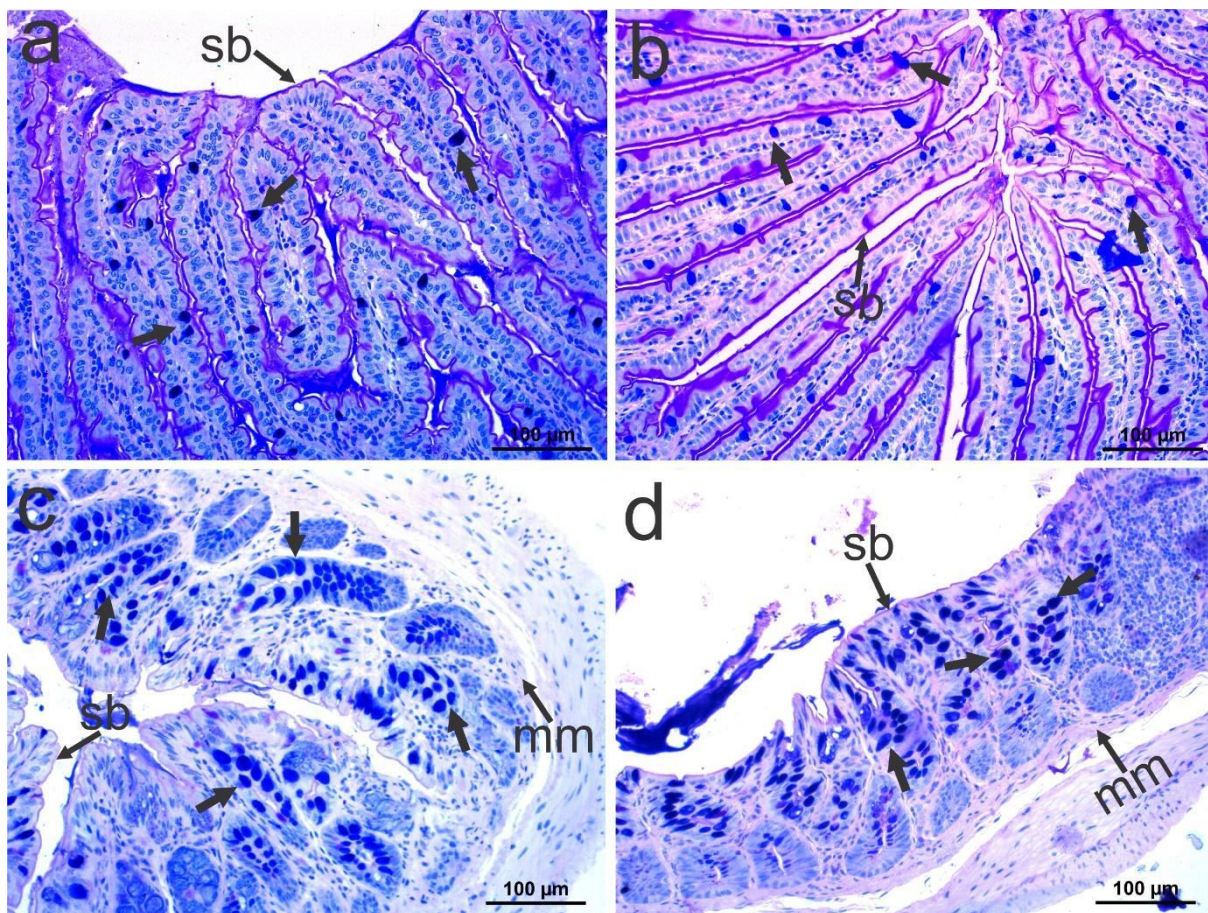


Fig. 4 – Fotomicrografias de cortes dos intestinos delgado e grosso do morcego *Anoura caudifer*, coletado nas estações chuvosa (imagens a e c) e seca (imagens b e d), evidenciando as células caliciformes AB reativas (setas largas) e a borda estriada PAS reativa (setas finas). a e b. Intestino delgado; c e d. Intestino grosso. mm: muscular da mucosa. Coloração: Alcian blue (azul) + ácido periódico de Schiff - PAS (magenta), com os núcleos contracorados com hematoxilina de Harris.

Células enteroendócrinas argirófilas, marcadas pela técnica de Grimelius, e argentafins, reativas à técnica de Masson-Fontana, foram visualizadas dispersas pelo epitélio, com maior frequência nas criptas, tanto no intestino delgado quanto no grosso. Em geral, elas apresentaram um aspecto oval, piriforme ou piramidal, além disso, foi possível identificar que algumas delas eram do tipo aberto, com conexão para o lúmen, ou do tipo fechado, sem conexão para o lúmen. Para ambos os intestinos delgado e grosso, não houve diferença na frequência dessas células entre as estações chuvosa e seca (Fig. 5a-g).

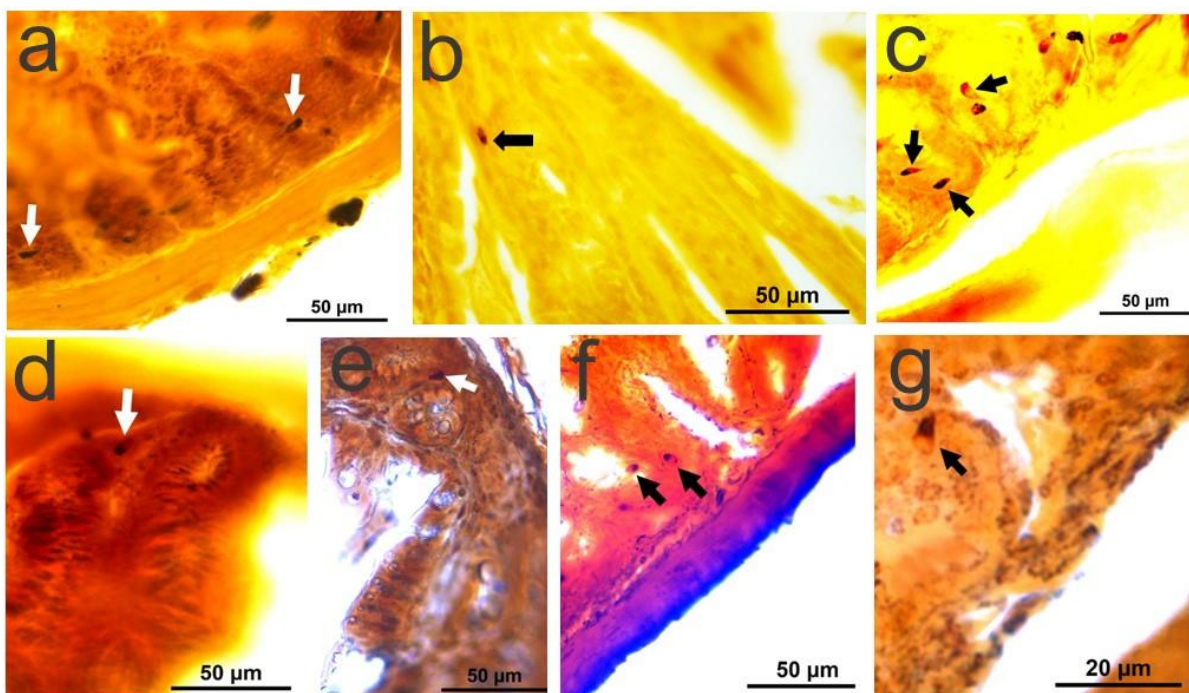


Fig. 5 - Fotomicrografias de cortes dos intestinos delgado (a-d) e grosso (e-g) do morcego *Anoura caudifer*, evidenciando as células enteroendócrinas argirófilas (setas largas) e argentafins (setas finas). Coloração: Grimelius (a-c) e Masson-Fontana (d-g).

### 3.3. Morfometria

O morcego *A. caudifer* apresentou mudanças evidentes, e estatisticamente significativas, em todos os componentes estruturais dos intestinos delgado e grosso, como mostra a Tabela 2, com exceção das pregas circulares, que foram observadas apenas nos animais da estação chuvosa.

Tabela 2. Parâmetros morfométricos dos intestinos delgado e grosso do morcego *Anoura caudifer*, coletado nas estações chuvosa e seca.

	Medidas ( $\mu\text{m}$ )	Estação Chuvosa	Estação Seca
Intestino delgado	Mucosa	1.267,85 $\pm$ 215,65 <sup>a</sup>	1.458,04 $\pm$ 197,53 <sup>b</sup>
	Submucosa	24,46 $\pm$ 10,73 <sup>a</sup>	18,29 $\pm$ 5,26 <sup>b</sup>
	Muscular total	83,63 $\pm$ 27,79 <sup>a</sup>	94,97 $\pm$ 27,19 <sup>b</sup>
	Muscular circular	46,46 $\pm$ 17,93 <sup>a</sup>	62,27 $\pm$ 19,80 <sup>b</sup>
	Muscular longitudinal	36,43 $\pm$ 12,68 <sup>a</sup>	32,18 $\pm$ 9,85 <sup>b</sup>
	Altura de vilosidades	815,71 $\pm$ 162,38 <sup>a</sup>	1.080,32 $\pm$ 106,39 <sup>b</sup>
	Largura de vilosidades	113,76 $\pm$ 58,07 <sup>a</sup>	123,73 $\pm$ 29,69 <sup>b</sup>
	Profundidade de criptas	403,98 $\pm$ 69,25 <sup>a</sup>	320,40 $\pm$ 60,53 <sup>b</sup>
	Largura de criptas	100,13 $\pm$ 16,30 <sup>a</sup>	97,66 $\pm$ 18,17 <sup>b</sup>
Intestino grosso	Mucosa	490,10 $\pm$ 160,64 <sup>a</sup>	460,61 $\pm$ 85,72 <sup>b</sup>
	Submucosa	32,77 $\pm$ 9,06 <sup>a</sup>	24,62 $\pm$ 4,79 <sup>b</sup>
	Muscular total	163,49 $\pm$ 57,01 <sup>a</sup>	143,44 $\pm$ 37,09 <sup>b</sup>
	Muscular circular	105,61 $\pm$ 39,93 <sup>a</sup>	98,49 $\pm$ 26,56 <sup>b</sup>
	Muscular longitudinal	55,93 $\pm$ 21,47 <sup>a</sup>	45,77 $\pm$ 13,10 <sup>b</sup>
	Profundidade de criptas	350 $\pm$ 111,10 <sup>a</sup>	374,04 $\pm$ 88,36 <sup>b</sup>
	Largura de criptas	118,86 $\pm$ 78,80 <sup>a</sup>	104,03 $\pm$ 52,03 <sup>b</sup>
	Altura das pregas circulares	534,94 $\pm$ 261,62	-
	Largura das pregas circulares	816,83 $\pm$ 89,26	-

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ( $p < 0,05$ ).

As medidas relativas estão representadas na Tabela 3. A maioria dos valores resultaram em diferença significativa entre as estações chuvosa e seca, com exceção da medida relativa da camada muscular total do intestino delgado e da camada muscular circular do intestino grosso.

Tabela 3. Parâmetros morfométricos, expressos como medidas relativas, dos intestinos delgado e grosso do morcego *Anoura caudifer*, coletado nas estações chuvosa e seca.

	Medidas (%)	Estação Chuvosa	Estação Seca
Intestino delgado	Mucosa/Esp. Parede	70,12 ± 9,02 <sup>a</sup>	73,16 ± 4,75 <sup>b</sup>
	Submucosa/ Esp. Parede	1,82 ± 0,8 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,34 <sup>b</sup>
	Muscular total/ Esp. Parede	6,13 ± 1,93 <sup>a</sup>	6,17 ± 2,18 <sup>a</sup>
	Muscular circular/ Esp. Parede	3,39 ± 1,25 <sup>a</sup>	4,06 ± 1,60 <sup>b</sup>
	Muscular longitudinal/ Esp. Parede	2,67 ± 0,90 <sup>a</sup>	2,08 ± 0,73 <sup>b</sup>
	Altura de vilo/Esp. Mucosa	39,45 ± 30,44 <sup>a</sup>	65,78 ± 16,17 <sup>b</sup>
	Largura de vilo/Alt. Vilo	9,53 ± 10,13 <sup>a</sup>	11,98 ± 4,54 <sup>b</sup>
	Profundidade de cripta/Esp. Mucosa	32,67 ± 7,72 <sup>a</sup>	22,40 ± 5,23 <sup>b</sup>
	Largura de cripta/Prof. Cripta	25,57 ± 6,36 <sup>a</sup>	32,07 ± 12 <sup>b</sup>
Intestino grosso	Mucosa/Esp. Parede	70,12 ± 9,02 <sup>a</sup>	73,16 ± 4,75 <sup>b</sup>
	Submucosa/Esp. Parede	5,18 ± 2,10 <sup>a</sup>	4 ± 0,92 <sup>b</sup>
	Muscular total/Esp. Parede	24,69 ± 7,72 <sup>a</sup>	22,82 ± 4,74 <sup>b</sup>
	Muscular circular/Esp. Parede	15,85 ± 5,30 <sup>a</sup>	15,69 ± 3,54 <sup>a</sup>
	Muscular longitudinal/Esp. Parede	8,61 ± 3,40 <sup>a</sup>	7,27 ± 1,76 <sup>b</sup>
	Profundidade de criptas/Esp. Mucosa	75,46 ± 25,60 <sup>a</sup>	82,19 ± 17,79 <sup>b</sup>
	Largura de criptas/Prof. Cripta	36,55 ± 25,71 <sup>a</sup>	31,04 ± 31,12 <sup>b</sup>

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ( $p < 0,05$ ). Legenda: Alt: altura; Esp: espessura; Prof: profundidade.

#### 4. Discussão

Este é o primeiro trabalho a investigar alterações morfológicas nos intestinos delgado e grosso, com amplo detalhamento da histologia, histoquímica e morfometria

desses órgãos, provocadas por mudanças sazonais na dieta do morcego nectarívoro *Anoura caudifer*.

#### 4.1. Conteúdo gastrointestinal

As observações do conteúdo gastrointestinal revelaram diferenças de dieta entre os animais nas estações chuvosa e seca. Essas variações nos itens alimentares têm relação com sua disponibilidade, de acordo com a temperatura, luminosidade, precipitação e humidade. A abundância de insetos pode ocorrer comumente no período chuvoso, por ser mais favorável à sua reprodução (Kishimoto-Yamada e Itioka, 2015), juntamente com a frutificação das plantas. Por outro lado, na estação seca, a floração e produção de néctar são mais propícias (Heithaus e Fleming, 1975). Na estação chuvosa insetos fizeram parte da dieta dos animais. Os insetos são animais que contribuem para o aumento de proteína e gordura no sangue, o que contribui para a manutenção e deposição de reservas energéticas no fígado, músculos e outros órgãos, além de serem boas fontes de minerais (Banjo et al., 2006).

Durante a estação seca, foram encontrados, no estômago e no intestino dos animais, pólen e material fibroso. Nessa estação, ocorre escassez de alimento. Os animais se alimentam de néctar, rica fonte de energia, glicose e frutose, e pólen, fonte de aminoácidos, proteínas e lipídios (Howell, 1974; Baker et al., 1998). É importante notar que a captura dos animais foi mais fácil na estação seca. Isso sugere que *A. caudifer* se alimenta, nessa estação, principalmente de néctar (embora este não pode ser verificado devido à natureza líquida e de difícil preservação), pólen e recursos florais na plantação de bananeira, pois são recursos mais estáveis anualmente. De acordo com Klingbeil e Willig (2010), na estação seca os recursos são mais esparsos, menos disponíveis e de baixa qualidade, e a tendência desses animais é se dispersar para as bordas da floresta (Klingbeil e Willig, 2010). Assim, a procura por alimentos mais distantes do abrigo pelos animais na estação seca, pode ser explicada pela baixa disponibilidade dos alimentos na floresta, com consequente diminuição das reservas energéticas, o que refletiu no menor tamanho e peso dos indivíduos capturados nessa estação.

O morcego *A. caudifer* é considerado nectarívoro, devido a adaptações para esse tipo de alimento, como rostro e língua alongados e ausência de incisivos inferiores para acomodar a língua durante a sua protrusão (Barquez et al., 1999).

Entretanto, diversos estudos já observaram a inclusão de insetos, pólen e frutos na alimentação dessa espécie, seja de forma oportunista ou complementar ao néctar (Sazima, 1976; Gardner, 1977; Teixeira e Peracchi, 1996; Zortéa, 2003; e Barros et al., 2013). O morcego *Glossophaga soricina*, também nectarívoro, apresenta comportamento alimentar semelhante, consumindo insetos e frutos na estação chuvosa (Vázquez-Domínguez, 2016). A introdução de itens alimentares diferentes na dieta, pode ser resultado da falta de certos nutrientes não disponíveis nos alimentos já consumidos. Para morcegos nectarívoros, o néctar proporciona basicamente glicose e frutose, e os aminoácidos, lipídios vitaminas e minerais precisam ser obtidos complementando a dieta com pólen ou insetos (Howell, 1974; Baker et al., 1998; Herrera et al., 2001). Outra estratégia alimentar, realizada pelo nectarívoro *Anoura geoffroyi*, é compensar a baixa qualidade nutricional de certos tipos de néctares, ingerindo néctares de diferentes concentrações de açúcar (Ayala-Berdon et al., 2018).

Muitas outras espécies de morcegos mudam a sua dieta, de acordo com a disponibilidade e sazonalidade dos alimentos, como foi observado nos frugívoros *Carollia perspicillata*, *Artibeus planirostris* e *Sturnira* spp., e no carnívoro *Chrotopterus auritus* (Bonato et al., 2004; Uieda et al., 2007; Pereira et al., 2010; Sánchez et al., 2012).

A variação geográfica, de ocorrência de uma espécie de morcego, também influencia no comportamento alimentar desses animais, como é vista em *Trachops cirrhosus* (Gual-Suárez e Medellín, 2021), pois diferentes habitats possuem vegetação e condições físicas e climáticas distintas, capazes de abrigar diversidade e quantidade variáveis de alimento.

As fibras encontradas em alguns animais deste estudo, especialmente na estação chuvosa, podem ter sua origem de frutas. A fibra é um material importante para controlar o tempo de passagem dos alimentos, como também auxilia na formação do bolo fecal. Alguns frutos podem ser ricos em proteínas e fibras, no entanto, os morcegos evitam ingerir sementes e excesso de fibras, para não aumentarem o tempo de retenção do alimento no intestino (Thomas, 1984; Kunz e Diaz, 1995; Becker et al., 2010). Os minerais, como cálcio, magnésio, manganês e sódio, podem ser obtidos consumindo certas estruturas vegetais, como folhas e partes florais (Nelson et al., 2000; 2005). O nectarívoro *G. soricina*, de forma oportunista, adquire insetos, pólen e partes florais como as anteras, ao extrair o néctar das flores (Howell, 1974; Lemke, 1985; Clare et al., 2014).

O período reprodutivo influencia na escolha de certos tipos de nutrientes, como proteínas e minerais (Becker et al., 2010). Em *A. caudifer*, a reprodução depende do local de distribuição (Zortéa, 2003), que parece ocorrer no período chuvoso em nosso local de estudo, tendo sido capturada duas fêmeas lactantes no final desse período, o que pode ter relação com a dieta rica em insetos na estação chuvosa.

O consumo de insetos de forma complementar, na estação chuvosa, é importante para as fêmeas no período gestacional e de lactação, por fornecer aminoácidos para o desenvolvimento dos filhotes (Tschapka, 2005; Becker et al., 2010). Além disso, pode promover um certo aporte de reservas energéticas para os adultos, permitindo que consigam sobreviver a curtos períodos de jejum (Amaral et al., 2019). Como os morcegos nectarívoros dependem da glicose para abastecer os custos energéticos com o voo, o início da atividade de forrageamento deve ser mantida pela oxidação das reservas de glicogênio e lipídios, até que se consiga a próxima alimentação (Voigt e Speakman, 2007).

## **4.2. Morfologia**

### **4.2.1. Aspectos anatômicos**

O morcego *A. caudifer* apresentou peso corporal, comprimento cabeça-corpo e comprimento do antebraço dentro dos padrões da espécie (Reis et al., 2007; Oprea et al., 2009).

O maior peso corporal dos animais na estação chuvosa indica maior ganho de massa nesse período, evidenciando que os animais dispunham de uma abundância e diversidade alimentar maior, como insetos e materiais vegetais. Essas condições podem ter contribuído para a formação de reservas de lipídios e de glicogênio, aumentando a massa corporal. O comprimento cabeça-corpo também foi favorecido pelo melhor estado alimentar, o que permitiu a disponibilidade de mais nutrientes para o crescimento corporal. Na estação seca, a escassez de alimentos dificultou o ganho de massa e crescimento corporal, diminuindo a quantidade de substrato para o armazenamento no tecido adiposo e hepático.

O aumento na massa e tamanho corporais é influenciado pela disponibilidade ou qualidade alimentar, a qual permite uma maior alocação de reservas energéticas, e também garante condições adequadas para o desenvolvimento da prole no período

reprodutivo (Neuhaus, 2000; Rughetti e Toffoli, 2014). Essas mudanças já foram observadas em morcegos insetívoros, como em *Myotis daubentonii*, relacionadas com estratégias reprodutivas (Rughetti e Toffoli, 2014). A qualidade alimentar, como a diminuição na concentração de açúcar do néctar, também reduziu o ganho de massa do morcego nectarívoro *Anoura geoffroyi*, durante a primavera (Ayala-Berdon et al., 2018).

Como *A. caudifer* parece sincronizar o seu período reprodutivo com épocas mais adequadas de disponibilidade e qualidade de alimentos (Zortéa, 2003), a estação chuvosa é mais favorável a aumentos na massa e tamanho corporais.

Os intestinos delgado e grosso de *A. caudifer* seguiram o mesmo padrão morfológico intestinal, encontrado para várias espécies de morcegos (Makanya et al., 2001; Scillitani et al., 2007; Strobel et al., 2015; Aylward et al., 2019; Silva et al., 2020). Tal padrão, caracterizado pela redução do tamanho e forma, confere adaptações para o voo, diminuindo o peso e o gasto energético durante essa locomoção (Price et al., 2015). Além disso, nos morcegos nectarívoros, a digestão e absorção de néctar não exigem maior complexidade intestinal (Caviedes-Vidal et al., 2008).

O comprimento intestinal relativo dos animais da estação chuvosa foi maior que o dos animais da estação seca. O aumento do comprimento do intestino dos animais na estação chuvosa é uma adaptação às diferentes fontes de alimentos disponíveis. Considerando o incremento no consumo de insetos e frutas, é necessário um intestino maior para a digestão e absorção, pois são itens de maior complexidade digestiva comparados com néctar e pólen. O processamento de diferentes tipos de alimentos, como insetos, fibras vegetais e pólen, pode necessitar de maior tempo de retenção no intestino, o que é favorecido pelo maior comprimento intestinal e participação de microbiota simbiote, com implicações na eficiência digestiva (Herrera e Martínez del Rio, 1998; Kelm et al., 2008; Roswag et al., 2012). Em comparação, o néctar pode ser digerido e absorvido mais rapidamente (Voigt e Speakman, 2007), o que é condizente com o menor comprimento intestinal encontrado nos animais da estação seca. Assim sendo, pode-se presumir que há adaptações morfofisiológicas para otimizar a digestão e absorção no trato intestinal de *A. caudifer*, ao consumir diferentes tipos de alimentos conforme a sua disponibilidade, embora seja um morcego nectarívoro com intestino bastante reduzido.

#### **4.2.2. Aspectos histológicos**

Nos animais da estação chuvosa, a diversidade e abundância de alimentos consumidos foi maior, como relatado na análise do conteúdo gastrointestinal e, provavelmente, essas condições afetaram diversos aspectos da morfologia intestinal. No intestino delgado, as vilosidades predominantes em formato digitiforme e a presença do lúmen mais amplo, indicam a passagem de um volume maior de alimento por esse órgão, além de partículas mais sólidas e fibrosas. O aumento do lúmen do intestino delgado dos animais da estação chuvosa está relacionado com o volume de alimento ingerido e com o tempo de passagem. O seu aumento acarretou a diminuição do tamanho das vilosidades, como consequência da retenção dos alimentos mais fibrosos, que demandam tempo de digestão e absorção maiores, forçando a mucosa a se ajustar a um volume maior de alimento. Além disso, alimentos mais rígidos demandam maior proteção da mucosa, o que é possível com menor tamanho e consequente menor exposição das vilosidades, compensado por um formato que favoreça a digestão e absorção.

As vilosidades do intestino delgado, as quais apresentaram aspectos piramidal e digitiforme, na estação seca, chegaram a ocupar quase que totalmente o lúmen. Essa expansão ocorre com a finalidade de aumentar a área de contato com o alimento, o tempo de sua permanência e a eficiência digestiva e absorptiva. Nesse período, a maioria dos animais se alimentou de pólen e, possivelmente, de néctar, que são alimentos de menor volume e rigidez. Assim, as vilosidades puderam ocupar grande parte do lúmen, e em formatos variados, ampliando o contato com os alimentos para digestão e absorção. O arranjo transversal das vilosidades em zigue-zague, nesse período, pode ter contribuído para uma absorção mais rápida do alimento e menor retenção intestinal, como já relatado para outros morcegos (Scillitani et al., 2007; Strobel et al., 2015). As glândulas intestinais (ou criptas de Lieberkühn) em *A. caudifer* seguiram o mesmo padrão morfológico entre as estações chuvosa e seca, mas diferentes em tamanhos. A função das criptas é aumentar a superfície de contato com o alimento e secretar enzimas e muco, que auxiliam o processo digestivo (Kararli, 1995).

Igualmente, não houve mudança no padrão morfológico das camadas submucosa e muscular. A submucosa é responsável pelo suporte da mucosa, fornecendo nutrição e oxigenação, e a muscular, pela motilidade intestinal (Duke, 1986).

Glândulas na submucosa duodenal, conhecidas como glândulas de Brunner, também não foram relatadas no morcego insetívoro *Pipistrellus pipistrellus* (Strobel et al., 2015), porém é possível que sejam restritas a segmentos mais craniais do duodeno, na transição gastrointestinal, dada a importância delas na produção de substâncias alcalinas para neutralização do quimo (Patel et al., 2006). Em *A. caudifer*, embora não tenhamos observado essas glândulas no segmento analisado, certamente estão presentes, uma vez que já foram identificadas na transição gastrointestinal dessa espécie por Souza (2021). Glândulas intestinais restritas à esta região também foram relatadas no morcego frugívoro *Pteropus alecto* e no insetívoro *Myotis frater kaguae* (Ishikawa et al., 1985; Tedman & Hall, 1985).

Na parede do intestino delgado não foram identificados nódulos linfóides e placas de Peyer, em compensação, o lácteo central das vilosidades, nos animais de ambas as estações, esteve repleto de linfócitos, podendo evidenciar uma estratégia compensatória para a defesa contra patógenos. No entanto, Souza (2021) identificou placas de Peyer na junção íleo/cólon de *A. caudifer*, como também em *Artibeus lituratus*. Forman (1974), ao analisar o tubo intestinal de 35 espécies de morcegos, sugeriu que espécies frugívoras, nectarívoras e insetívoras do gênero *Molossus* tendem a ter maior número de placas de Peyer, e que tais placas se concentravam na transição íleo/cólon. Gadelha-Alves et al. (2008) relataram abundante tecido linfóide no tubo intestinal em *Sturnira liliium* e *Desmodus rotundus*, enquanto em *Phyllostomus hastatus* e *Carollia perspicillata* placas foram vistas na junção íleo-cólon. Foi identificada a presença de nódulos na porção íleo/cólon dos morcegos *M. frater kaguae* e *M. myotis* (Ishikawa et al., 1985; Paksuz & Paksuz, 2015). No insetívoro *P. pipistrellus* não foi observado tecido linfóide ao longo de todo o tubo (Strobel et al., 2015). Tendo em vista as variações na presença e distribuição das placas de Peyer em morcegos, necessita-se de mais estudos para melhor caracterização regional dos intestinos e para averiguar se tais características tem relação com o hábito alimentar e/ou com a filogenia das espécies.

A principal diferença dos aspectos histológicos do intestino grosso foi a presença de pregas circulares, na maioria dos animais da estação chuvosa, o que sugere aumento na área de superfície aumentando a eficiência de absorção e reduzindo o tempo de retenção nesse órgão, que é especialmente importante quando se trata de alimentação fibrosa. Relatados semelhantes ocorreram para os morcegos *Thaiphosus nudiventris*, *M. myotis* e *Artibeus planirostris* (Paksuz & Paksuz, 2015;

Selim e Nahas, 2015; Silva et al., 2020). A presença dessas pregas também implica em maior superfície para mucossecção, revelando-se como uma adaptação para proteção física, tendo em vista a presença de um bolo fecal mais rígido. Ressalta-se que nesses animais da estação chuvosa a morfologia das glândulas intestinais foi diferente, com aparente maior densidade e volume de células caliciformes. As glândulas do intestino grosso são as unidades funcionais desse órgão, sendo responsáveis pela absorção de água e eletrólitos e secreção de mucinas para lubrificação do bolo fecal (McQuilken, 2021). Por outro lado, na estação seca a mucosa foi mais simples e sem pregas circulares, indicando possivelmente menor atividade das glândulas intestinais, frente a uma dieta mais fluida e digerível.

Em geral, as camadas submucosa e musculares apresentaram o mesmo arranjo histológico daquele do intestino delgado, porém, visualmente mais espessas. Da mesma forma, tais camadas não foram alvo de respostas plásticas, possivelmente por não estarem em contato direto com os alimentos e, conseqüentemente, não são tão susceptíveis a mudanças de volume e natureza do conteúdo intestinal.

Os nódulos linfóides, vistos entre as glândulas intestinais, são mais comuns no intestino grosso que no intestino delgado, como observado em várias espécies de morcegos (Makanya & Maina, 1994; Gadelha-Alves et al., 2008; Strobel et al., 2015; Silva et al., 2020). Esses agregados de tecido linfoide protegem a mucosa contra patógenos e captam antígenos do lúmen, gerando respostas imunológicas (Mörbe et al., 2021).

Nos intestinos delgado e grosso, a composição celular do epitélio, assim como a natureza química das mucinas (predominantemente ácidas), não variou com as diferenças sazonais na dieta de *A. caudifer*. No intestino grosso, entretanto, as células caliciformes parecem ser mais numerosas e volumosas na estação chuvosa, o que pode estar relacionado com o tipo de alimento mais fibroso e compacto. Sheahan e Jervis (1976), ao analisar o intestino de diferentes espécies de mamíferos, incluindo o homem, relataram o predomínio de mucinas ácidas. De modo geral, pode-se dizer que as mucinas neutras são especialmente importantes como barreira física, pela sua natureza viscosa, por outro lado, as mucinas ácidas são importantes para proteção química contra a ação de enzimas microbianas presentes nas fezes, como as glicosidases fecais (Rhodes et al., 1985). Grande quantidade de mucinas foram vistas por Souza (2021) no morcego frugívoro *A. lituratus* e no insetívoro *Myotis nigricans*, sendo associadas à necessidade de maior proteção físico-química, assim como para

a adesão e conseqüente retenção de microrganismos fermentadores que possam utilizar as fibras não digeríveis como fonte de nutrientes.

A presença da borda estriada PAS-positiva nos intestinos delgado e grosso foi padrão nos animais de ambas as estações, sendo a borda aparentemente menor e de marcação mais fraca no intestino grosso em comparação com o delgado, o que reflete a maior importância deste último na digestão e absorção dos nutrientes. Comparativamente a outros mamíferos, os enterócitos e a borda estriada do intestino grosso são considerados bem desenvolvidos nos morcegos, de modo a compensar o tamanho extremamente reduzido deste órgão nesses animais (Souza, 2021). Ishikawa et al. (1985) observaram o intestino grosso de *M. frater kaguae* e relataram que as criptas eram longas e possuíam numerosas células absorptivas com microvilosidades bastantes desenvolvidas.

As células enteroendócrinas argirófilas e argentafins não apresentaram alterações na sua frequência e distribuição entre as estações chuvosa e seca, podendo significar que atividade secretora dessas células é igualmente importante para as diferentes dietas, não estando sujeitas a modificações sazonais.

### **4.3. Morfometria**

Quase todos os dados morfométricos obtiveram diferença estatística quando comparados os animais da estação seca com os da chuvosa. A altura da mucosa, assim como a altura e largura das vilosidades, foram mais expressivas na estação seca, o que está condizente com as observações histológicas sobre o aspecto das vilosidades e amplitude no lúmen intestinal, como reflexo do volume e natureza dos alimentos. Por outro lado, a profundidade das criptas intestinais foi maior na estação chuvosa, o que pode estar associado ao maior volume e diferentes tipos de alimentos consumidos nesse período de abundância de recursos, exigindo maior secreção de muco e enzimas para otimizar o processo de digestão e absorção (Kararli, 1995). A menor largura das criptas nos animais dessa estação, assim como as menores medidas observadas para os vilos, remete à ideia de proteção, tendo em vista o consumo de alimentos volumosos e de maior consistência. É importante frisar que a presença de vilos menores não necessariamente implica em menor superfície para digestão e absorção, pois esta depende não somente do tamanho, mas também do número de vilos, assim como do tamanho e número de microvilos. Além disso, o

número e a atividade de enzimas e transportadores são fundamentais para os processos digestivos e absorptivos que ocorrem na borda estriada dos enterócitos. Tais aspectos precisam ser averiguados para melhor comparação entre as estações no tocante à fisiologia intestinal.

Já no intestino grosso as criptas foram menos profundas, porém mais largas, nos animais da estação chuvosa, o que pode estar associado à presença das pregas na mucosa e à grande densidade de células caliciformes, características importantes na proteção físico-química e na retenção de uma microbiota nativa, que melhor se desenvolve na presença de uma dieta rica em fibras.

A submucosa dos intestinos delgado e grosso, mais espessa na estação chuvosa, pode repercutir em mais vasos sanguíneos, importantes para a absorção dos nutrientes assim como para o suprimento da mucosa, e vasos linfáticos, importantes para a defesa.

A diferença significativa na morfometria das camadas musculares entre as estações pode estar relacionada ao uso mais frequente de determinado movimento intestinal, tendo em vista às variações na dieta. No intestino grosso, a camada muscular, em especial a longitudinal, foi maior na estação chuvosa, provavelmente relacionado a uma quantidade maior de massa fecal, necessitando de movimentos peristálticos mais fortes. No intestino delgado, a maior espessura da muscular longitudinal nos animais da estação chuvosa também pode ser indício de movimentos peristálticos mais intensos para condução do bolo alimentar, sendo os itens alimentares mais volumosos e de maior consistência. As camadas musculares são responsáveis por diferentes tipos de movimento na parede intestinal; a muscular circular executa movimentos circulares, e a longitudinal realiza movimentos de encurtamento e distensão do intestino (Kumral e Zfass, 2018).

As medidas morfométricas relativas, realizadas pela primeira vez considerando trabalhos de plasticidade digestiva frente à sazonalidade, foram importantes para ajustar os dados e permitir comparações mais fidedignas, levando-se em conta o tamanho dos animais.

## **5. Conclusões**

*Anoura caudifer* está susceptível à plasticidade digestiva, de acordo com o tipo de alimento consumido, nas estações chuvosa e seca, afetando a morfologia e morfometria dos intestinos delgado e grosso.

## 6. Referências

- AMARAL, T. S. et al. **Low energy reserves are associated with fasting susceptibility in Neotropical nectar bats *Glossophaga soricina***. Brazilian Journal of Biology, v. 79, p. 165-168, 2019.
- AYALA-BERDON, J.; CORONA, C. G.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, M. **Seasonal intake responses could reflect digestive plasticity in the nectar-feeding bat *Anoura geoffroyi***. Mammalian Biology, v. 93, n. 1, p. 118-123, 2018.
- AYLWARD, M. et al. **A comparative morphological and histological study of the gastrointestinal tract of four insectivorous bat species: *Asellia tridens*, *Chaerephon pumilus*, *Nycteris thebaica*, *Rhinopoma hardwickii***. Journal of Morphology, v. 280, n. 8, p. 1106-1117, 2019.
- BAKER, H. G.; BAKER, I.; HODGES, S. A. **Sugar composition of nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics 1**. Biotropica, v. 30, n. 4, p. 559-586, 1998.
- BANJO, A. D.; LAWAL, O. A.; SONGONUGA, E. A. **The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria**. African journal of Biotechnology, v. 5, n. 3, p. 298-301, 2006.
- BARBOSA, A. J. et al. **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.
- BARQUEZ, R. M. et al. **The bats of Argentina**. Lubbock, TX, USA: Museum of Texas Tech University, 1999.
- BARROS, M. A. S.; RUI, A. M.; FABIAN, M. E. **Seasonal variation in the diet of the bat *Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae) at the southern limit of its geographic range**. Acta Chiropterologica, v. 15, n. 1, p. 77-84, 2013.
- BECKER, N. I.; ROTHENWOEHRER, C.; TSCHAPKA, M. **Dynamic feeding habits: efficiency of frugivory in a nectarivorous bat**. Canadian Journal of Zoology, v. 88, n. 8, p. 764-773, 2010.
- BONATO, V.; FACURE, K. G.; UIEDA, W. **Food habits of bats of subfamily Vampyrinae in Brazil**. Journal of Mammalogy, v. 85, n. 4, p. 708-713, 2004.
- BOYLES, J. G.; CRYAN, P. M.; MCCRACKEN, G. F.; et al. **Conservation**. Economic importance of bats in agriculture. Science (New York, N.Y.), vol. 332, no. 6025, p. 41–42, 2011.
- BRUN, A. et al. **Morphological bases for intestinal paracellular absorption in bats and rodents**. Journal of morphology, v. 280, n. 9, p. 1359–1369, 2019.

CAVIEDES-VIDAL, E. et al. **Paracellular absorption: a bat breaks the mammal paradigm.** PloS one, v. 3, n. 1, p. e1425, 2008.

CLARE, E. L. et al. **Trophic niche flexibility in *Glossophaga soricina*: how a nectar seeker sneaks an insect snack.** Functional Ecology, v. 28, n. 3, p. 632-641, 2014.

DÍAZ, M. M. et al. **Clave de identificación de los murciélagos de Sudamérica/Chave de identificação dos morcegos da América do Sul.** Publicación Especial Nro, v. 2, p. 160, 2016.

DUKE, G. E. **Alimentary canal: secretion and digestion, special digestive functions, and absorption.** In: Avian physiology. Springer, New York, NY, 1986. p. 289-302.

DUQUE-MÁRQUEZ, A. et al. **Bat folivory in numbers: how many, how much, and how long?** Acta Chiropterologica, v. 21, n. 1, p. 183–191, 2019.

FLEMING, T. H.; GEISELMAN, C.; KRESS, W. J. **The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective.** Annals of botany, v. 104, n. 6, p. 1017–1043, 2009.

FLEMING, T. H.; MUCHHALA, N. **Nectar-feeding bird and bat niches in two worlds: pantropical comparisons of vertebrate pollination systems.** Journal of Biogeography, v. 35, p. 764–780, 2008.

FREEMAN, P. W. **Macroevolution in Microchiroptera: recoupling morphology and ecology with phylogeny.** Evolutionary ecology research, v. 2, p. 317–335, 2000.

GADELHA-ALVES, R.; ROZENSZTRANCH, A. M. S.; BARBOSA, O. R. **Comparative intestinal histomorphology of five species of phyllostomid bats (Phyllostomidae, Microchiroptera): ecomorphological relations with alimentary habits.** International Journal of Morphology, v. 26, p. 591-602, 2008.

GARDNER, A. L. **Feeding habits.** In: BAKER et al. Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae, Part II. Texas: Texas Tech University Press. p. 293-300, 1977.

GRIMELIUS, L.; WILANDER, E. **Silver stains in the study of endocrine cells of the gut and pancreas.** Investigative & cell pathology, v. 3, n. 1, p. 3-12, 1980.

GUAL-SUÁREZ, F.; MEDELLÍN, R. A. **We eat meat: a review of carnivory in bats.** Mammal Review, v. 51, n. 4, p. 540-558, 2021.

GUNNELL, G. F.; SIMMONS, N. B. **Fossil evidence and the origin of bats.** Journal of mammalian evolution, v. 12, n. 1–2, p. 209–246, 2005.

HEITHAUS, E. R.; FLEMING, T. H.; OPLER, P. A. **Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest.** Ecology, v. 56, n. 4, p. 841-854, 1975.

- HERRERA, M, L. G. et al. **Sources of protein in two species of phytophagous bats in a seasonal dry forest: evidence from stable-isotope analysis.** Journal of mammalogy, v. 82, n. 2, p. 352–361, 2001.
- HOWELL, D. J. **Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterophily.** Comparative biochemistry and physiology part a: physiology, v. 48, n. 2, p. 263–276, 1974.
- ISHIKAWA, K. et al. **Anatomical study of the intestine of the insect-feeder bat, *Myotis frater kaguae*.** Journal of Anatomy, v. 142, 141-150, 1985.
- KARARLI, T. T. **Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals.** Biopharmaceutics & drug disposition, v. 16, n. 5, p. 351–380, 1995.
- KARASOV, W. H.; MARTÍNEZ DEL RIO, C.; CAVIEDES-VIDAL, E. **Ecological physiology of diet and digestive systems.** Annual review of physiology, v. 73, n. 1, p. 69–93, 2011.
- KELM, D. H. et al. **Efficiency of facultative frugivory in the nectar-feeding bat *Glossophaga commissarisi*: the quality of fruits as an alternative food source.** Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology, v. 178, n. 8, p. 985–996, 2008.
- KISHIMOTO-YAMADA, K.; ITIOKA, T. **How much have we learned about seasonality in tropical insect abundance since Wolda (1988)?** Entomological Science, v. 18, n. 4, p. 407-419, 2015.
- KLINGBEIL, B. T.; WILLIG, M. R. **Seasonal differences in population-, ensemble- and community-level responses of bats to landscape structure in Amazonia.** Oikos, v. 119, n. 10, p. 1654-1664, 2010.
- KUMRAL, D.; ZFASS, A. M. **Gut movements: a review of the physiology of gastrointestinal transit.** Digestive diseases and sciences, v. 63, n. 10, p. 2500-2506, 2018.
- KUNZ, T. H.; DIAZ, C. A. **Folivory in fruit-eating bats, with new evidence from *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae).** Biotropica, p. 106-120, 1995.
- LEMKE, T. O. **Pollen carrying by the nectar-feeding bat *Glossophaga soricina* in a suburban environment.** Biotropica, p. 107-111, 1985.
- MAKANYA, A. N. et al. **Gut morphology and morphometry in the epauletted wahlberg's fruit bat (*Epomophorus wahlbergi*, Sundevall, 1846).** Acta Biologica Hungarica, v. 52, n. 1, p. 75-89, 2001.
- MAKANYA, A. N.; MAINA, J. N. **The morphology of the intestine of the insectivorous horseshoe bat (*Rhinolophus hildebrandti*, Peters): a scanning**

**electron and light microscopic study.** African Journal of Ecology, v. 32, n. 2, p. 158-168, 1994.

MCGUIRE, L. P.; FENTON, M. B.; GUGLIELMO, C. G. **Phenotypic flexibility in migrating bats: seasonal variation in body composition, organ sizes and fatty acid profiles.** Journal of Experimental Biology, v. 216, n. 5, p. 800-808, 2013.

MCQUILKEN, S. A. **The mouth, stomach and intestines.** Anaesthesia & Intensive Care Medicine, v. 22, n. 5, p. 330-335, 2021.

MÖRBE, U. M. et al. **Human gut-associated lymphoid tissues (GALT); diversity, structure, and function.** Mucosal immunology, v. 14, n. 4, p. 793-802, 2021.

MUSCARELLA, R.; FLEMING, T. H. **The role of frugivorous bats in tropical forest succession.** Biological reviews, v. 82, n. 4, p. 573–590, 2007.

NELSON, S. L. et al. **Nutritional quality of leaves and unripe fruit consumed as famine foods by the flying foxes of Samoa.** Pacific Science, v. 54, n. 4, p. 301-311, 2000.

NELSON, S. L.; KUNZ, T. H.; HUMPHREY, S. R. **Folivory in fruit bats: leaves provide a natural source of calcium.** Journal of chemical ecology, v. 31, n. 8, p. 1683-1691, 2005.

NEUHAUS, P. **Weight comparisons and litter size manipulation in Columbian ground squirrels (*Spermophilus columbianus*) show evidence of costs of reproduction.** Behavioral Ecology and Sociobiology, v. 48, n. 1, p. 75-83, 2000.

NOGUEIRA, M. R. et al. **Ecomorphological analysis of the masticatory apparatus in the seed-eating bats, genus *Chiroderma* (Chiroptera: Phyllostomidae).** Journal of zoology, v. 266, n. 4, p. 355–364, 2005.

OPREA, M.; AGULIAR, L.; WILSON, D. E. ***Anoura caudifer* (Chiroptera: Phyllostomidae).** Mammalian Species, n. 844, p. 1-8, 2009.

PAKSUZ, E. P. **The effect of hibernation on the morphology and histochemistry of the intestine of the greater mouse-eared bat, *Myotis myotis*.** Acta Histochemica, v. 116, n. 8, p. 1480-1489, 2014.

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.

PATEL, N. D. et al. **Brunner's gland hyperplasia and hamartoma: imaging features with clinicopathologic correlation.** AJR. American Journal of Roentgenology, v. 187, n. 3, p. 715-722, 2006.

PEREIRA, M. J. R.; MARQUES, J. T.; PALMEIRIM, J. M. **Ecological responses of frugivorous bats to seasonal fluctuation in fruit availability in Amazonian forests.** Biotropica, v. 42, n. 6, p. 680-687, 2010.

PRICE, E. R.; BRUN, A.; CAVIEDES-VIDAL, E.; KARASOV, W. H. **Digestive adaptations of aerial lifestyles.** *Physiology*, v. 30, p. 69–75, 2015.

REIS, N. R. dos et al. **Riqueza de espécies de morcegos (Mammalia, Chiroptera) em dois diferentes habitats, na região centro-sul do Paraná, sul do Brasil.** *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 23, n. 3, p. 813-816, 2006.

REIS, N. R. dos et al. **Morcegos do Brasil.** 1. ed. Londrina: Editora da Universidade Estadual de Londrina, p. 17-23, 2007.

RHODES, J. M. et al. **Faecal mucus degrading glycosidases in ulcerative colitis and Crohn's disease.** *Gut*, v. 26, n. 8, p. 761-765, 1985.

ROSWAG, A.; BECKER, N. I.; ENCARNAÇÃO, J. A. **Inter-and intraspecific comparisons of retention time in insectivorous bat species (Vespertilionidae).** *Journal of Zoology*, v. 288, n. 2, p. 85-92, 2012.

RUGHETTI, M.; TOFFOLI, R. **Sex-specific seasonal change in body mass in two species of vespertilionid bats.** *Acta Chiropterologica*, v. 16, n. 1, p. 149-155, 2014.

SÁNCHEZ, M. S. et al. **Seasonal patterns in the diet of frugivorous bats in the subtropical rainforests of Argentina.** *Mammalia*, v. 76, n. 3, p. 269-275, 2012.

SAZIMA, I. **Observations on the feeding habits of phyllostomatid bats (*Carollia*, *Anoura*, and *Vampyrops*) in southeastern Brazil.** *Journal of Mammalogy*, v. 57, n. 2, p. 381-382, 1976.

SCILLITANI, G. et al. **Lectin histochemistry of gastrointestinal glycoconjugates in the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum* (Schreber, 1774).** *Acta Histochemica*, v. 109, n. 5, p. 347-357, 2007.

SELIM, A.; NAHAS, E. E. **Comparative histological studies on the intestinal wall between the prenatal, the postnatal and the adult of the two species of Egyptian bats. Frugivorous *Rousettus aegyptiacus* and insectivorous *Taphozous nudiventris*.** *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 70: 25-32, 2015.

SHEAHAN, D. G.; JERVIS, H. R. **Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances.** *American Journal of Anatomy*, v. 146, n. 2, p. 103-131, 1976.

SILVA, C. H. S. et al. **Comparative study on the small and large intestines of the bats *Artibeus planirostris* and *Diphylla ecaudata*: influence of food habits on morphological parameters.** *Acta Chiropterologica*, v. 22, n. 2, p. 435-448, 2020.

SIMMONS, N. B.; CIRRANELLO, A. L. **Bat Species of the World: A taxonomic and geographic database.** 2018. <http://batnames.org>. Acessado em 19/03/2020.

SOLMSEN, E. H. **New world nectar-feeding bats: biology, morphology and craniometric approach to systematics.** *Zoologisches Forschungsinstitut*, 1998.

SOMMERS, A. S.; ROGERS, E. J.; MCGUIRE, L. P. **Migration and reproduction are associated with similar degrees of phenotypic flexibility in an insectivorous bat.** *Oecologia*, v. 190, n. 4, p. 747–755, 2019.

SOUSA, A. F. R. **Morfofisiologia comparada do trato gastrointestinal de três espécies de morcegos com hábitos alimentares diferentes.** Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal de Viçosa, p. 78, 2021.

STROBEL, S. et al. **Histological and histochemical analysis of the gastrointestinal tract of the common pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*).** *European Journal of Histochemistry*: EJH, v. 59, n. 2, p. 2477, 2015.

TEDMAN, R. A.; HALL, L. S. **The morphology of the gastrointestinal tract and food transit time in the fruit bats *Pteropus alecto* and *P. poliocephalus* (Megachiroptera).** *Australian Journal of Zoology*, v. 33, p. 625-640, 1985.

TEIXEIRA, S. C.; PERACCHI, A. L. **Morcegos do Parque Estadual da Serra da Tiririca, Rio de Janeiro, Brasil (Mammalia, Chiroptera).** *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 13, p. 61-66, 1996.

THOMAS, D. W. **Fruit intake and energy budgets of frugivorous bats.** *Physiological zoology*, v. 57, n. 4, p. 457-467, 1984.

TSCHAPKA, M. **Reproduction of the bat *Glossophaga commissarisi* (Phyllostomidae: Glossophaginae) in the Costa Rican rain forest during frugivorous and nectarivorous periods.** *Biotropica: The Journal of Biology and Conservation*, v. 37, n. 3, p. 409-415, 2005.

UIEDA, W. et al. **Fruits as unusual food items of the carnivorous bat *Chrotopterus auritus* (Mammalia, Phyllostomidae) from southeastern Brazil.** *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 24, p. 844-847, 2007.

van CAKENBERGHE, V.; HERREL, A.; AGUIRRE, L. F. **Evolutionary relationships between cranial shape and diet in bats (Mammalia: Chiroptera).** *Topics in functional and ecological vertebrate morphology*, p. 205–236, 2002.

VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, G. **Plasticidad digestiva estacional del murciélago nectarívoro *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae: Glossophaginae).** Tesis de Maestría presentada a la Universidad Nacional Autónoma de México, p. 9-40, 2016.

VENDITTI, C.; MEADE, A.; PAGEL, M. **Multiple routes to mammalian diversity.** *Nature*, v. 479, n. 7373, p. 393–396, 2011.

VOIGT, C. C.; SPEAKMAN, J. R. **Nectar-feeding bats fuel their high metabolism directly with exogenous carbohydrates.** *Functional ecology*, v. 21, n. 5, p. 913–921, 2007.

von HELVERSEN, OTTO; WINTER, Y. **Glossophagine bats and their flowers: costs.** *Bat Ecology*, P. 346, 2003.

WAN-LONG, Z. et al. **Seasonal variations of body mass, thermogenesis and digestive tract morphology in *Apodemus chevrieri* in Hengduan mountain region.** *Animal biology* (Leiden, Netherlands), v. 62, n. 4, p. 463–478, 2012.

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

## Artigo 2

### “Efeitos da sazonalidade sobre o estado nutricional e metabolismo energético do morcego nectarívoro *Anoura caudifer* (Chiroptera: Phyllostomidae)”

**Carlos Henrique de S. Silva | Rafael Lucas O. Silva | Pedro Henrique C. Neves | Stella Bicalho Silva | Gustavo Oliveira Rocha | Kaique F. de Macedo | Kemilli P. Gregório | Juliano Alfenas S. V. Paes | Guilherme Ciniciato T. Garbino | Mariella Bontempo D. de Freitas | Oswaldo Pinto Ribeiro Filho | Sirlene Souza R. Sartori**

#### Resumo

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a sazonalidade sobre o metabolismo energético e nutricional do morcego *A. caudifer*, relacionados com as variações na dieta. Para isso, determinamos as concentrações de glicose, glicogênio hepático e muscular, teores de proteína bruta, gordura corporal e matéria seca e índices corporais, em machos e fêmeas, comparados entre as estações chuvosa e seca. Os animais da estação chuvosa obtiveram um valor médio de glicose de 121,17 mg/dL, e de glicogênio hepático de 41,03  $\mu\text{mol-1glicosil- units/g}$ , sendo significativamente maiores. Para os teores de proteína bruta, gordura corporal e matéria seca, não houve diferença estatística, porém, diferenças notáveis em proteína e gordura podem ter implicações fisiológicas, como investimento reprodutivo nas fêmeas. As altas concentrações de glicose e glicogênio hepático, na estação chuvosa, sugerem que esta espécie encontra condições favoráveis de disponibilidade, abundância e variabilidade de alimentos, nesse período. Para a proteína bruta, diferenças entre machos e fêmeas, em ambas as estações, podem se relacionar com reservas de energia disponíveis no período de escassez de alimentos durante a estação seca. O teor de gordura corpórea das fêmeas foi encontrado somente na estação chuvosa. A presença de gordura pode estar relacionada com a alta taxa glicêmica, além de uma maior disponibilidade de alimento que permitiu essa deposição, o que pode estar relacionado com período reprodutivo. Apenas o índice hepatossomático teve aumento significativo na estação chuvosa, relacionando-se diretamente com o glicogênio e maior disponibilidade alimentar nesse período.

**Palavras-chave:** Dieta. Gordura. Glicogênio. Proteína Bruta. Glicose.

## 1. Introdução

Morcegos nectarívoros (Phyllostomidae: Glossophaginae) evoluíram para lidar com os altos custos do voo, e o seu rápido metabolismo necessita de uma fonte combustível que seja rapidamente digerida e oxidada, para suportar o trabalho muscular durante o forrageamento pairado (Voigt e Speakman, 2007). O néctar é um recurso alimentar constituído quase inteiramente por frutose e glicose (Baker et al., 1998; Agostini et al., 2011); sendo absorvido no intestino delgado, principalmente por via paracelular, uma adaptação para maior eficiência de assimilação dos açúcares, além de ser econômico energeticamente (Rodriguez-Peña et al., 2016; Welch Jr et al., 2018).

Os carboidratos são de importância majoritária para esses animais, e a manutenção das concentrações de glicose sanguínea, somada a uma ingestão adequada de néctar, é um processo chave para a sobrevivência. Essa regulação é realizada por meio da glicogênese e glicogenólise hepática e muscular pela ação principalmente dos hormônios pancreáticos e, no caso da alta glicemia pós-prandial, o exercício do vôo é elemento chave no controle glicêmico, já que a insulina por si só não consegue evitar a hiperglicemia que ocorre nesse período (Kelm et al., 2011; Peng et al., 2017). Em relação ao período de jejum, como as reservas de glicogênio e lipídeo são pouco investidas, o fornecimento de energia e a sobrevivência de algumas espécies de morcegos é comprometida quando de um jejum superior a 24 h (Amaral et al., 2019).

O néctar constitui grande parte da alimentação dos morcegos nectarívoros, porém, a demanda corporal exige a aquisição de fontes proteicas, minerais e lipídicas, as quais podem ser encontradas por meio da ingestão de pólen, insetos, folhas, estruturas florais e frutos (Howell, 1974; Gardner, 1977; Cordero-Schmidt et al., 2017).

Os teores de proteína e gordura corporais podem sofrer oscilações relacionadas a eventos de migração, hibernação, reprodução ou sazonalidade de recursos, como já descrito para várias espécies de morcegos (Reynolds e Kunz, 2000; Srivastava e Krishna, 2008; McGuire et al., 2013; Jonasson et al., 2016; Sommers et al., 2019).

Os estudos de composição corporal baseiam-se nos teores de massa gordurosa e não-gordurosa, sendo esta última constituída pelos conteúdos de proteína e água (Demling, 2009). Embora os conteúdos de proteína mudem

sazonalmente, a deposição e mobilização de gordura podem ter um impacto maior na composição e massa corporais (Torbit et al., 1985; Huot, 1989; Arévalo et al, 1990; Virgl e Messier, 1992).

Em diversos ecossistemas, com diferentes períodos de sazonalidade, a pluviosidade, incidência solar, humidade e temperatura são potenciais influenciadoras da distribuição e abundância dos recursos alimentares para os animais (Wyatt et al, 1992; Tutin e Fernandez, 1993; Ortiz et al., 2006; Supriya et al., 2019).

Em florestas tropicais, geralmente a estação chuvosa é caracterizada pela época de frutificação e abundância de insetos, enquanto a estação seca é acompanhada pela floração com produção de néctar, embora a sazonalidade seja minoritária nesses ambientes (Heithaus e Fleming, 1975; Kishimoto-Yamada e Itioka, 2015).

O morcego-focinhudo *Anoura caudifer* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1818), amplamente distribuído pela mata atlântica do sudeste do Brasil (Weber e Grelle, 2012), compreende uma das 36 espécies dos 15 gêneros de morcegos neotropicais Glossophaginae (Gregorin e Ditchfield, 2005; Simmons e Cirranello, 2018), subfamília representada por especialistas no consumo de néctar e em voo pairado, e que dispõe de uma língua longa e extensível, com muitas papilas em forma de escova (Norberg et al., 1993; Winter e von Helversen, 2003). Além de néctar, *A. caudifer* também complementa sua dieta com pólen, insetos e frutos, de acordo com a estação do ano, assim como outros membros desse táxon (Sazima, 1976; Gardner, 1977; Teixeira e Peracchi, 1996; Zortéa, 2003; e Barros et al., 2013).

O morcego da espécie *A. caudifer* pode ser um modelo fidedigno para o conhecimento de como a sazonalidade de recursos alimentares pode alterar a sua fisiologia e estado nutricional, por contribuir para a identificação de possíveis gargalos morfofisiológicos e nutricionais causados pelas mudanças de dieta. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a sazonalidade sobre o metabolismo energético e composição corporal em *A. caudifer*, relacionados com as variações na dieta; comparando animais coletados nas estações chuvosa e seca em um fragmento de mata atlântica no sudeste do Brasil.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.2. Animais e procedimentos experimentais**

Animais adultos de *Anoura caudifer* (n=14), dentre 9 machos e 5 fêmeas não grávidas, foram coletados em uma área de plantação de bananeiras, pertencente à Universidade Federal de Viçosa – UFV, Minas Gerais, Brasil (20°45'37"S e 42°52'4"W), próxima a uma área remanescente de Mata Atlântica. Os indivíduos foram capturados por meio de redes de neblina, durante os meses de março-abril (estação chuvosa) e junho-julho (estação seca) no ano de 2021, sendo sete indivíduos em cada estação.

Os indivíduos capturados foram identificados utilizando-se um livro guia de campo (Díaz et al., 2016) e acondicionados dentro de bolsas de tecido, pesados com balança do tipo pesola e, posteriormente, retirados das bolsas de tecido para as medidas de antebraço e do corpo, feitas com fita métrica. No momento das biometrias, os animais receberam dose única de solução de água com 10% de açúcar para evitar que morressem antes da eutanásia. Em seguida, os animais, dentro das bolsas de tecido, foram transportados até o Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros (UFV), onde foi realizada a eutanásia, por meio de decapitação em guilhotina. Fígado e músculos peitorais maiores foram fragmentados em duas porções, sendo uma incluída em solução de hidróxido de potássio a 30% para determinação de glicogênio, e a outra conservada em ultrafreezer a -80°C e liofilizada para determinação de gorduras, proteínas e matéria seca.

Todos os procedimentos de campo e de experimentação com os animais foram aprovados pelo Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade – ICMBio (licença 78020-1) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFV (1054/2021), respectivamente. Os procedimentos de campo e laboratório foram seguidos de acordo com os protocolos utilizados no Laboratório de Ecofisiologia de Quirópteros (UFV).

### **2.3. Determinação da glicemia**

A glicemia foi determinada pela coleta do sangue extravasado dos vasos sanguíneos cervicais, após a decapitação dos morcegos. As gotas de sangue foram coletadas diretamente do corte cervical, através de fitas reagentes e lidas em um dispositivo eletrônico (glicosímetro).

#### **2.4. Determinação do glicogênio hepático e muscular**

O glicogênio do fígado e do músculo peitoral maior foi determinado a partir de porções desses tecidos ( $\geq 200$  mg) mantidas em hidróxido de potássio (KOH-30%) por 24 h. Posteriormente, as amostras foram hidrolisadas em banho-maria fervente por 1 h e, em seguida, adicionadas 5 gotas de sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) saturado. Logo após, os tubos com a solução foram centrifugados a 2000 rpm por 10 min, para então descartar o sobrenadante. A dosagem do glicogênio hepático e muscular foi realizada pelo método calorimétrico, segundo Sjörgren et al. (1938). Os resultados obtidos foram convertidos para  $\mu\text{mol}^{-1}$  glicosil- units/g.

#### **2.5. Determinação de matéria seca, proteína bruta e gordura**

As amostras de fígado, músculo esquelético, gordura escapular ( $\geq 2$  g), membrana alar e pele corporal ( $\geq 2$  g) foram acondicionadas em ultrafreezer a  $-80$  °C (CL374-80V), liofilizadas a vácuo (Liofilizador Liotop) (método INCT-CA G-003/1) e a composição de cada item corporal foi determinada conforme metodologias descritas por Detmann et al. (2012) e aprovadas pela AOAC (2016).

O conteúdo de matéria seca (MS), de porções do fígado ( $\geq 200$  mg) e músculo ( $\geq 2$  g), foi estimado pelo peso das amostras após a liofilização. A porcentagem de proteína bruta (PB) do fígado e do músculo foram obtidas por meio do método de Kjeldahl (método INCT-CA N-001/1; Detmann et al., 2012), o qual consiste na digestão das amostras aquecidas em ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); em seguida da destilação com a adição de hidróxido de sódio concentrado (NaOH) aquecido, para que houvesse a liberação da amônia em solução de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>). Em seguida, foi realizada a titulação do borato de amônio formado com uma solução de ácido clorídrico (HCl), quantificando-se a concentração de nitrogênio das amostras.

As concentrações de gordura bruta do fígado, gordura da cintura escapular, gorduras subcutâneas corporal e da membrana alar foram determinadas através do método de Randall (método INCT-CA G-005/1; Detmann et al., 2012), baseado na avaliação do teor do extrato etéreo (EE). Esse método consiste na submersão das amostras em cartuchos de celulose em éter de petróleo, mantidos até a ebulição deste solvente por 30 min, ao final, foi quantificada a gordura extraída por diferença de peso das amostras antes e depois da extração.

## 2.6. Índices somáticos

Afim de inferir sobre o investimento em massa de órgãos, como forma de utilização adequada de energia corporal, foram calculados os índices hepatossomático – IHS, viscerossomático – IVS (considerando intestino, estômago, fígado, pâncreas, rins, baço, coração e pulmões), e lipossomático – ILS (considerando a gordura escapular, gordura subcutânea corporal e gordura subcutânea membranar), sendo expressos em porcentagem. Os índices foram calculados com base nas seguintes fórmulas:

$$\text{IHS} = \frac{\text{peso do fígado}}{\text{peso corporal}} \times 100 \qquad \text{IVS} = \frac{\text{peso das vísceras}}{\text{peso corporal}} \times 100$$

$$\text{ILS} = \frac{\text{peso da gordura corporal}}{\text{peso corporal}} \times 100$$

## 2.7. Análise estatística

Para a determinação do glicogênio hepático e muscular, bem como para a concentração de glicose, foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e comparadas as médias dos animais de cada estação com um teste t de Student, considerando um intervalo de confiança de 95% ( $p=0,05$ ), utilizando o software SigmaPlot® 14.0 para a análise dos dados, e estes estão representados como média  $\pm$  desvio padrão.

Para o teor de matéria seca, proteína bruta e gordura, bem como para o IHS, IVS e ILS, dividimos os animais em quatro grupos experimentais (4 machos da estação seca, 5 machos da estação chuvosa, 3 fêmeas da estação seca, 2 fêmeas da estação chuvosa), onde foram comparadas as médias por estação e por sexo. Posteriormente, foram analisados os dados com ANOVA two-way factorial, no software SigmaPlot® 14.0, onde sexo e estação foram as variáveis independentes.

## 3. Resultados

Durante a execução das coletas, foram coletados dados pluviométricos, com informações do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) do Brasil. A região municipal de Viçosa-MG obteve o maior volume de chuva acumulada no mês de março (120 mm) e menor precipitação, na estação seca, no mês de julho (10 mm).

As coletas dos animais foram mais difíceis na estação chuvosa, impondo um esforço de captura maior nessa época. Na estação seca, os animais caíram nas redes mais frequentemente, exigindo um esforço de captura menor.

O peso corporal de *A. caudifer* foi significativamente maior na estação chuvosa, com  $11,04 \pm 1,01$  g, comparado à estação seca, o qual foi de  $10,14 \pm 1,00$  g ( $P = 0,037$ ). As medidas de comprimento cabeça-corpo também resultaram em diferença estatisticamente significativa, sendo maior na estação chuvosa, com  $7,17 \pm 0,40$  cm, que na estação seca, com  $6,07 \pm 0,66$  cm ( $P = 0,026$ ). O comprimento do antebraço não resultou em diferença estatística entre as estações.

### 3.1. Glicose sanguínea

Os animais da estação chuvosa obtiveram um valor médio de glicose de  $121,17 \pm 55,88$  mg/dL, o qual foi estatisticamente maior em relação aos animais da estação seca, com  $23,14 \pm 14,86$  mg/dL ( $P = 0,0147$ ) (Tabela 4).

### 3.2. Glicogênio hepático e muscular

O glicogênio hepático de *A. caudifer* resultou no valor de  $41,03 \pm 16,52$   $\mu\text{mol}^{-1}$ glicosil- units/g, na estação chuvosa, obtendo diferença estatística em relação aos animais da estação seca, com  $10,97 \pm 7,86$   $\mu\text{mol}^{-1}$ glicosil- units/g. ( $P = 0,011$ ). Enquanto o glicogênio muscular não apresentou diferença estatística entre as estações chuvosa e seca (Tabela 4).

Tabela 4. Níveis de glicose sanguínea, glicogênio hepático e muscular do morcego *Anoura caudifer*, nas estações chuvosa e seca

	Estação chuvosa	Estação seca
Glicose sanguínea (mg/dL)	$121,17 \pm 55,88^a$	$23,14 \pm 14,86^b$

Glicogênio hepático	( $\mu\text{mol}^{-1}$ glicosil-	41,03 $\pm$ 16,52 <sup>a</sup>	10,97 $\pm$ 7,86 <sup>b</sup>
units/g)			
Glicogênio muscular	( $\mu\text{mol}^{-1}$ glicosil-	11,76 $\pm$ 6,69 <sup>a</sup>	7,15 $\pm$ 3,33 <sup>a</sup>
units/g)			

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste t ( $p < 0,05$ ).

### 3.3. Teores de matéria seca e proteína bruta nos músculos

Os teores de matéria seca e proteína bruta nos músculos de machos e fêmeas de *A. caudifer* estão representados nas Tabela 5. Não ocorreram diferenças estatísticas para o teor de matéria seca e proteína bruta nos tecidos analisados, entre os sexos e entre as estações chuvosa e seca.

Tabela 5. Percentuais de matéria seca e proteína bruta nos músculos corporais de machos e fêmeas do morcego *Anoura caudifer* nas estações chuvosa e seca

		Músculos	
Estação	Sexo	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%)
Chuvosa	Macho	33,65	55,87
	Fêmea	35,56	61,78
Seca	Macho	33,77	52,95
	Fêmea	33,91	62,51

Não houve diferença estatística entre os sexos e entre as estações pelo teste ANOVA two-way factorial.

### 4.4. Teores de matéria seca, proteína bruta e gordura bruta no fígado

Teores de matéria seca (%), proteína bruta (%) e gordura bruta (%) no fígado de machos e fêmeas de *A. caudifer*, nas estações chuvosa e seca, foram apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Percentuais de matéria seca, proteína bruta e gordura do fígado de machos e fêmeas do morcego *Anoura caudifer* nas estações chuvosa e seca

Fígado	
--------	--

Estação	Sexo	Matéria seca (%)	Proteína bruta (%)	Gordura bruta (%)
Chuvosa	Macho	36,11	49,04	8,00
	Fêmea	28,67	60,84	5,15
Seca	Macho	27,46	58,59	6,89
	Fêmea	24,36	64,88	11,25

Não houve diferença estatística entre os sexos e entre as estações pelo teste ANOVA two-way factorial.

#### 4.5. Teores de matéria seca da gordura corporal

Teores de matéria seca da gordura corporal (gordura da cintura escapular, gordura subcutânea corporal e gordura subcutânea membranar) de machos e fêmeas de *A. caudifer*, nas estações chuvosa e seca, foram apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Percentuais de matéria seca das gorduras escapular e subcutâneas (corporal e membranar) de machos e fêmeas do morcego *Anoura caudifer* nas estações chuvosa e seca

Matéria seca da gordura corporal				
Estação	Sexo	Gordura escapular (%)	Gordura subcutânea corporal (%)	Gordura subcutânea membranar (%)
Chuvosa	Macho	22,99	41,21	33,42
	Fêmea	52,31	50,55	39,62
Seca	Macho	47,36	47,44	31,73
	Fêmea	-	44,01	49,13

Não houve diferença estatística entre os sexos e entre as estações pelo teste ANOVA two-way factorial.

#### 4.6. Índices corporais

Os índices hepatossomático (IHS), viscerossomático (IVS) e lipossomático (ILS) estão representados na Tabela 8. O IHS foi significativamente diferente para os machos, sendo maior na estação chuvosa ( $P = 0,032$ ).

Tabela 8. Índices corporais de machos e fêmeas de *Anoura caudifer*, nas estações chuvosa e seca

		Índices Somáticos		
Estação	Sexo	Índice hepatossomático (%)	Índice viscerossomático (%)	Índice lipossomático (%)
Chuvosa	Macho	2,88 ± 1,07 <sup>a</sup>	16,92 ± 7,81	1,49 ± 1,12
	Fêmea	3,73 ± 0,76	12,03 ± 0,33	0,95 ± 0,48
Seca	Macho	1,94 ± 0,25 <sup>b</sup>	13,25 ± 1,54	0,42 ± 0,18
	Fêmea	2,00 ± 0,46	15,13 ± 2,17	0,39 ± 0,39

Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste ANOVA two-way factorial.

## 4. Discussão

### 4.1. Glicose sanguínea

As altas concentrações de glicose do morcego *Anoura caudifer* na estação chuvosa sugerem que esta espécie encontra condições favoráveis de disponibilidade de alimento, além de indicar um bom estado fisiológico dos animais durante esse período, favorecendo seu crescimento e sua reprodução, além de permitir o acúmulo de reservas energéticas para períodos de jejum e momentos menos favoráveis como na estação seca. Logo, a abundância e diversidade de insetos, frutos e outros materiais vegetais pode contribuir para um maior estado glicêmico, como já descrito em morcegos frugívoros, insetívoros e nectarívoros (Pinheiro et al., 2006; Freitas et al., 2010; Melo et al., 2012; Amaral et al., 2019). A menor glicemia durante o período de seca está relacionada à disponibilidade de alimentos, pois as floradas são escassas, assim como a frutificação e a presença de insetos. Provavelmente, a escassez de alimentos leva os animais a forragearem com maior frequência e longe do seu local de abrigo, aumentando o gasto energético e diminuindo a quantidade de glicose na corrente sanguínea. Logo, embora o néctar seja um alimento rico em açúcares, os animais da estação seca, que possivelmente utilizam este item alimentar como o principal recurso da sua dieta, consomem rapidamente a glicose absorvida. Castro et al. (2021) relataram mudanças na homeostase da glicose em *A. caudifer*,

com aumento da glicemia ao ingerir glicose e diminuição após exercício. Isso sugere que as concentrações de glicose no sangue dependem do nível de movimentação dos animais.

O destino da glicose no sangue é ser consumida pelos vários tipos celulares e armazenada na forma de glicogênio e gordura pelos tecidos de reserva (fígado, músculo e tecido adiposo), através de estimulação hormonal pela insulina (Tirone e Brunicardi, 2001). Além disso, sabe-se que condições patológicas, como a diabetes mellitus, podem se estabelecer em razão de uma alta ingestão de glicose (Giugliano et al., 2008), e os morcegos nectarívoros evitam tal condição abastecendo o seu voo diretamente com a glicose ingerida, além de a armazenarem na forma de glicogênio (Freitas et al., 2006; Voigt e Speakman, 2007). Ou seja, o controle da glicemia depende da atividade de voo desses animais nectarívoros, assim como o voo depende da rápida disponibilidade da glicose no sangue.

#### **4.2. Glicogênio hepático e muscular**

As altas concentrações de glicogênio armazenadas no fígado possibilitam afirmar que os animais coletados na estação chuvosa possuíam um bom estado nutricional, e que a disponibilidade, abundância e variabilidade de alimentos nesse período contribuíram para o acúmulo de reservas energéticas, tal como discutido no tópico anterior. As altas concentrações de glicogênio hepático também podem refletir em investimento energético para a reprodução que, na espécie utilizada neste estudo, aparentemente acontece no período chuvoso (presença de fêmeas lactantes, que apresenta maior aporte e diversidade de recursos alimentares).

O fígado é o órgão metabólico responsável pelo armazenamento e disponibilização da glicose no sangue, ao contrário dos músculos esqueléticos, os quais armazenam carboidratos na forma de glicogênio, porém, essa reserva energética é disponibilizada inteiramente para a atividade muscular (Greenberg et al., 2006; Stapleton et al., 2010). Isso pode explicar o porquê dos músculos não sofrerem variações sazonais na quantidade de glicogênio em *A. caudifer*, no nosso estudo.

Alguns pesquisadores relatam a influência dos hábitos alimentares dos morcegos com o armazenamento de glicogênio. Morcegos insetívoros e hematófagos, adaptados ao consumo de altas quantidades de proteína, conseguem armazenar uma quantidade inferior de glicogênio, devido a sua alimentação pobre em carboidratos

(Freitas et al., 2005; 2010). Os morcegos nectarívoros, como *Glossophaga soricina*, investem pouco nas reservas energéticas de glicogênio, e correm o risco de não sobreviverem ao jejum de 24h (Amaral et al., 2019).

Alguns pesquisadores também relatam a influência do padrão de atividade de voo dos morcegos com o armazenamento de glicogênio. Variações diurnas na concentração de glicogênio hepático e muscular já foram observadas em morcegos, como no frugívoro *Eidolon helvum*, cujas concentrações de glicogênio mudaram durante o dia (Okon et al., 1977). Segundo estes autores, *E. helvum* pode mobilizar a reserva de glicogênio nos intervalos em que não está forrageando à noite ou quando está em jejum durante o dia. Castro et al. (2021), analisando as reservas de glicogênio em *A. caudifer*, alimentados com glicose e colocados para exercitar, não relataram mobilização de suas reservas após exercício do voo, evidenciando o papel da ingestão e utilização de carboidratos exógenos para fornecer energia durante o voo.

Na estação seca, uma alternativa no metabolismo da glicose pode ter influenciado na menor concentração de glicogênio hepático, como a conversão de glicose em gordura durante o dia, uma vez que esse substrato constitui uma fonte de energia fisiologicamente importante para o voo de morcegos (Okon et al., 1977), assim como uma forma de controle da glicemia.

#### **4.3. Teores de matéria seca, proteína bruta e gordura**

Estatisticamente não ocorreram diferenças significativas nas porcentagens de matéria seca e de proteína nos músculos de *A. caudifer*, entre as estações chuvosa e seca. Porém, a diferença aparente dos valores de proteína bruta (PB) entre machos e fêmeas, em ambas as estações, pode se relacionar à reserva adicional de energia nas fêmeas, cujo empenho energético para a reprodução e manutenção da prole é grande. Ainda, se as fêmeas precisam de mais energia, certamente seu tempo de forrageamento é maior, o que pode repercutir em ganho de massa muscular pelo exercício do voo.

Embora não tenha sido estatisticamente significativa as diferenças nos teores de gordura entre sexo e entre estações, a quantidade de gordura escapular nas fêmeas tendeu a ser maior que nos machos na estação chuvosa, o que reflete os elevados gastos energéticos com a reprodução. Os machos da estação seca também tiveram tendência a acumular essa gordura, comparados com os machos do período

chuvoso, sendo sugestiva a utilização da glicose na produção de reservas lipídicas, importantes no fornecimento de energia para o voo, além de ser uma forma de controle da glicemia. Oprea et al. (2009) relataram que o custo energético para o acasalamento no período reprodutivo é alto, já que os machos geralmente formam harém. Por outro lado, nas fêmeas da estação seca não foi encontrado esse tipo de gordura corporal, o que pode indicar diferentes formas de metabolismo energético e de utilização das gorduras entre os sexos, nas diferentes circunstâncias. A deposição de gordura corpórea já foi relacionada ao período reprodutivo em algumas espécies de morcegos, como no insetívoro *Scotophilus heathi*, e ao início do período de lactação, em *Eptesicus fuscus* (McNab, 1976; Hood et al., 2006; Srivastava e Krishna, 2008).

Os teores de gordura subcutânea corporal e membranar, quando somados, revelam quantidade um pouco maior dessas gorduras nos animais da estação seca quando comparados com os da chuvosa. É possível que tais gorduras, pela sua localização, estejam sendo utilizadas para manter a temperatura corpórea e das asas, o que é necessário especialmente no período seco, quando a temperatura do ambiente é menor.

#### **4.4. Índices corporais**

O índice hepatossomático dos machos foi o único em que houve diferença significativa entre as estações chuvosa e seca, sendo a massa hepática maior na estação chuvosa, certamente com aumento de atividade metabólica desse órgão. Isso pode estar relacionado à garantia de reservas energéticas para o período reprodutivo, que, geralmente, ocorre na estação chuvosa (Zortéa, 2003). Nas fêmeas, apesar da ausência de significância estatística, os valores diferentes podem ter importância fisiológica, pois as fêmeas precisam empregar estratégias energéticas para a reprodução e lactação, como já foi observado para o morcego *Molossus molossus* (Hood et al., 2006; Barros et al., 2013). Vale ressaltar que o maior índice hepatossomático encontrado nos animais da estação chuvosa é condizente com os maiores níveis de glicogênio hepático.

O índice viscerossomático não apresentou diferença estatística entre os grupos estudados, porém, valores um pouco diferentes foram observados entre machos de cada estação, podendo refletir variações na disponibilidade de alimentos. Os machos

poderiam aumentar a massa dos órgãos abdominais, na estação chuvosa, devido ao maior fornecimento de nutrientes ingeridos nesse período, o que resulta no crescimento desses órgãos. Nas fêmeas, o inverso ocorreu, podendo significar que o período reprodutivo influenciou no investimento energético para os órgãos abdominais, de modo que as fêmeas pudessem direcionar um maior aporte de nutrientes para a gestação e lactação, assim como para os órgãos reprodutivos. Na estação seca, o aumento do índice viscerossomático pode ser resultado do fim do período reprodutivo, diminuindo o investimento energético e nutricional para essa atividade.

O índice lipossomático também não variou estatisticamente. Entretanto, as características foram semelhantes para machos e fêmeas, no que diz respeito aos maiores valores na estação chuvosa. Tal padrão pode estar relacionado a melhor disponibilidade de recursos nesse período, quando a abundância e diversidade de alimentos permitem a deposição de gordura corporal, e é compatível com os maiores índices hepatossomáticos e maior peso corporal também observados na estação chuvosa.

## **5. Conclusões**

As variações glicêmicas e de proteína bruta e gordura corporal sofrem alterações em seus teores nas estações chuvosa e seca, interferindo nas reservas energéticas do morcego *A. caudifer*. Como também, há variações entre machos e fêmeas, refletindo diferenças no metabolismo energético entre os sexos.

## 6. Referências

- AGOSTINI, K.; SAZIMA, M.; GALETTO, L. **Nectar production dynamics and sugar composition in two *Mucuna* species (Leguminosae, Faboideae) with different specialized pollinators**. *Naturwissenschaften*, v. 98, n. 11, p. 933-942, 2011.
- AMARAL, T. S. et al. **Low energy reserves are associated with fasting susceptibility in Neotropical nectar bats *Glossophaga soricina***. *Brazilian Journal of Biology*, v. 79, p. 165-168, 2019.
- ARÉVALO, F. et al. **Seasonal variations in the lipid composition of white and brown tissues in the bat *Pipistrellus pipistrellus***. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, v. 95, n. 3, p. 535–539, 1990.
- BAKER, H. G.; BAKER, I.; HODGES, S. A. **Sugar composition of nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics 1**. *Biotropica*, v. 30, n. 4, p. 559-586, 1998.
- BARROS, M. A. S.; RUI, A. M.; FABIAN, M. E. **Seasonal variation in the diet of the bat *Anoura caudifer* (Phyllostomidae: Glossophaginae) at the southern limit of its geographic range**. *Acta chiropterologica*, v. 15, n. 1, p. 77–84, 2013.
- CASTRO, D. L. J. et al. **Insulin and glucose regulation at rest and during flight in a Neotropical nectar-feeding bat**. *Mammalian Biology*, v. 101, n. 6, p. 987-996, 2021.
- CORDERO-SCHMIDT, E. et al. **Are leaves a good option in Caatinga's menu? First record of folivory in *Artibeus planirostris* (Phyllostomidae) in the semiarid forest, Brazil**. *Acta Chiropterologica*, v. 18, n. 2, p. 489-497, 2016.
- DEMLING, R. H. **Nutrition, anabolism, and the wound healing process: an overview**. *Eplasty*, v. 9, p. e9, 2009.
- DETMANN, E. et al. **Métodos para Análise de Alimentos - INCT - Ciência Animal**. 1.ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p. 214, 2012.
- DÍAZ, M. M.; SOLARI, S.; AGUIRRE, L. F.; AGUIAR, L. M. S.; BARQUEZ, R. M. **Clave de identificación de los murciélagos de Sudamérica/Chave de identificação dos morcegos da América do Sul**. *Publicación Especial Nro*, v. 2, p. 160, 2016.
- FREITAS, M. B. et al. **Effects of short-term fasting on energy reserves of vampire bats (*Desmodus rotundus*)**. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 140, n. 1, p. 59-62, 2005.
- FREITAS, M. B. et al. **Energy metabolism and fasting in male and female insectivorous bats *Molossus molossus* (Chiroptera: Molossidae)**. *Brazilian Journal of Biology*, v. 70, n. 3, p. 617-621, 2010.

FREITAS, M. B.; WELKER, A. F.; PINHEIRO, E. C. **Seasonal variation and food deprivation in common vampire bats (Chiroptera: Phyllostomidae)**. Brazilian Journal of Biology, v. 66, p. 1051-1055, 2006.

GARDNER, A. L. **Feeding habits**. In: BAKER et al. Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae, Part II. Texas: Texas Tech University Press. p. 293-300, 1977.

Giugliano, D.; Ceriello, A.; Esposito, K. **Glucose metabolism and hyperglycemia**. The American journal of clinical nutrition, v. 87, n. 1, p. 217S-222S, 2008.

GREENBERG, C. C. et al. **Glycogen branches out: new perspectives on the role of glycogen metabolism in the integration of metabolic pathways**. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, v. 291, n. 1, p. E1-E8, 2006.

GREGORIN, R.; DITCHFIELD, A. D. **New genus and species of nectar-feeding bat in the tribe Lonchophyllini (Phyllostomidae: Glossophaginae) from northeastern Brazil**. Journal of Mammalogy, v. 86, n. 2, p. 403-414, 2005.

HEITHAUS, E. R.; FLEMING, T. H.; OPLER, P. A. **Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest**. Ecology, v. 56, n. 4, p. 841-854, 1975.

HOOD, W. R.; OFTEDAL, O. T.; KUNZ, T. H. **Variation in body composition of female big brown bats (*Eptesicus fuscus*) during lactation**. Journal of Comparative Physiology B, v. 176, n. 8, p. 807-819, 2006.

HOWELL, D. J. **Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of chiropterophily**. Comparative biochemistry and physiology part a: physiology, v. 48, n. 2, p. 263-276, 1974.

HUOT, J. **Body composition of the George River caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in fall and late winter**. Canadian Journal of Zoology, v. 67, n. 1, p. 103-107, 1989.

JONASSON, K. A.; GUGLIELMO, C. G. **Sex differences in spring migration timing and body composition of silver-haired bats *Lasionycteris noctivagans***. Journal of Mammalogy, v. 97, n. 6, p. 1535-1542, 2016.

KELM, D. H. et al. **High activity enables life on a high-sugar diet: blood glucose regulation in nectar-feeding bats**. Proceedings of the Royal Society B, v. 278, p. 3490-3496, 2011.

KISHIMOTO-YAMADA, K.; ITIOKA, T. **How much have we learned about seasonality in tropical insect abundance since Wolda (1988)?** Entomological Science, v. 18, n. 4, p. 407-419, 2015.

MCGUIRE, L. P.; FENTON, M. B.; GUGLIELMO, C. G. **Phenotypic flexibility in migrating bats: seasonal variation in body composition, organ sizes and fatty acid profiles**. Journal of Experimental Biology, v. 216, n. 5, p. 800-808, 2013.

MCNAB, B. K. **Seasonal fat reserves of bats in two tropical environments.** Ecology, v. 57, n. 2, p. 332-338, 1976.

MELO, B. E. S. et al. **Energy reserves of *Artibeus lituratus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in two areas with different degrees of conservation in Minas Gerais, Brazil.** Brazilian Journal of Biology, v. 72, p. 181-187, 2012.

NORBERG, U. M. et al. **The cost of hovering and forward flight in a nectar-feeding bat, *Glossophaga soricina*, estimated from aerodynamic theory.** Journal of Experimental Biology, v. 182, n. 1, p. 207-227, 1993.

OKON, E. E. **Functional anatomy of the alimentary canal in the fruit bat, *Eidolon helvum*, and the insect bat, *Tadarida nigeriae*.** Acta Zoologica (Stockholm. Print), v. 58, p. 83-93, 1977.

OPREA, M.; AGULIAR, L.; WILSON, D. E. ***Anoura caudifer* (Chiroptera: Phyllostomidae).** Mammalian Species, n. 844, p. 1-8, 2009.

ORTIZ, E. C. et al. **Seasonality in an evergreen tropical mountain rainforest in southern Ecuador.** Ecotropica (Bonn), v. 12, p. 69-85, 2006.

PENG, X. et al. **Flight is the key to postprandial blood glucose balance in the fruit bats *Eonycteris spelaea* and *Cynopterus sphinx*.** Ecology and Evolution, v. 7, n. 21, p. 8804-8811, 2017.

PINHEIRO, E. C. et al. **Effect of fasting on carbohydrate metabolism in frugivorous bats (*Artibeus lituratus* and *Artibeus jamaicensis*).** Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, v. 143, n. 3, p. 279-284, 2006.

REYNOLDS, S.; KUNZ, T. H. **Changes in body composition during reproduction and postnatal growth in the little brown bat, *Myotis lucifugus* (Chiroptera: Vespertilionidae).** Ecoscience, v. 7, n. 1, p. 10-17, 2000.

SAZIMA, I. **Observations on the feeding habits of phyllostomatid bats (*Carollia*, *Anoura*, and *Vampyrops*) in southeastern Brazil.** Journal of Mammalogy, v. 57, n. 2, p. 381-382, 1976.

SIMMONS, N. B.; CIRRANELLO, A. L. **Bat Species of the World: A taxonomic and geographic database.** 2018. <http://batnames.org>. Acessado em 19/03/2020.

SJÖRGREN, B. et al. **Beitrag zur kenntnis der leberhythmik (glykogen, phosphor und calcium in der kaninchenleber).** Pflügers Archiv für die Gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, v. 240, n. 4, p. 427-448, 1938.

SOMMERS, A. S.; ROGERS, E. J.; MCGUIRE, L. P. **Migration and reproduction are associated with similar degrees of phenotypic flexibility in an insectivorous bat.** Oecologia, v. 190, n. 4, p. 747-755, 2019.

SRIVASTAVA, R. K.; KRISHNA, A. **Seasonal adiposity, correlative changes in metabolic factors and unique reproductive activity in a vespertilionid bat, *Scotophilus heathi***. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, v. 309, n. 2, p. 94-110, 2008.

STAPLETON, D. et al. **Analysis of hepatic glycogen-associated proteins**. Proteomics, v. 10, n. 12, p. 2320-2329, 2010.

SUPRIYA, K. et al. **Analysis of tropical and temperate elevational gradients in arthropod abundance**. Frontiers of Biogeography, v. 11, n. 2, 2019.

TEIXEIRA, S. C.; PERACCHI, A. L. **Morcegos do Parque Estadual da Serra da Tiririca, Rio de Janeiro, Brasil (Mammalia, Chiroptera)**. Revista Brasileira de Zoologia, v. 13, p. 61-66, 1996.

TIRONE, T. A.; BRUNICARDI, F. C. **Overview of glucose regulation**. World journal of surgery, v. 25, n. 4, p. 461, 2001.

TORBIT, S. C. et al. **Differential loss of fat and protein by mule deer during winter**. The Journal of wildlife management, p. 80-85, 1985.

TUTIN, C. E.; FERNANDEZ, M. **Relationships between minimum temperature and fruit production in some tropical forest trees in Gabon**. Journal of Tropical Ecology, v. 9, n. 2, p. 241-248, 1993.

VIRGL, J. A.; MESSIER, F. **Seasonal variation in body composition and morphology of adult muskrats in central Saskatchewan, Canada**. Journal of Zoology, v. 228, n. 3, p. 461-477, 1992.

VOIGT, C. C.; SPEAKMAN, J. R. **Nectar-feeding bats fuel their high metabolism directly with exogenous carbohydrates**. Functional ecology, v. 21, n. 5, p. 913-921, 2007.

von Helversen, Otto; Winter, Y. **Glossophagine bats and their flowers: costs**. Bat Ecology, P. 346, 2003.

WEBER, M. M.; GRELE, C. E. V. **Does environmental suitability explain the relative abundance of the tailed tailless bat, *Anoura caudifer***. Natureza and Conservação, v. 10, p. 221-227, 2012.

WELCH JR, K. C. et al. **The metabolic flexibility of hovering vertebrate nectarivores**. Physiology, v. 33, n. 2, p. 127-137, 2018.

WYATT, R.; BROYLES, S. B.; DERDA, G. S. **Environmental influences on nectar production in milkweeds (*Asclepias syriaca* and *A. exaltata*)**. American Journal of Botany, v. 79, n. 6, p. 636-642, 1992.

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

**ANEXO****1- AZUL DE TOLUIDINA**

Azul de toluidina	0,5 g
Borato de sódio	1,0 g
Água destilada	99 ml

Dissolva 1 g de borato de sódio em 99 ml de água destilada e em seguida acrescente 0,5 g de azul de toluidina. Agitar, filtrar e manter em frasco escuro.

Coloração:

Água corrente – 2 minutos

Corante – 15 segundos a 1 minuto

Água corrente – até a diferenciação e retirada do excesso de corante da resina

Secar a temperatura ambiente

Montar

## **2- TÉCNICA COMBINADA AB + PAS MODIFICADA DE BANCROFT & STVENS (1996)**

### **MATERIAL INCLUÍDO EM RESINA**

1. Tratar com solução de azul de Alcian pH 2,5 por cerca de duas horas em estufa a 60 °C
2. Banhos sucessivos em água corrente e depois em água destilada
3. Tratamento com solução aquosa de ácido periódico 1% por 45 minutos
4. Lavar com água destilada
5. Tratar com reativo de Schiff durante cerca de 60 minutos em temperatura ambiente, com a cuba envolvida por uma folha de papel alumínio, a fim de proteger o material da luz
6. Lavar com água corrente durante 5 a 10 minutos
7. Contracorar os núcleos com hematoxilina de Mayer durante 2 minutos
8. Lavar em água corrente
9. Secar as lâminas em temperatura ambiente e montar em Entellan (Merck)

Com esta técnica é possível evidenciar em azul o mucopolissacarídeo ácido e, na cor magenta, o mucopolissacarídeo neutro. Quando houver mistura de ambos, a cor depende do mucopolissacarídeo dominante, podendo variar do azul púrpura ao violeta.

### **3- TÉCNICA DE MASSON-FONTANA/PROTOCOLO DO LABORATÓRIO DE MORFOLOGIA – DBA/UFV**

#### 1. Vidraria utilizada:

- 2 provetas de 100 ml
- 3 Erlenmeyers de 200 ml
- 2 cubas de coloração
- 1 conta-gotas

#### 2. Solução de Nitrato de Prata

- Dissolver 500 mg de nitrato de prata em 100 ml de água destilada
- Separar 10 ml desta solução
- Adicionar hidróxido de amônio gota a gota até que o precipitado marrom desapareça e a solução torne-se ligeiramente turva
- Caso passe do ponto de viragem, ou seja, se ficar incolor, adiciona gota a gota da solução de nitrato de prata até que a solução fique ligeiramente turva
- Filtrar a solução e papel filtro
- Levar a solução em banho-maria a 60º

#### 3. Processamento

- Iniciar a desparafenização e a hidratação
- Colocar a lâminas na solução a 60ºC por uma hora
- Interromper a coloração em água destilada
- Observar ao microscópio. Se houver muita precipitação, fazer o uso do tiossulfato de sódio anidro 5% (5 g para 100 ml de água destilada) por poucos segundos.
- Desidratar e passar rapidamente no Xilol I e II
- Montar as lâminas com Bálsamo do Canadá

### **4- TÉCNICA DE GRIMELIUS/ PROTOCOLO DO LABORATÓRIO DE MORFOFISIOLOGIA – DBA/UFV**

#### 1. Vidraria utilizada:

- 2 provetas de 100ml
- 3 Erlenmeyers de 250ml

- 3 cubas de coloração
2. Lavar as vidrarias:
- Água corrente por 1 hora, em seguida com água destilada três vezes.
3. Pesar os Reagentes:
- AgNO<sub>3</sub> - 80 mg
  - Hidroquinona - 1 g
  - Sulfito de sódio anidro - 5 g
4. Solução de Prata:
- AgNO<sub>3</sub> - 80 mg
  - Tampão acetato pH 5,6 – 0,02 M - 10 ml
  - Água destilada - 90 ml
- 5- Preparo Solução Reveladora
- Deve ser preparada com 30 minutos de antecedência antes de usar e levada ao banho-maria
  - Hidroquinona - 1 g
  - Sulfito de sódio anidro - 5 g
  - Água destilada – 100 ml
- 6- Preparar Banho-maria (60°)
- Duas cubas contendo as soluções enroladas em papel alumínio (uma para o uso e a outra de reserva)
  - Uma cuba vazia para a solução reveladora
- 7- Preparar as Lâminas
- Desparafinizar (Xilol I e II por 15 minutos) e hidratar (Álcool absoluto I e II, 95%, 80% e 70% por três minutos; água destilada por dez minutos)
- 8- Processamento
- Incubar as lâminas na solução de AgNO<sub>3</sub> a 60 °C por 3 h, enroladas em papel alumínio. Controlar ao microscópio após este período
  - Colocar as lâminas na solução reveladora por um minuto

- Interromper a revelação lavando com água destilada
- Desidratar e montar. Permanecer com as lâminas no álcool absoluto e passar rapidamente pelo Xilol I e II.
- Montar as lâminas com Bálsamo do Canadá.