

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

ALEX FILIPE RAMOS DE SOUSA

**MORFOFISIOLOGIA COMPARADA DO TRATO GASTROINTESTINAL DE TRÊS
ESPÉCIES DE MORCEGOS COM HÁBITOS ALIMENTARES DIFERENTES**

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

ALEX FILIPE RAMOS DE SOUSA

**MORFOFISIOLOGIA COMPARADA DO TRATO GASTROINTESTINAL DE TRÊS
ESPÉCIES DE MORCEGOS COM HÁBITOS ALIMENTARES DIFERENTES**

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 Souza Rodrigues Sartori

Coorientadores: Mariella Bontempo D. de Freitas
Clovis Andrade Neves
Reggiani Vilela Gonçalves
Susana Puga Ribeiro

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

T

S725m
2021

Sousa, Alex Filipe Ramos de, 1996-
Morfofisiologia comparada do trato gastrointestinal de três
espécies de morcegos com hábitos alimentares diferentes / Alex
Filipe Ramos de Sousa. – Viçosa, MG, 2021.
76 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 65-72.

1. Morcegos. 2. Dieta. 3. Tubo digestivo. 4. Histologia.
5. Histoquímica. 6. Phyllostomidae. 7. Vespertilionidae.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal.
II. Título.

CDD 22. ed. 599.45

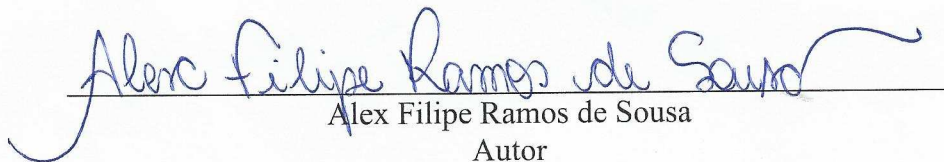
ALEX FILIPE RAMOS DE SOUSA

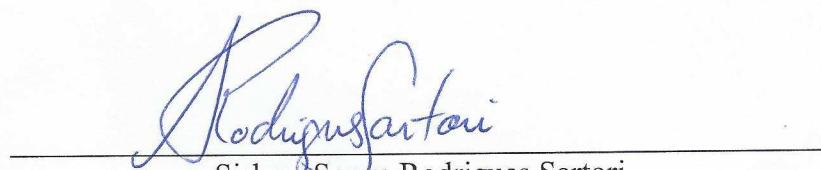
**MORFOFISIOLOGIA COMPARADA DO TRATO GASTRINTESTINAL DE TRÊS
ESPÉCIES DE MORCEGOS COM HÁBITOS ALIMENTARES DIFERENTES**

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: 12 de março de 2021.

Assentimento:


Alex Filipe Ramos de Sousa
Autor


Sirlene Souza Rodrigues Sartori
Orientadora

Dedico este trabalho com amor à minha querida mamãe.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser o Amor.

À minha adorável mãe, a melhor mãe e amiga do mundo. Uma mulher extraordinária. Acredito que este mundo não era digno dela. Dona de um coração puro e de um sorriso largo, sempre encantou a todos a sua volta. Sua trajetória foi marcada pelo amor, bondade e gratidão. Aprendeu a amar a vida e todas as suas formas, e por sua vez, me fez também ser um admirador. Que sorte a minha ter podido partilhar minha vida com a senhora. Como tributo, palavras, atitudes de amor e afeto não seriam suficientes para expressar o quanto eu te amo e sou honrado por lhe pertencer. Muito obrigado por tudo!

À minha preciosa família, que sempre me cercaram de afeto e cuidado. Minha eterna gratidão aos meus pais Alzira e Edésio, meus irmãos Natan, Hellen e Ingride, minhas avós Gracinha e Lília, meu avô Pedro, e aos meus tios e primos. Que sorte a minha ter vocês!

À minha querida orientadora Sirlene, que sempre foi muito agradável, dedicada, atenciosa e paciente. Obrigado por todos ensinamentos.

A todos os amigos de longe e de perto. Carrego vocês com grande carinho.

A todos da equipe do Departamento de Biologia Animal, em especial os amigos do laboratório de Morfologia Animal e de Ecofisiologia de Quirópteros.

Aos laboratórios de Morfologia Animal, Ecotoxicologia Animal, Patologia Experimental, Histologia Animal, Beagle, Núcleo de Microscopia e Microanálise, Biologia Estrutural e Anatomia Vegetal.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal por toda qualidade e excelência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de pesquisa, tornando assim possível este sonho.

*“ Porque onde estiver o seu tesouro, aí estará
também o seu coração. ”*

Mateus 6:21

RESUMO

SOUSA, Alex Filipe Ramos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2021. **Morfofisiologia comparada do trato gastrointestinal de três espécies de morcegos com hábitos alimentares diferentes.** Orientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Coorientadores: Mariella Bontempo Duca de Freitas, Clovis Andrade Neves, Reggiani Vilela Gonçalves e Susana Puga Ribeiro.

As adaptações do trato gastrointestinal dos morcegos a diferentes hábitos alimentares garantiram a estes animais sucesso evolutivo, possibilitando rápido processamento do alimento e satisfatória absorção de nutrientes. Este estudo descreveu e comparou o estômago e intestinos de *Anoura caudifer*, *Artibeus lituratus* e *Myotis nigricans*, três espécies de morcegos com dietas diferentes. Os morcegos foram capturados em fragmentos de Mata Atlântica nos municípios de Bicas e Viçosa em Minas Gerais. Para o processamento histológico, os órgãos foram pesados e seccionados. Amostras dos tecidos foram processadas de acordo com os métodos rotineiros para análise histológica, histoquímica e ultraestrutural. Através dos resultados obtidos, entendeu-se que existem características morfofisiológicas peculiares em cada espécie, revelando adaptações a cada tipo de dieta. O estômago do morcego frugívoro *A. lituratus* se difere por possuir formato triangular, com vestíbulo cárdico, fundo cego proeminente e porção pilórica alongada. Em relação às observações histológicas do estômago, foram identificadas semelhanças entre as espécies, como: aumento da muscular circular interna na região pilórica para a formação do esfíncter gastroduodenal; proeminentes gânglios no plexo mioentérico entre as subcamadas musculares; e mucinas neutras sendo as mais abundantes. Enquanto as diferenças, destaca-se a distribuição celular nas glândulas gástricas nas diferentes regiões; o abundante tecido adiposo na submucosa de *A. lituratus* e as significativas diferenças histométricas nas camadas das regiões gástricas. Não foi identificada diferença macroscópica entre os intestinos delgado e grosso, entretanto, os constituintes dos segmentos, quando comparados entre as diferentes espécies, apresentaram diferenças histométricas significativas. Em sua mucosa, o intestino delgado exibia grandes vilos com diversos formatos ao longo do tubo nas três espécies. Outras características interessantes nestes animais são: presença de células de Paneth em todo o intestino; proeminente borda estriada em toda extensão do tubo intestinal, inclusive no intestino grosso; presença de Placas de Peyer na junção íleo/cólon das três espécies, e no reto, nódulos linfóides em *A. caudifer* e *A. lituratus*. A histoquímica possibilitou observar nos intestinos, as células caliciformes secretando mucinas ácidas, neutras e mistas. As células endócrinas argentafins estavam presentes somente no morcego frugívoro

A. lituratus, todavia as células argirófilas foram encontradas em todas as espécies, com maior representatividade no intestino grosso de *A. lituratus*. As características morfofisiológicas destacadas neste trabalho indicam a otimização na digestão, no processamento e na absorção dos nutrientes pelo trato digestivo, e consequentemente, garantem a estes animais rápida disponibilidade de energia, e rápido esvaziamento do tubo, favorecendo o voo.

Palavras-chave: Dieta. Trato digestivo. Histologia. Histometria. Histoquímica. Phyllostomidae. Vespertilionidae.

ABSTRACT

SOUSA, Alex Filipe Ramos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2021. **Comparative morphophysiology of the gastrointestinal tract of three bat species with different eating habits.** Adviser: Sirlene Souza Rodrigues Sartori. Co-advisers: Mariella Bontempo Duca de Freitas, Clovis Andrade Neves, Reggiani Vilela Gonçalves and Susana Puga Ribeiro.

Adaptations of the gastrointestinal tract of bats to different feeding habits have ensured these evolutionary success, allowing rapid food processing and satisfactory nutrient absorption. This study described and compared the stomach and intestines of *Anoura caudifer*, *Artibeus lituratus* and *Myotis nigricans*, three species of bats with different diets. The bats were captured in Atlantic Forest fragments in the municipalities of Bicas and Viçosa in Minas Gerais. For histological processing, organs were weighed and sectioned. Tissue samples were processed according to routine methods for histological, histochemical and ultrastructural analysis. Through the results obtained, it was understood that there are peculiar morphophysiological characteristics in each species, revealing adaptations to each type of diet. The stomach of the fruit bat *A. lituratus* differs by having a triangular shape, with a cardiac vestibule, prominent blind bottom and elongated pyloric portion. Regarding the histological observations of the stomach, similarities between the species were identified, such as: increased internal circular muscle in the pyloric region for the formation of the gastroduodenal sphincter; prominent ganglia in the myenteric plexus between the muscle sub-layers; and neutral mucins being the most abundant in the stomach of the three species. As the differences, the cellular distribution in the gastric glands in the different regions; the abundant adipose tissue in the submucosa of *A. lituratus* and the significant histometric differences in the layers of the gastric regions stand out. No macroscopic difference was identified between the small and large intestines, however, the constituents of the segments, when compared between the different species, showed significant histometric differences. In its mucosa, the small intestine exhibited large villi with various shapes along the tube in all three species. Other interesting features in these animals are the presence of Paneth cells throughout the intestine; prominent striated border throughout the intestinal tube, including the large intestine; presence of Peyer's patches at the ileum/colon junction in all three species, and in the rectum, lymphoid nodules in *A. caudifer* and *A. lituratus*. Histochemistry made it possible to observe in the intestines the calliciform cells secreting acid, neutral and mixed mucins. The argentaphyne endocrine cells were present only in the fruit bats *A. lituratus*, but argyrophilic cells were found in all species, with higher representation in the

large intestine of *A. lituratus*. The morphophysiological characteristics highlighted in this study indicate the optimization in digestion, processing and absorption of nutrients by the digestive tract, and consequently, guarantee to these animals fast energy availability, and fast emptying of the tube, favoring flight.

Keywords: Diet. Digestive tract. Histology. Histometry. Histochemistry. Phyllostomidae, Vespertilionidae.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4. RESULTADOS	24
4.1. ESTÔMAGO	24
4.1.1. Morfologia	24
4.1.2. Histometria	28
4.1.3. Histoquímica.....	31
4.2. INTESTINOS	34
4.2.1. Morfologia	34
4.2.2. Histometria	41
4.2.3. Histoquímica.....	46
4.2.4. Células enteroendócrinas	50
5. DISCUSSÃO	52
5.1. Estômago	52
5.2. Intestinos.....	56
6. CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXO	73

1. INTRODUÇÃO

Chiroptera é classificada como um grupo bem-sucedido de mamíferos, com aproximadamente 1.386 espécies (Burgin et al., 2018). É a segunda maior ordem em riqueza de espécies caracterizada pelos únicos mamíferos com capacidade de voo, ficando atrás somente dos roedores (Altringham, 2011). Os morcegos atuam em vários serviços ecossistêmicos que beneficiam a sociedade, garantindo segurança alimentar, manutenção e estabilidade ecossistêmica, seja regulando pragas agrícolas, dispersando sementes ou polinizando, assim, economizando bilhões de dólares anualmente na economia mundial (Boyles et al., 2011; Kunz et al., 2011; Maine & Boyles, 2015; Russo et al., 2018; Taylor et al., 2018; Saldaña-Vázquez et al., 2019). Somado a esses benefícios, também são bioindicadores de poluentes ambientais (Zukal et al., 2015; Brinati et al., 2016; Oliveira et al., 2017).

Tais funções ecológicas ocorrem graças a diversidade alimentar dos morcegos. A dieta inclui artrópodes, frutos, néctar, pólen, pequenos mamíferos, répteis, anfíbios, peixes, sangue, flores, e até mesmo sementes e folhagem (Altringham, 2011). As diferenças nos hábitos alimentares refletem em adaptações morfológicas e fisiológicas no trato gastrointestinal dos quirópteros, compondo informações muito importantes para o conhecimento da biologia das espécies (Rouk & Glass, 1970; Bhidé, 1979; Tedman & Hall, 1985; Caviedes-Vidal et al., 2007; Santos et al., 2008).

Reconhecendo a abundância de espécies da ordem Chiroptera, a compreensão sobre a estruturação do tubo digestivo dos morcegos com dietas variadas é uma ferramenta agregaria para diversos estudos morfofisiológicos comparativos, evolutivos e filogenéticos, além de contribuir para a preservação destes animais. Este estudo tem como objetivo descrever a morfologia macro e microscópica e realizar a morfometria comparativa dos constituintes gastrointestinais de *Anoura caudifer*, *Artibeus lituratus* e *Myotis nigricans*, espécies nectarívora, frugívora e insetívora, respectivamente, e relacionar com os processos fisiológicos e adaptativos tendo em vista o hábito alimentar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os morcegos pertencem à ordem Chiroptera, que deriva do grego *cheir* (mão) e *pteron* (asa). Com representantes fósseis datados no Eoceno (Gunnell & Simmons, 2005; Smith et al., 2012), é o grupo de mamíferos com a segunda maior diversidade de espécies encontrada na região neotropical, excedido somente pelos roedores (Voss & Emmons, 1996). Atualmente, totalizam cerca de 1.386 espécies no planeta (Burgin et al., 2018), sendo 181 espécies registradas no Brasil reunidas em 68 gêneros e nove famílias (Nogueira et al., 2014; Garbino et al., 2020).

Estes placentários são cosmopolitas presentes em todos os continentes, exceto na Antártica. A ordem se divide em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera. Os Megachiroptera possuem apenas uma família, a Pteropodidae, e são conhecidas como raposas-voadoras, com espécies distribuídas nas regiões tropicais da África, Austrália e Ásia. Os Microchiroptera possuem ampla distribuição pelo globo, entretanto a região com maior diversidade de espécies é a região Neotropical (Simmons, 2005).

A rápida diversificação e colonização de novos habitats pode ser associada à capacidade de voo, única dentre os mamíferos, além das diferentes estratégias de forrageio e o hábito noturno, que proporcionaram a conquista de diversos nichos, levando a grande abundância e diversidade das espécies (Patterson et al., 2003). À vista disso, se tornaram habilidosos ao se refugiarem em diversos locais, algumas espécies, por exemplo, são encontradas em árvores, cavernas, rochas, cisternas, sótãos, construções abandonadas, entre outros (Greenhall & Paradiso, 1968; Reis, 1981; Reis, et al., 2007). No Brasil, seus principais predadores são répteis e aves (Costa et al., 2016)

Uma das características mais marcantes deste táxon é a ampla riqueza do padrão alimentar, que inclui a frugivoria, nectarivoria, carnivoria, piscivoria, insetivoria, onivoria, sanguivoria (única dentre mamíferos) e combinações mais ou menos generalistas (Reis, et al., 2007). Tendo em vista essas características, os morcegos executam variadas funções e serviços ecossistêmicos associados a diferentes aspectos de seus nichos, sendo importantes na teia alimentar, realizando a ciclagem de nutrientes, dispersão de sementes, polinização e controle de insetos pragas (Patterson et al., 2003; Kunz et al., 2011). Constituem-se também como reservatórios de vírus zoonóticos, por exemplo, da raiva, do ebola e coronavírus (Plowright et al., 2014; Moratelli & Calisher, 2015).

O trato gastrointestinal dos animais pode servir para múltiplas funções, incluindo digestão, absorção, osmorregulação e proteção. Os componentes do trato digestivo dos mamíferos apresentam algumas características estruturais em comum. Trata-se de um tubo oco composto por um lúmen com diâmetro variável, circundado por uma parede formada por quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Junqueira & Carneiro, 2013).

O estômago é um segmento dilatado do trato digestivo que apresenta pregas no seu revestimento interno para uma maior distensão. É responsável pela digestão parcial dos alimentos e secreção de enzimas e hormônios. Sua função principal é transformar o bolo alimentar em uma massa viscosa por meio da atividade muscular e química. Estudos anátomo-histológicos demonstraram que existem variações no estômago de diferentes espécies de morcegos (Forman, 1973), estas variações podem estar intimamente relacionadas com o tipo de alimento consumido, assim como com a quantidade de alimento ingerido e o intervalo entre as refeições. Usualmente o estômago é dividido nas regiões cárdica, fúndica/corpo e pilórica. A mucosa gástrica possui um epitélio simples que reveste as fossetas gástricas nas quais desembocam as glândulas tubulosas. Estas glândulas estão envolvidas por lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo repousada sobre a muscular da mucosa (Rouk & Glass, 1970)

Ito e Winchester (1963) observaram em *Myotis lucifugus* os vários tipos celulares do estômago. As estruturas e tipos celulares são semelhantes à de outros mamíferos, sendo as únicas diferenças em relação ao número e distribuição das células. Nas glândulas são encontrados diferentes tipos celulares, são elas: células mucosas; células parietais; células principais e células enteroendócrinas. As células mucosas são reconhecidas principalmente pelo grande número de grânulos mucosos. As células parietais são grandes, com longos e numerosos microvilos, possuem muitas mitocôndrias e são as produtoras de ácido clorídrico (HCl). Células principais possuem grandes grânulos de zimogênio e têm um retículo endoplasmático granular extensivamente desenvolvido. As células enteroendócrinas também contêm microvilos apicais e numerosos grânulos, mas ao contrário das células pépticas e mucosas, esses grânulos contendo hormônios estão localizados na base da célula.

Rouk e Glass (1970) fizeram comparações histológicas gástricas entre cinco espécies de morcegos, destacando que os morcegos insetívoros *Tadarida brasiliensis*, *Myotis velifer* e *Antrozous pallidus* apresentaram estômago do tipo simples, característica semelhante a diversos outros mamíferos. Entretanto, o estômago do morcego nectarívoro *Leptonycteris sanborni* se difere por ser mais sacular, possivelmente pela necessidade de um maior volume de alimento, além disso, possuía glândulas gástricas tubulares com poucas células principais, característica

válida devido à reduzida ingestão de proteína. Em *Desmodus rotundus* observou-se um fundo cego extenso contendo glândulas acinares e tubuloacinares, tal condição reflete a adequação a quantidade e natureza do alimento consumido, neste caso, o sangue, rico em proteínas.

Os trabalhos de Forman (1971, 1973), com estômagos de diversas espécies de morcegos do Novo Mundo com diferentes hábitos alimentares, revelaram as diversas formas anatômicas e histológicas existentes nesse grupo de animais, correlacionando as diferentes dietas com a estruturação gástrica. Por exemplo, o autor sugere que morcegos que se alimentam de frutas consomem grande quantidade de alimento, e por isso adaptações no aumento do volume gástrico são importantes para tais espécies. Além disso, sugere que há uniformidade em relação à altura da mucosa, ao número de células parietais e principais e na frequência das glândulas pilóricas dentro de grupos de morcegos que se assemelham na alimentação. Todavia, como reportado por Kamiya e Pirlot (1975), existem diferenças entre os morcegos frugívoros do Novo Mundo e os do Velho Mundo.

Entretanto, as espécies insetívoras mostram bastante uniformidade, sugerindo uma relação histórica evolutiva. Os insetívoros normalmente seguem os mesmos padrões adaptativos, a exemplo das espécies *Asellia tridens*, *Chaerephon pumilus*, *Nycteris thebaica* e *Rhinopoma hardwickii*, que exibem estômagos simples. A mucosa do estômago é glandular em todas as espécies, sendo as glândulas gástricas tubulares típicas com a distribuição das células mucosas, parietais e principais não divergente nas regiões cárdica, fúndica e pilórica (Aylward et al., 2019). *Pipistrellus pipistrellus* apresentou um estômago globular simples, sem especialização. Nesta espécie foi realizada análise histoquímica que demonstrou predomínio da secreção de mucossubstâncias neutras (Strobel et al., 2015). Em um estudo histológico e histoquímico do morcego *Miniopterus schreibersii*, Bhide (1979) enfatizou um novo tipo celular, conhecido como células intersticiais da mucosa gástrica, com função desconhecida. Estas células são pequenas, com formato irregular e com pouco citoplasma que se estende formando de dois a três prolongamentos, estão dispostas entre as células parietais e apresentam reação positiva ao PAS.

O intestino delgado apresenta uma mucosa com inúmeras vilosidades que se projetam no lúmen aumentando a área de superfície do tecido disponível para absorção dos nutrientes (Helander & Fändriks, 2014). A ontogenia da superfície absorvente intestinal nos vertebrados ocorre de maneira progressiva, iniciando-se logo após a gastrulação, com a formação e polarização da camada endodérmica. Esta folha endodérmica torna-se então moldada em um tubo epitelial que é cercado por mesoderma. Após a padronização do tubo intestinal, três

processos principais morfogenéticos contribuem para o estabelecimento de uma área de superfície de absorção suficiente para a função intestinal, são eles: alongamento do tubo, presença de projeções geralmente em forma de dedo – vilosidades - e formação de microvilos na superfície apical de cada enterócito (Walton et al., 2016). Embora a aparência microscópica do intestino seja uniforme em todos os morcegos, é interessante considerar que o comprimento e diâmetro intestinais, quantidade e tipos de vilosidades e espessura das camadas musculares podem ser importantes para inferir sobre as taxas digestivas e absorptivas (Tedman & Hall, 1985).

O epitélio que reveste cada vilosidade é composto por vários tipos de células, incluindo células caliciformes, células de Paneth, células enteroendócrinas e enterócitos. Este epitélio é renovado continuamente pelas células-tronco encontradas na base das criptas devido às ameaças de danos químicos ou físicos (Crawley et al., 2014). Os enterócitos são as células mais abundantes e os únicos responsáveis pela absorção de nutrientes, caracterizados por uma borda em escova (microvilos apicais) proeminente com características morfológicas definidas. Os microvilos apresentam um comprimento notavelmente uniforme entre as células e também exibem arranjo altamente ordenado. O empacotamento otimizado das microvilosidades é uma adaptação a nível celular que aumenta ainda mais a área da superfície exposta ao lúmen. Assim, os numerosos microvilos dentro da borda em escova permitem aos enterócitos enriquecerem-se de moléculas, associadas à membrana apical, necessárias para a absorção de nutrientes e para a defesa (Maroux et al., 1988; Shifrin et al., 2012).

Nos vertebrados, o intestino delgado é o local onde ocorre a hidrólise de macromoléculas e a absorção dos produtos, por meio das vias transcelular e paracelular. Até o momento, a via paracelular se mostrou muito utilizada por pequenas aves e morcegos, enquanto a absorção transcelular mediada por transportadores é mais importante em mamíferos terrestres (Caviedes-Vidal et al., 2007; Karasov & Douglas, 2013). Morcegos possuem intestino delgado significativamente mais curto e com menor área de superfície nominal geral (área do tubo liso que ignora qualquer efeito das vilosidades) em comparação com mamíferos terrestres, porém, dispõem de uma absorção paracelular mais rápida de nutrientes solúveis em água, por exemplo, da glicose (Price et al., 2015).

As células caliciformes são capazes de sintetizar e secretar moléculas bioativas, como mucinas (secretadas ou ligadas à membrana), peptídeos, molécula semelhante à resistina β (RELM β) e proteína de ligação a Fc- γ (Fcgbp), formando uma camada de muco sobre o epitélio; e estes componentes se misturam a lisozimas secretadas pelas células de Paneth e IgA secretada

por enterócitos (Kim & Ho, 2010). A camada de muco secretada pelas células caliciformes consiste principalmente em uma rede compacta, semelhante a uma malha, de mucina viscosa permeável e em gel, que promove a eliminação do conteúdo intestinal, favorece o transporte de nutrientes e fornece a primeira linha de defesa contra lesões físicas e químicas causadas pela ingestão de alimentos, micróbios e produtos microbianos (Dharmani et al., 2009). As células de Paneth são células epiteliais granuladas localizadas na base das criptas intestinais, desempenham papel crucial na imunidade inata no intestino, secretando peptídeos antimicrobianos, incluindo lisozimas, fosfolipase A₂ e defensinas (Ouellette, 1997; Porter et al., 2002).

Também originadas de células-tronco da mucosa, as células enteroendócrinas estão dispersas ao longo da mucosa do trato gastrointestinal. Estas células produzem variados peptídeos e aminas biologicamente ativos que ficam estocados em grânulos secretórios, são hormônios ou parácrinos, que possuem funções importantes na fisiologia do sistema digestório, como controle da secreção de líquidos e eletrólitos, de enzimas digestivas e de outras secreções, controle da proliferação celular e regulação da motilidade (Rodrigues et al., 2005). Para critérios de coloração por soluções de prata deve-se levar em conta as diferenças entre tais células. As células argentafins possuem a capacidade de reter sais de prata em seus grânulos citoplasmáticos, já as células argirófilas apresentam a capacidade de captar os sais de prata, todavia não os reduzem naturalmente, necessitando da aplicação de um agente redutor externo (Grimelius & Wilander, 1980; Santos & Zucoloto, 1996). Ainda, diferentes tipos de células endócrinas foram descritos no trato digestivo de morcegos por meio de técnicas de imunohistoquímica e demonstraram a existência de variações entre espécies diferentes, no que diz respeito aos tipos celulares e sua frequência e distribuição regional (Yamada et al., 1984; Komori et al., 2000; Clarice Machado Santos et al., 2008). A investigação de células endócrinas é considerada importante pois oferece dados para pesquisas básicas em gastroenterologia, além disso revela-se muita adequada para estudos filogenéticos.

Em um estudo entre diferentes hábitos alimentares e a associação de nódulos linfóides em 24 espécies de morcegos do Novo Mundo, Forman (1974a) considerou que as placas de Peyer ocorrem na junção ileocolônica, e que esses nódulos geralmente são restritos à mucosa, interferindo na presença de vilos e apresentando a forma de pirâmide, com variação na altura e largura. Estes agregados de nódulos linfóides consistem em compartimentos definidos com vários elementos, subtipos de linfócitos e células acessórias. Além de células absorptivas, seu epitélio de revestimento consiste em células M que transportam antígenos e que interagem

estritamente com as células do sistema imunológico e, portanto, têm função fundamental no início da resposta e na tolerância imunológicas (Gebert et al., 1996). Foi observado que em espécies do gênero *Molossus* existem grandes centros germinativos na junção gastroduodenal, sugerindo um centro imunológico na parte superior do intestino delgado que se equivale àquele no íleo terminal, o que é raro em mamíferos. Insetívoros do gênero *Molossus*, frugívoros e nectarívoros possuem centros germinativos bem desenvolvidos, enquanto carnívoros e piscívoros têm centros germinativos pequenos a moderadamente desenvolvidos (Forman, 1974a). Forman (1974a, 1974b) expôs que muitas espécies de morcegos possuem grandes placas de Peyer, e que são observadas macroscopicamente na junção íleo-cólon, sobressaindo da parede intestinal como uma ampola ou vestíbulo. De maneira semelhante, Gadelha-Alves e colaboradores (2008) visualizaram placas de Peyer na porção íleo-cólon do intestino das espécies *Carollia perspicillata*, *Glossophaga soricina* e *Phyllostomus hastatus*.

Ao observar os intestinos dos morcegos, em quase todas as espécies, não há uma clara distinção entre intestino delgado e intestino grosso, sendo um tubo contínuo e de calibre constante (Park & Hall, 1951; Okon, 1977;). O intestino grosso comumente não apresenta ceco, apêndice, haustros, *taeniae coli*, cólons ascendente e transversos, sendo constituído exclusivamente por um curto cólon descendente e um reto, ou somente pelo reto. A mucosa no intestino grosso possui o mesmo tipo de epitélio observado no intestino delgado, porém sem vilosidades, apresentando somente as criptas de *Lieberkühn* com numerosas células caliciformes, assim como nos mamíferos em geral (Park & Hall, 1951; Okon, 1977; Ishikawa et al., 1985; Gadelha-Alves et al., 2008). O cólon normalmente tem como função secretar muco e absorver a água da digesta antes de eliminá-la. Entretanto, Ogunbiyi e Okon (1976) encontraram alta atividade enzimática de maltase e tripsina no cólon de *Eidolon helvum*, apontando para maior digestão e absorção dos alimentos.

Os morcegos possuem um mecanismo de compensação devido a um intestino menor em relação a mamíferos terrestres não-voadores de tamanho semelhante, necessitando de várias enzimas para digerir os nutrientes presentes em sua dieta, portanto, uma solução para esses animais é aumentar a capacidade digestiva (Caviedes-Vidal et al., 2007). A capacidade digestiva em morcegos pode afetar a habilidade em adquirir e armazenar energia, interferindo no modo de utilização dos recursos alimentares (Ayala-Berdon & Schondube, 2011). A rápida passagem de alimentos pelo trato digestivo garante vantagens para os morcegos, uma vez que consumir, digerir e excretar alimentos em pouco tempo pode evitar a necessidade de locomoção com carga de peso, melhorar a capacidade de manobra no voo, aumentar a velocidade e reduzir

o custo energético do voo (Tedman & Hall, 1985). Curiosamente, morcegos hospedam microbiomas intestinais mais semelhantes aos de pássaros do que de qualquer outro mamífero ou vertebrado. Ambos os clados se assemelham na ausência da associação com um microbioma específico (Song et al., 2020).

Para Schondube e colaboradores (2001), a grande diversidade de hábitos alimentares dos morcegos oferece uma oportunidade única para investigar a influência da dieta nas características morfofisiológicas. Suas hipóteses, a partir de estudos com filostomídeos, indicam que a dieta primitiva se baseava em insetos (Wetterer et al, 2000).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O material biológico consistiu no tubo digestivo de cinco indivíduos fêmeas grávidas da espécie *Anoura caudifer* capturados no município de Bicas – Minas Gerais, cinco indivíduos adultos de *Artibeus lituratus*, sendo quatro machos e uma fêmea capturados no município de Viçosa - Minas Gerais e quatro indivíduos adultos machos de *Myotis nigricans* também capturados no município de Viçosa. Os locais de coleta dos animais deste estudo estão inseridos na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, com vegetação caracterizada como Floresta Estacional Semidecidual. Os animais foram capturados com auxílio de redes de neblina, estendidas por 6 horas/noite, armadas perpendicularmente às trilhas e estradas no meio da mata. Os espécimes capturados ficaram acondicionados individualmente em sacos de tecido. Ao término de cada noite de captura, após o fechamento das redes, os espécimes foram transportados em gaiolas e levados ao laboratório para realização dos procedimentos de biometria (pesagem) e eutanásia.

A coleta, o transporte e os procedimentos experimentais sucederam de acordo com as instruções do ICMBio/IBAMA (licença/autorização número 42522-2) e Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Federal de Viçosa (protocolo nº 94/2014). A eutanásia foi por decapitação, e logo em seguida os animais tiveram sua cavidade abdominal aberta para retirada do estômago e intestinos, os quais foram imediatamente fixados em solução de Karnovsky por 24 horas e posteriormente mantidos em solução de álcool 70%. A fim comparar o tamanho do estômago e intestino entre as espécies, foi utilizada a relação do tamanho do órgão pelo tamanho médio das espécies (dados da literatura: Reis et al., 2007) os valores foram expressos em percentagem.

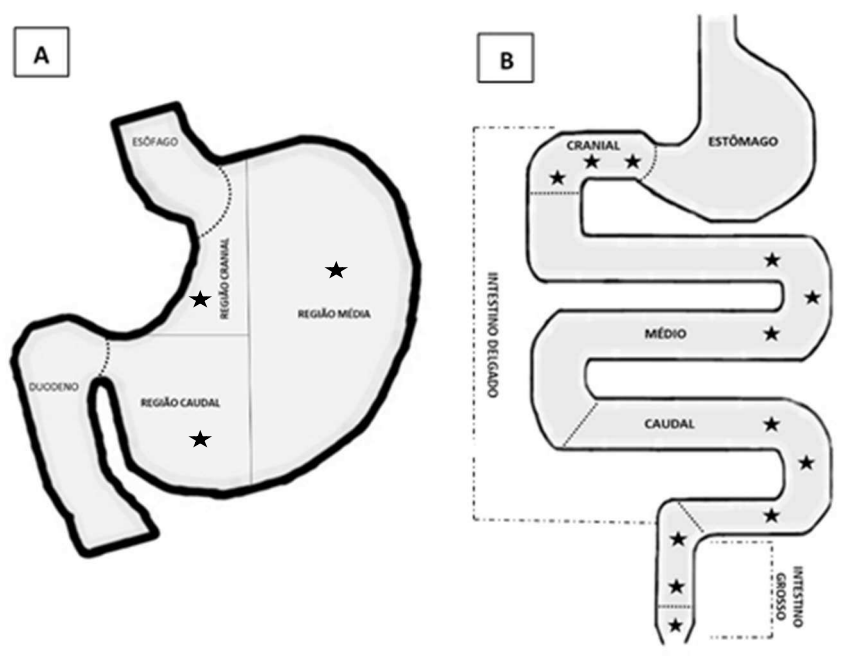
Para o processamento histológico, os órgãos foram pesados, medidos e seccionados. O estômago foi dividido em três regiões: cranial (cárdia), média (corpo) e caudal (pilórica), sendo retirado um fragmento de cada região (Figura 1A). O tubo intestinal foi dividido em intestino delgado e grosso, e obteve-se três fragmentos de cada segmento do intestino delgado: segmento cranial logo após o esfíncter pilórico, segmento médio, e segmento caudal logo antes da junção com o cólon. Do intestino grosso foram retirados três fragmentos, dois logo após o segmento caudal do intestino delgado e um na região próxima ao ânus (Figura 1B).

Devidamente separados para a microscopia de luz, os fragmentos das regiões estomacais e intestinais foram desidratados em séries de concentrações crescentes de álcool etílico, impregnados e incluídos em resina (Historesin®, Leica), cujos blocos foram cortados na espessura de 3 µm por meio do Micrótomo Rotativo (RM2265 – Leica) com navalha de vidro,

mantendo um intervalo de 10 cortes (30 μm) entre secções. Os cortes foram distendidos em água fria, coletados em lâminas histológicas e corados com Azul de Toluidina (Bancroft & Stevens, 1996), Tricrômico de Gomori modificada para resina (Anexo A) para descrição geral dos constituintes parietais e morfometria. Utilizou-se também a técnica de Alcian Blue conjugada com Ácido Periótico de Shiff (AB/PAS) modificada para resina (Anexo B) para a identificação de mucinas e mensuração da sua área de distribuição (densidade) nas células caliciformes. A natureza dos glicoconjugados presentes nas mucinas permitiu a coloração em azul para o muco ácido (AB-positivo), em magenta para o muco neutro (PAS-positivo) e em roxo para a mucossecção mista (AB/PAS-positivo). As lâminas histológicas foram montadas com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha).

Para a quantificação das células enteroendócrinas argirófilas e argentafins no tubo intestinal foi realizado o processamento histológico em parafina, sendo os fragmentos desidratados em séries crescentes de álcool etílico, diafanizados em banhos de xilol e incluídos em parafina histológica. Os fragmentos foram seccionados em espessura de 5 μm com auxílio de um micrótomo rotativo manual (Olympus CUT 4055) com navalha de metal, mantendo um intervalo de oito cortes (40 μm) entre as secções. Os cortes foram distendidos em água morna e coletados em lâminas histológicas. Utilizou-se a coloração de Hematoxilina e Eosina, e as técnicas histoquímicas modificadas de Masson Fontana para células argentafins (Anexo C) e Técnica de Grimellius para células argirófilas (Anexo D). As lâminas histológicas foram montadas com Bálsamo do Canadá.

Figura 1 - Esquema demonstrando os diferentes segmentos do tubo digestivo dos morcegos estudados: *Anoura caudifer*, *Artibeus lituratus* e *Myotis nigricans*.



A – Estômago; B –Tubo digestivo, evidenciando os intestinos e o locais de coleta de fragmentos (estrelas)

Adaptado: Santos et al., 2008a

A morfometria dos constituintes parietais do tubo digestivo foi feita em imagens coradas com Azul de Toluidina e Tricrômico de Gomori, capturadas na objetiva de 4x (aumento total de 40x). Foram escolhidos cinco campos aleatórios de quatro secções distintas de cada lâmina (uma por animal). Em cada campo foram realizadas três medidas para cada estrutura analisada, totalizando 60 medidas por animal.

No estômago, foi medida a espessura das camadas mucosa, submucosa e muscular, além da espessura das subcamadas muscular circular interna e muscular longitudinal externa. A espessura da parede foi obtida pelo somatório das espessuras das camadas constituintes (mucosa + submucosa + muscular), pois não foi possível visualizar a parede como um todo, mesmo usando a menor lente objetiva (4x). Os segmentos cranial, médio e caudal foram comparados em cada espécie. Considerando que as três espécies de morcegos são diferentes em tamanho, para a comparação interespecífica foram calculados os índices: Espessura da Mucosa/ Espessura da Parede; Espessura da Submucosa/ Espessura da Parede; Espessura da Muscular/ Espessura da Parede; Espessura da Muscular Interna/ Espessura da Parede; Espessura da

Muscular Externa/Espessura da Parede. Os índices foram expressos em percentuais, multiplicando-se por 100 (Silva et al, 2020).

A fim de medir a profundidade e largura da fosseta, altura e largura do colo da glândula, e a altura e largura da base glandular do segmento médio do estômago, foram tiradas fotomicrografias na objetiva de 20x (aumento total de 200x). Os parâmetros foram expressos em micrômetros. Para a devida comparação entre as espécies foram criados índices, considerando a Profundidade da Fosseta/Espessura da Mucosa; Largura da Fosseta/Profundidade da Fosseta; Altura do colo/ Espessura da Mucosa; Largura do colo/ Altura do colo; Altura da base/ Espessura da Mucosa e Largura da base/ Altura da base. Os índices foram expressos em percentuais, multiplicando-se por 100 (Silva et al, 2020).

No intestino delgado, utilizando a objetiva de 4x, foram medidas as espessuras da parede intestinal e camadas mucosa, submucosa, muscular total, muscular circular interna e muscular longitudinal externa, além da altura e largura do vilo e altura e largura da cripta. A altura do epitélio de revestimento e da borda em escova foram medidas utilizando a objetiva de 40x. Os parâmetros foram expressos em micrômetros. Os segmentos cranial, médio e caudal do intestino delgado de cada espécie de morcego foram comparados entre si. Para a comparação entre as espécies, foram criados índices, são eles: Espessura da Mucosa/ Espessura da Parede; Altura do Vilo/ Espessura da Mucosa; Profundidade de Cripta/ Espessura da Mucosa; Altura da Borda em Escova/ Altura do Epitélio; Altura do epitélio/ Altura do Vilo; Largura do Vilo/ Altura do Vilo; Largura de Cripta/ Profundidade de Cripta; Espessura da Submucosa/ Espessura da Parede; Espessura da Muscular/ Espessura da Parede; Espessura da Muscular Circular/ Espessura da Parede e Espessura da Muscular Longitudinal/ Espessura da Parede.

Para a quantificação de mucinas foi utilizada a técnica de AB/PAS, sendo utilizados em cada lâmina 20 campos aleatórios (com área de 0,06 mm²) da camada mucosa. Os campos foram fotografados aleatoriamente na objetiva de 40x (aumento total de 400x). Nas fotomicrografias do intestino delgado, quando não foi possível englobar toda a área da mucosa, foi priorizada a sua porção basal contendo as criptas e a base das vilosidades. A área de densidade das mucinas foi calculada em relação à área do campo fotográfico e os valores foram expressos em porcentagem (Figura 2).

Figura 2 - Paleta de cores utilizada para diferenciar as mucinas pela técnica de Alcian Blue/ Ácido Periódico de Schiff (AB/PAS).



Para a quantificação das células endócrinas argirófilas e argentafins, as lâminas coradas com as técnicas de Grimellius e Masson Fontana foram fotografadas na objetiva de 40x (aumento total de 400x). Em cada lâmina, foram fotografados 10 campos aleatórios (com área de 0,06 mm²). Para comparação entre as espécies, as células endócrinas de cada região intestinal foram estimadas em relação ao número de criptas.

Todas as imagens histológicas foram obtidas no Fotomicroscópio Olympus BX53 e analisadas utilizando o software *Image J* devidamente calibrado.

Para a análise ultraestrutural da mucosa, fragmentos do intestino delgado (regiões cranial, média e caudal), inicialmente fixados em solução de Karnovsky por 24 horas e mantidos em solução de álcool 70%, foram pós-fixados em solução de Bouin por 12 horas, desidratados em série etílica de graduação crescente, secados até o ponto crítico (Balzers CPD 030), metalizados com ouro (Metalizador Quorum Q150R S), montados em *stubs* e examinados sob microscopia eletrônica de varredura (Microscópio Eletrônico de Varredura - JEOL - JSM-6010LA), com captura de imagens no computador.

Os valores obtidos pela morfometria e colorimetria foram organizados em planilha eletrônica e analisados por testes estatísticos utilizando o *software* GraphPad Prism 6. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn. No intestino grosso, foi utilizado o teste t; quando os dados não foram paramétricos, utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para todos os testes foi considerado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

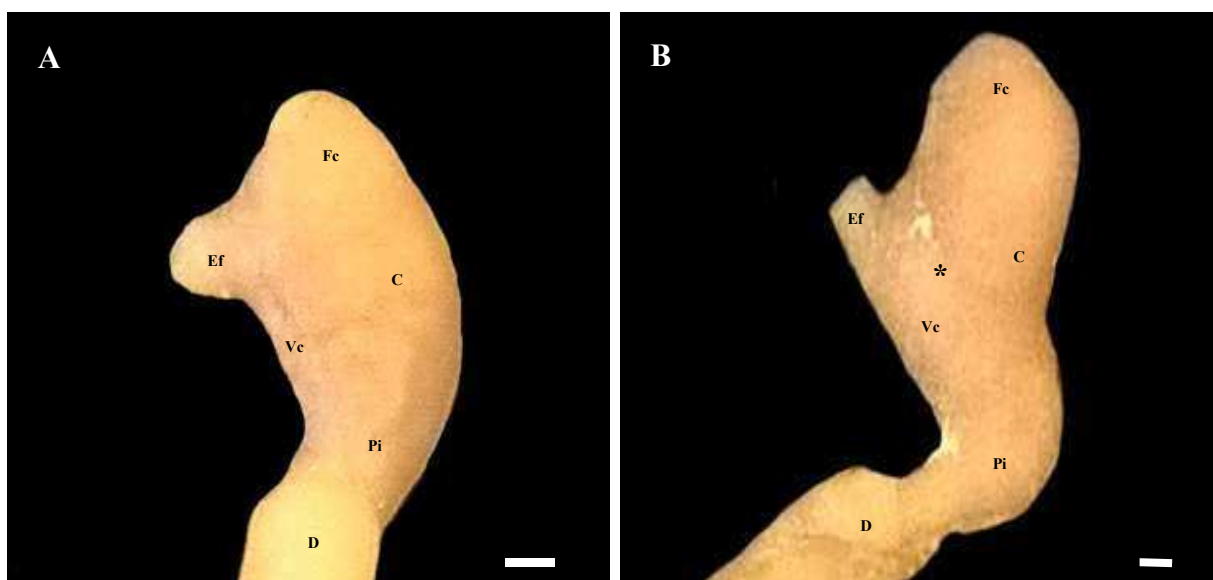
4. RESULTADOS

4.1 . ESTÔMAGO

4.1.1. Morfologia

Os estômagos exibiam formato saculiforme. *Artibeus lituratus* se difere dos demais por possuir um proeminente fundo cego, porção pilórica e vestíbulo cárdico estendido (Figura 3). A extensão da grande curvatura do estômago foi de $6,35 \pm 0,4$ mm em *Anoura caudifer*, $14,25 \pm 2,5$ mm em *Artibeus lituratus* e $6,75 \pm 0,4$ mm em *Myotis nigricans*. A relação entre extensão da grande curvatura pelo peso do estômago revelou diferença significativa entre os morcegos *Myotis nigricans* e *Artibeus lituratus*, sugerindo que nestas proporções *M. nigricans* possuía um estômago maior do que o de *A. lituratus* (Tabela 1). Em relação ao comprimento corporal médio (dados da literatura, Reis, et al., 2007), o morcego *M. nigricans* apresenta comprimento estomacal relativo de 0,2, ou seja, o estômago representa 17% do comprimento corporal; para *A. lituratus* foi 14,5% e para *A. caudifer* foi 11%.

Figura 3 – Fotografias do estômago dos morcegos *Anoura caudifer* (A) e *Artibeus lituratus* (B).



Legenda: C – Corpo; D – Duodeno; Ef - Esôfago; Fe – Fundo Cego; Pi – Píloro; Vc – Vestíbulo Cárdico; Asterisco - Sulco. Escala: 1mm

Tabela 1 - Parâmetros biométricos dos morcegos estudados.

Espécie	n	Massa corporal (g)	Extensão da curvatura maior do estômago (mm)	Ecme / Peso corporal (mm/g)
<i>Anoura caudifer</i>	4	10,07 ± 0,40	6,35 ± 0,4	0,061 ± 0,006 ^{ab}
<i>Artibeus lituratus</i>	5	52,80 ± 2,80	14,25 ± 2,5	0,024 ± 0,002 ^b
<i>Myotis nigricans</i>	4	3,97 ± 0,25	6,75 ± 0,4	0,170 ± 0,018 ^a

n = número de indivíduos.; Ecme: Extensão da curvatura maior do estômago. Dados expressos como média e desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma coluna ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

Nas três espécies de quirópteros o estômago foi caracterizado em região cárdica, região corpo/fúndica e região pilórica, configuradas por quatro camadas concêntricas na sua parede: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A mucosa gástrica era formada por um epitélio colunar simples e lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, composta por fibras de colágeno, vasos sanguíneos e linfáticos, e células de defesa. A muscular da mucosa era feita de duas subcamadas de células musculares lisas, proeminente principalmente nas pregas.

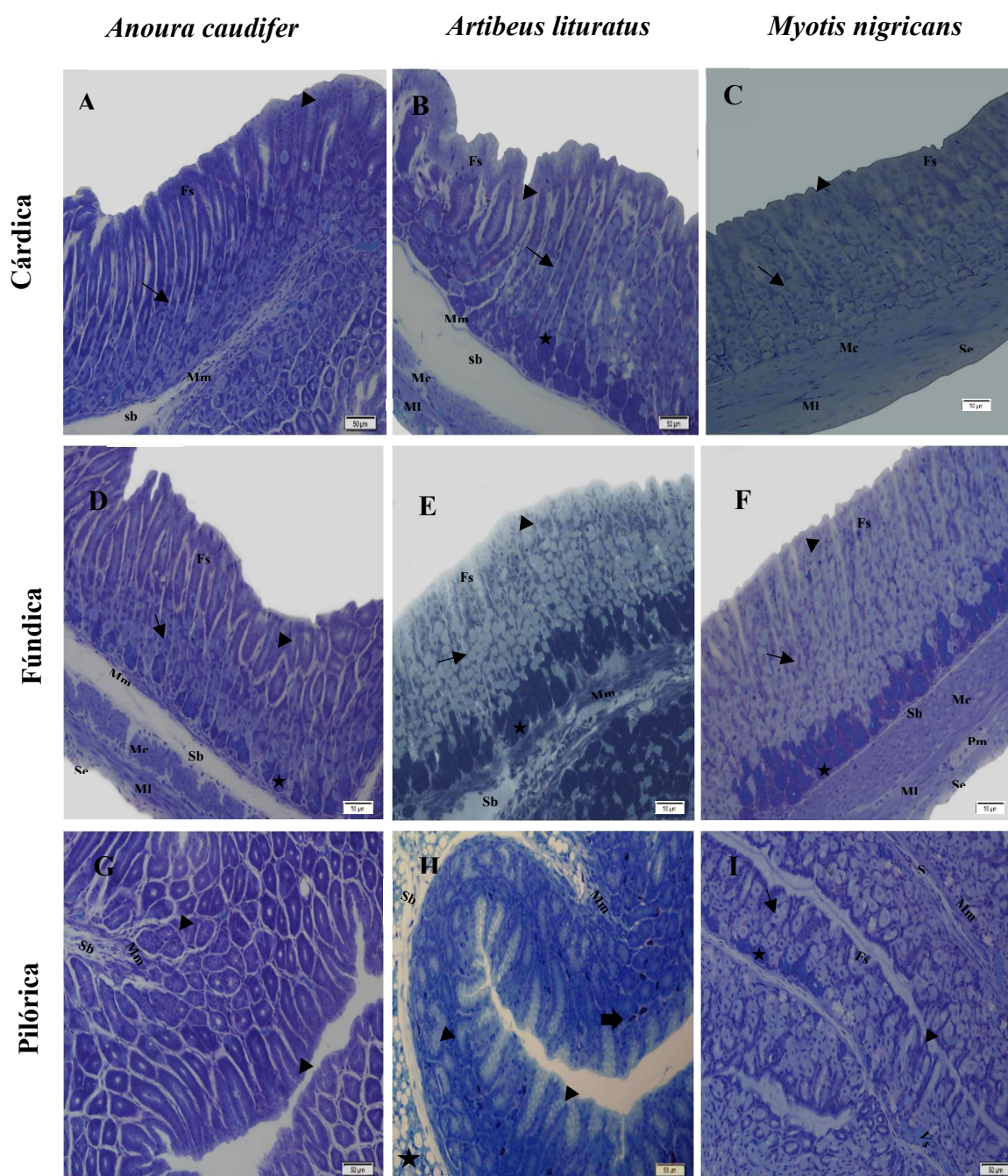
Os três diferentes segmentos do estômago apresentaram em sua camada mucosa glândulas gástricas tubulares embebidas pela lâmina própria. As glândulas possuíam constituição celular diferente dependendo da região em que foram encontradas. Todas as glândulas desembocavam nas fossetas, que eram constituídas de células cilíndricas mucossecretoras. As fossetas apresentaram profundidades diferentes conforme a região gástrica. Nas regiões cárdica e pilórica as fossetas eram mais profundas, enquanto na região fúndica eram mais curtas em relação à glândula.

Em todos os morcegos a extensão cárdica era pequena. *Anoura caudifer* possuía glândulas cárdicas constituídas inicialmente só por células mucossecretoras, mas adiante incluíam também células parietais (Figura 4A). Em *A. lituratus* era iniciado com glândulas formadas exclusivamente de células mucosas, porém surgiram glândulas multicelulares com muitas células principais na base glandular e células parietais concentradas no istmo e colo da glândula junto às células mucosas (Figura 4B). Semelhante ao morcego nectarívoro *A. caudifer*, no morcego insetívoro *M. nigricans*, as glândulas cárdicas eram constituídas somente de células mucosas e parietais (Figura 4C)

A mucosa no segmento médio era semelhante estruturalmente nas três espécies. As glândulas fúndicas estavam constituídas por três tipos de células (Figura 4D, E, F). No colo da glândula existiam as células mucosas do colo com formato irregular e as células parietais de formato piramidal ou arredondado com um núcleo central. As células parietais eram robustas em *M. nigricans*. Por sua vez, na base da glândula estavam as células principais que possuíam formato semelhante às células parietais, porém com tamanho menor e densos grânulos em seu citoplasma.

No segmento caudal as fossetas eram profundas e houve diferença na estrutura da glândula. Nesta porção as células principais desapareceram e as glândulas estavam constituídas predominantemente de células mucosas e células parietais (Figura 4I). Distalmente, próximo ao esfíncter pilórico foi visível somente células mucosas nas glândulas dos morcegos *A. caudifer* e *A. lituratus* (Figura 4G e H). Em *A. lituratus* foram observados numerosos mastócitos.

Figura 4 - Secções histológicas transversais das diferentes regiões gástricas dos morcegos estudados.



Legenda: Fs - Fosseta; Mc - Muscular Circular; MI - Muscular Longitudinal; Mm - Muscular da Mucosa; Pm - Plexo Mioentérico; Se - Serosa; Sb - Submucosa; Vs - Vaso Sanguíneo; Asterisco - Célula Principal; Cabeça de Seta - Células Mucosas; Seta Fina - Células Parietais; Seta Larga - Mastócito; Estrela - Tecido Adiposo. Coloração: Azul de Toluidina. Escala: 50µm

A camada submucosa era estruturada por tecido conjuntivo frouxo que incluía vasos sanguíneos e linfáticos (Figura 4A, B, D, E, H e I). A projeção da submucosa juntamente com a mucosa gástrica resultou na formação das pregas. Em *A. caudifer* e *A. lituratus* haviam agregados linfóides nesta camada. No morcego frugívoro, *A. lituratus*, foi observado abundante tecido adiposo, principalmente na porção pilórica (Figura 4H).

A túnica muscular do estômago era formada por duas subcamadas musculares: circular interna e longitudinal externa (Figura 4B, C, D e F). A muscular circular e a longitudinal externa se uniam e espessavam para formar o esfíncter pilórico. Entre as subcamadas musculares havia faixa de tecido conjuntivo frouxo que continha numerosos e proeminentes gânglios nervosos do plexo mioentérico (de Auerbach) e também vasos sanguíneos (Figura 4F). O estômago estava revestido por uma membrana serosa constituída por tecido conjuntivo frouxo envolvida por mesotélio (Figura 4C, D e F).

4.1.2. Histometria

Nas diferentes porções do estômago para a mesma espécie, quando comparados estatisticamente, os constituintes da parede apresentaram diferentes espessuras (Tabela 2). No morcego nectarívoro *A. caudifer*, a diferença foi significativa na espessura da túnica muscular, que se mostrou maior nos segmentos médio e caudal em relação ao segmento cranial. A subcamada muscular circular foi mais espessa no segmento caudal, porém a espessura da subcamada muscular longitudinal foi maior no segmento médio.

Tabela 2 – Comparação dos parâmetros histométricos entre os diferentes segmentos do estômago dos morcegos estudados.

Espécie	Região Cárdica	Região Fúndica	Região Pilórica
<i>Anoura caudifer</i>			
Espessura da Mucosa	291,9 ± 28,67	342,3 ± 117,4	285,2 ± 44,19
Espessura da Submucosa	38,94 ± 11,27	63,05 ± 35,64	59,46 ± 31,11
Espessura da Muscular	101,4 ± 67,10 ^b	163,7 ± 57,13 ^a	181,9 ± 16,60 ^a
Espessura da M. Circular	71,34 ± 47,84 ^b	104,4 ± 35,16 ^b	142,4 ± 26,63 ^a
Espessura da M. longitudinal	31,01 ± 20,58 ^b	58,67 ± 23,87 ^a	36,43 ± 8,316 ^b
<i>Artibeus lituratus</i>			
Espessura da Mucosa	256,2 ± 17,18 ^a	259,1 ± 28,81 ^a	234,3 ± 28,22 ^b
Espessura da Submucosa	42,57 ± 19,11 ^b	51,30 ± 19,98 ^b	93,80 ± 32,07 ^a
Espessura da Muscular	93,26 ± 37,77 ^c	126,9 ± 31,53 ^b	243,7 ± 50,96 ^a
Espessura da M. Circular	66,83 ± 27,97 ^b	85,77 ± 21,56 ^b	198,7 ± 32,33 ^a
Espessura da M. longitudinal	24,48 ± 6,86 ^b	40,34 ± 10,53 ^a	42,89 ± 16,35 ^a
<i>Myotis nigricans</i>			
Espessura da Mucosa	174,3 ± 20,89 ^b	192,8 ± 18,36 ^a	195,1 ± 30,47 ^a
Espessura da Submucosa	29,56 ± 9,69 ^a	23,27 ± 8,19 ^{ab}	20,58 ± 5,02 ^b
Espessura da Muscular	152,7 ± 37,10	130,8 ± 20,86	131,8 ± 13,54
Espessura da M. Circular	88,05 ± 17,46 ^b	92,30 ± 14,91 ^b	109,6 ± 17,95 ^a
Espessura da M. longitudinal	52,90 ± 20,57 ^a	40,63 ± 9,72 ^b	24,97 ± 6,04 ^c

Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha (p < 0,05) pelo teste Dunn.

No morcego frugívoro *A. lituratus*, todos as camadas apresentaram diferenças significativas entre os segmentos. A mucosa do segmento caudal era menos espessa, porém as camadas submucosa, muscular e muscular circular foram mais espessas nesta porção. A muscular longitudinal também foi mais espessa no segmento caudal, juntamente com o segmento médio.

No insetívoro *M. nigricans*, a espessura na camada mucosa foi significativamente maior nos segmentos médio e caudal, enquanto na porção cranial a submucosa foi mais espessa que a porção caudal. A subcamada muscular circular teve maior espessura no segmento caudal, entretanto a muscular longitudinal neste segmento foi a menos espessa. Nas três espécies de morcego foi possível notar a concordância no aumento da espessura da subcamada muscular circular no segmento caudal para a formação do esfíncter pilórico.

Em relação aos índices comparativos, na região cárdica a menor espessura de camada mucosa foi a de *Myotis nigricans*, entretanto sua camada muscular foi a mais proeminente. A submucosa não apresentou diferença significativa entre as espécies (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação dos índices histométricos (%) do estômago cárdico dos morcegos estudados.

Índice	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Esp. Mucosa/Esp. Parede	68,80 ± 0,11 ^a	65,55 ± 0,05 ^a	49,00 ± 0,06 ^b
Esp. Submucosa/Esp. Parede	9,15 ± 0,02	10,95 ± 0,04	9,05 ± 0,03
Esp. Muscular/Esp. Parede	22,00 ± 0,12 ^b	23,55 ± 0,08 ^b	42,05 ± 0,05 ^a
Esp. M. Circular/ Esp. Parede	15,55 ± 0,09 ^b	16,85 ± 0,06 ^b	27,55 ± 0,07 ^a
Esp. M. Longitudinal/ Esp. Parede	6,65 ± 0,03 ^b	6,12 ± 0,01 ^b	14,65 ± 0,04 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

Na região fúndica, os resultados foram semelhantes aos da região cárdica, porém houve diferença significativa entre as camadas submucosas, sendo a mais delgada a do morcego insetívoro (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação dos índices histométricos (%) do estômago fúndico dos morcegos estudados.

Índice	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Esp. Mucosa/Esp. Parede	62,25 ± 0,05 ^a	60,08 ± 0,07 ^a	55,80 ± 0,04 ^b
Esp. Submucosa/Esp. Parede	10,15 ± 0,03 ^a	11,44 ± 0,04 ^a	6,65 ± 0,02 ^b
Esp. Muscular/Esp. Parede	27,55 ± 0,05 ^b	28,56 ± 0,05 ^b	37,65 ± 0,04 ^a
Esp. M. Circular/ Esp. Parede	17,65 ± 0,04 ^b	19,36 ± 0,04 ^b	26,65 ± 0,04 ^a
Esp. M. Longitudinal/ Esp. Parede	9,85 ± 0,03 ^{ab}	9,24 ± 0,02 ^b	11,70 ± 0,02 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

A camada mucosa de *Anoura caudifer* e *Myotis nigricans* na região pilórica foram mais proeminentes do que a *Artibeus lituratus*. Foi observada a diferença na camada submucosa entre as três espécies, sendo a maior média encontrada no morcego frugívoro. A camada muscular foi maior em *A. lituratus*. Não houve diferença significativa na subcamada muscular longitudinal (Tabela 5).

Tabela 5 - Comparação dos índices histométricos (%) do estômago pilórico dos morcegos estudados.

Índice	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Esp. Mucosa/Esp. Parede	54,13 ± 0,06 ^a	41,28 ± 0,06 ^b	56,00 ± 0,04 ^a
Esp. Submucosa/Esp. Parede	11,13 ± 0,06 ^b	16,36 ± 0,05 ^a	5,95 ± 0,01 ^c
Esp. Muscular/Esp. Parede	34,67 ± 0,03 ^b	42,32 ± 0,06 ^a	38,20 ± 0,04 ^b
Esp. M. Circular/ Esp. Parede	27,27 ± 0,06 ^b	34,96 ± 0,06 ^a	32,05 ± 0,07 ^{ab}
Esp. M. Longitudinal/ Esp. Parede	7,40 ± 0,02	7,52 ± 0,03	7,25 ± 0,02

Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

Pela análise dos índices (Tabela 6), é possível dizer que as espécies *A. caudifer* e *M. nigricans* apresentaram, na região fúndica, fossetas mais profundas que *A. lituratus*. A largura das fossetas e altura do colo glandular foram menores no morcego nectarívoro. Em *A. lituratus* a altura da base glandular foi maior que nos demais morcegos, porém sua largura foi menor. *Anoura caudifer* apresentou a menor altura da base glandular.

Tabela 6 – Comparação dos índices histométricos (%) da mucosa do estômago fúndico dos morcegos estudados.

Índice	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Profundidade Fosseta/ Espessura Mucosa	23,75 ± 0,08 ^a	15,83 ± 0,04 ^b	18,52 ± 0,03 ^a
Largura Fosseta/ Profundidade Fosseta	36,87 ± 0,06 ^b	72,79 ± 0,22 ^a	68,93 ± 0,10 ^a
Altura Colo glandular/ Espessura Mucosa	34,43 ± 0,12 ^b	50,26 ± 0,09 ^a	53,86 ± 0,14 ^a
Largura Colo glandular/ Altura Colo	21,76 ± 0,02	21,45 ± 0,03	22,50 ± 0,05
Altura Base glandular/ Espessura Mucosa	15,41 ± 0,05 ^c	34,10 ± 0,07 ^a	26,04 ± 0,03 ^b
Largura Base glandular/ Altura Base	54,11 ± 0,09 ^a	34,68 ± 0,08 ^b	50,38 ± 0,06 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

4.1.3. Histoquímica

As secreções de mucinas neutras (PAS+) foram as mais abundantes no estômago de todas as espécies (Figura 5). As maiores densidades desta mucina foram encontradas em *A. caudifer* e *M. nigricans* (Tabela 7). Em *A. caudifer* as células mucosas da superfície continham mucinas neutras, ao passo que as células mucosas do colo produziam mucinas ácidas (AB+), e não foram encontradas mucinas mistas; esse padrão foi visto em todos os segmentos (Figura 5A, D e G). Na região pilórica dessa espécie nectarívora, as bases das glândulas foram fortemente coradas por PAS, assim como as glândulas de Brünner presentes logo após o

esfíncter pilórico. Todavia, no morcego frugívoro *A. lituratus*, as células mucosas da fosseta secretavam mucinas neutras e mistas (PAS/AB+), ambas fortemente coradas, não sendo encontradas mucinas ácidas. As mucinas mistas foram vistas principalmente nos segmentos cranial e caudal dessa espécie (Figura 5B, E e H). No estômago do morcego insetívoro *M. nigricans* houve somente a secreção neutra em todos os segmentos do estômago.

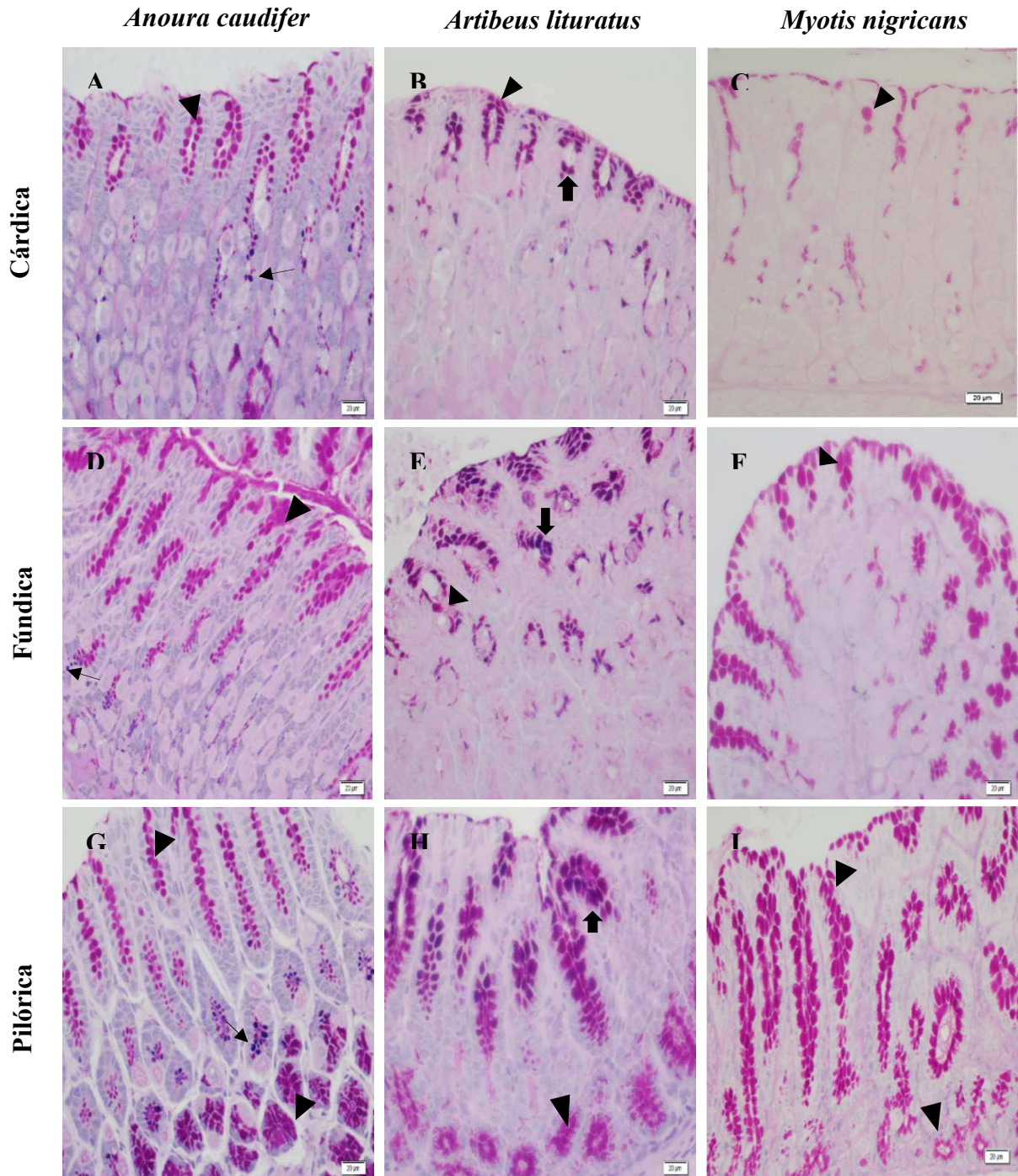
Quando comparadas as densidades de mucinas por área nos diferentes segmentos do estômago, foi observado em *A. caudifer* diferença significativa de mucina ácida entre os segmentos cranial e médio em relação ao segmento caudal, em que foi menor. Em *A. lituratus*, houve diferença significativa na densidade de mucinas mistas nos três segmentos, sendo mais abundante no segmento cranial. O morcego insetívoro, *M. nigricans*, apresentou diferença significativa na densidade de mucinas neutras entre os segmento cranial e caudal, sendo maior no caudal (Tabela 7).

Tabela 7 – Densidade média (%) de mucinas na mucosa gástrica dos morcegos estudados.

Estômago	Região Cárdica	Região Fúndica	Região Pilórica
<i>Anoura caudifer</i>			
Mucina ácida	0,38 ± 0,34 ^a	0,51 ± 0,51 ^a	0,22 ± 0,25 ^{ab}
Mucina neutra	9,24 ± 4,46	10,09 ± 4,30	8,18 ± 6,02
Mucina mista	0,00	0,00	0,00
<i>Artibeus lituratus</i>			
Mucina ácida	0,00	0,00	0,00
Mucina neutra	2,40 ± 1,71	4,31 ± 2,78	3,82 ± 2,60
Mucina mista	1,87 ± 0,34 ^a	0,00 ± 0,00 ^c	0,76 ± 0,84 ^b
<i>Myotis nigricans</i>			
Mucina ácida	0,00	0,00	0,00
Mucina neutra	8,09 ± 3,59 ^b	9,29 ± 3,76 ^{ab}	10,88 ± 4,26 ^a
Mucina mista	0,00	0,00	0,00

Densidade de mucinas obtida por colorimetria, calculando-se a área da coloração por área do campo (0,06mm²). Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha (p < 0,05) pelo teste Dunn.

Figura 5 – Secções histológicas da camada mucosa nas diferentes regiões do estômago dos morcegos estudados.



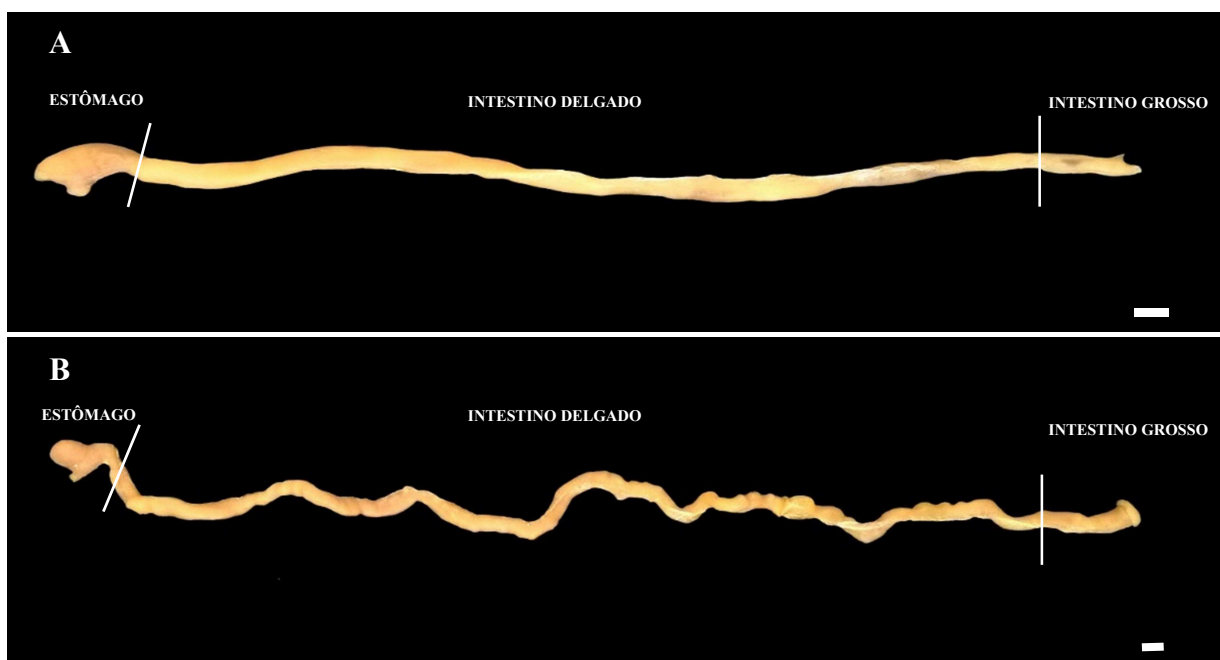
Legenda: Cabeça de Seta - Secreção Neutra (PAS+); Seta Fina - Secreção Ácida (AB+); Seta Larga - Secreção Mista (PAS/AB+). Coloração Alcian Blue/ Ácido Periódico de Schiff (AB/PAS). Escala: 20µm.

4.2 . INTESTINOS

4.2.1. Morfologia

Os intestinos não apresentaram distinção anatômica entre os segmentos delgado e grosso em nenhuma espécie, consistindo apenas em um tubo contínuo, sem variação considerável no calibre e sem protuberâncias, ceco ou apêndices (Figura 6), o que dificultou a divisão dos órgãos. As extremidades cranial (duodeno) e caudal (reto) do tubo intestinal eram um pouco mais calibrosas que os demais segmentos intestinais. Foi observada uma relação entre o comprimento dos intestinos e a massa corporal, revelando diferença significativa entre os morcegos *Artibeus lituratus* e *Myotis nigricans*, indicando que o morcego insetívoro possuía um intestino maior do que o do frugívoro (Tabela 8). Baseado no comprimento médio dos morcegos na literatura (Reis, et al., 2007), o morcego *A. lituratus* apresenta maior comprimento intestinal relativo (273%), seguido de *M. nigricans* (175%) e *A. caudifer* (146%).

Figura 6 - Tubo gastrointestinal dos morcegos *A. caudifer* (A) e *A. lituratus* (B).



Escala: 5 mm.

Tabela 8 - Parâmetros biométricos dos morcegos estudados.

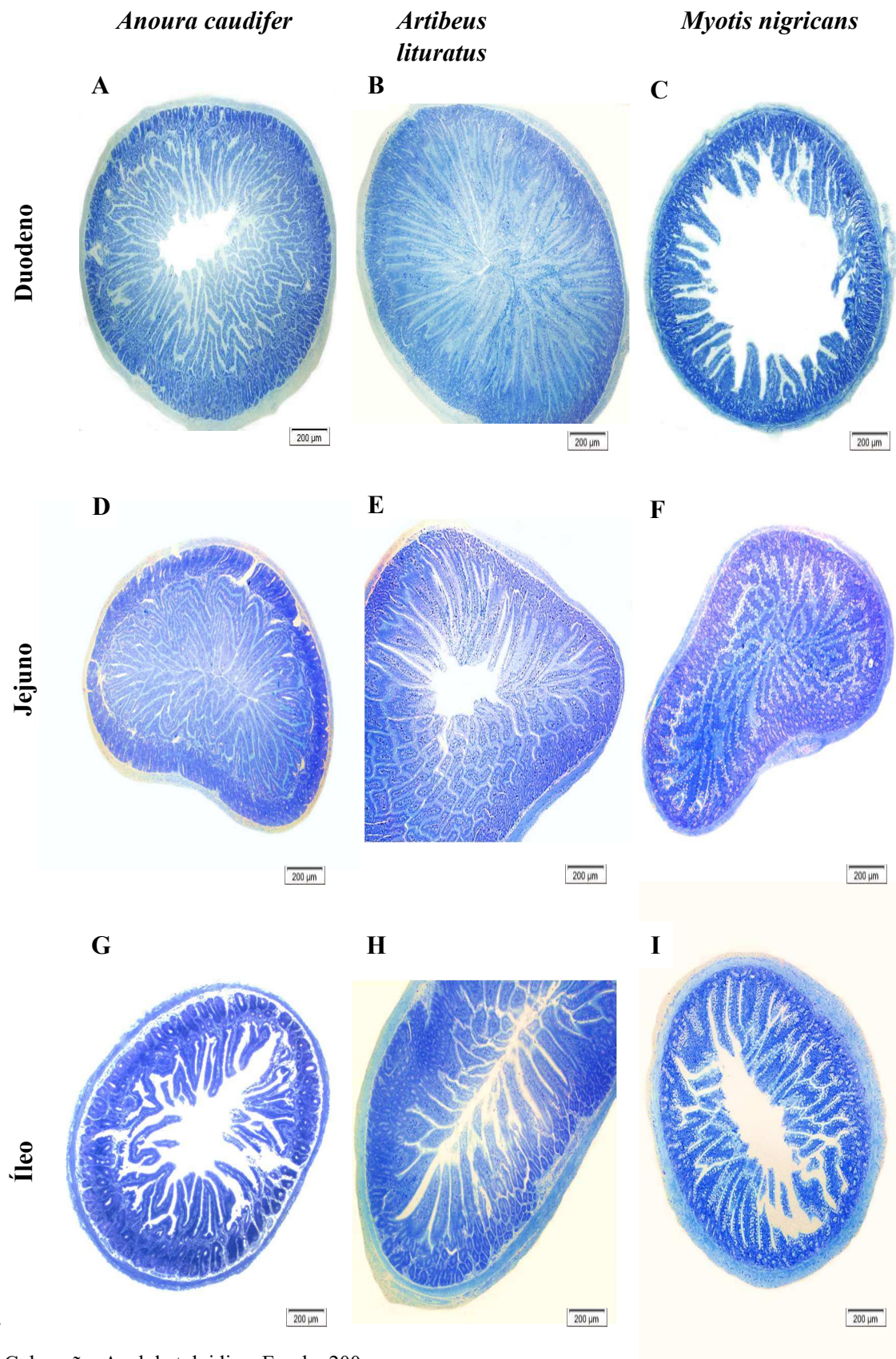
Espécie	<i>n</i>	Peso corporal (g)	Comprimento intestinal (mm)	Comprimento intestinal/ Peso corporal (mm/g)
<i>Anoura caudifer</i>	5	10,33 ± 0,58	85,6 ± 13,1	0,684 ± 0,35 ^{ab}
<i>Artibeus lituratus</i>	5	52,80 ± 2,80	268,3 ± 55,8	0,493 ± 0,11 ^b
<i>Myotis nigricans</i>	4	3,97 ± 0,25	70,2 ± 8,3	1,834 ± 0,33 ^a

n = número de indivíduos. Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma coluna ($p < 0,05$) pelo teste Dunn.

O intestino delgado dos morcegos era formado pelas camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa. A camada mucosa das três espécies não possuía dobras circulares, mas haviam muitos vilos com diferentes formas e tamanhos, por vezes ocupando todo o espaço luminal (Figuras 7 e 8). Os vilos de *A. caudifer* geralmente eram conectados e bifurcados, com aspecto de ziguezague (Figuras 7 e 8 - A, D, G). Em *A. lituratus*, os vilos apresentaram formato digitiforme na porção cranial, piramidal na porção média e em forma de língua na porção caudal (Figuras 7 e 8 - B, E, H). O insetívoro *M. nigricans* apresentou vilos em formato de língua nas porções cranial e média, e vilos digitiformes na porção caudal (Figuras 7 e 8 - C, F, I). Nas três espécies, na base entre os vilos foram observadas glândulas tubulares, as criptas de Lieberkühn, envolvidas por lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo.

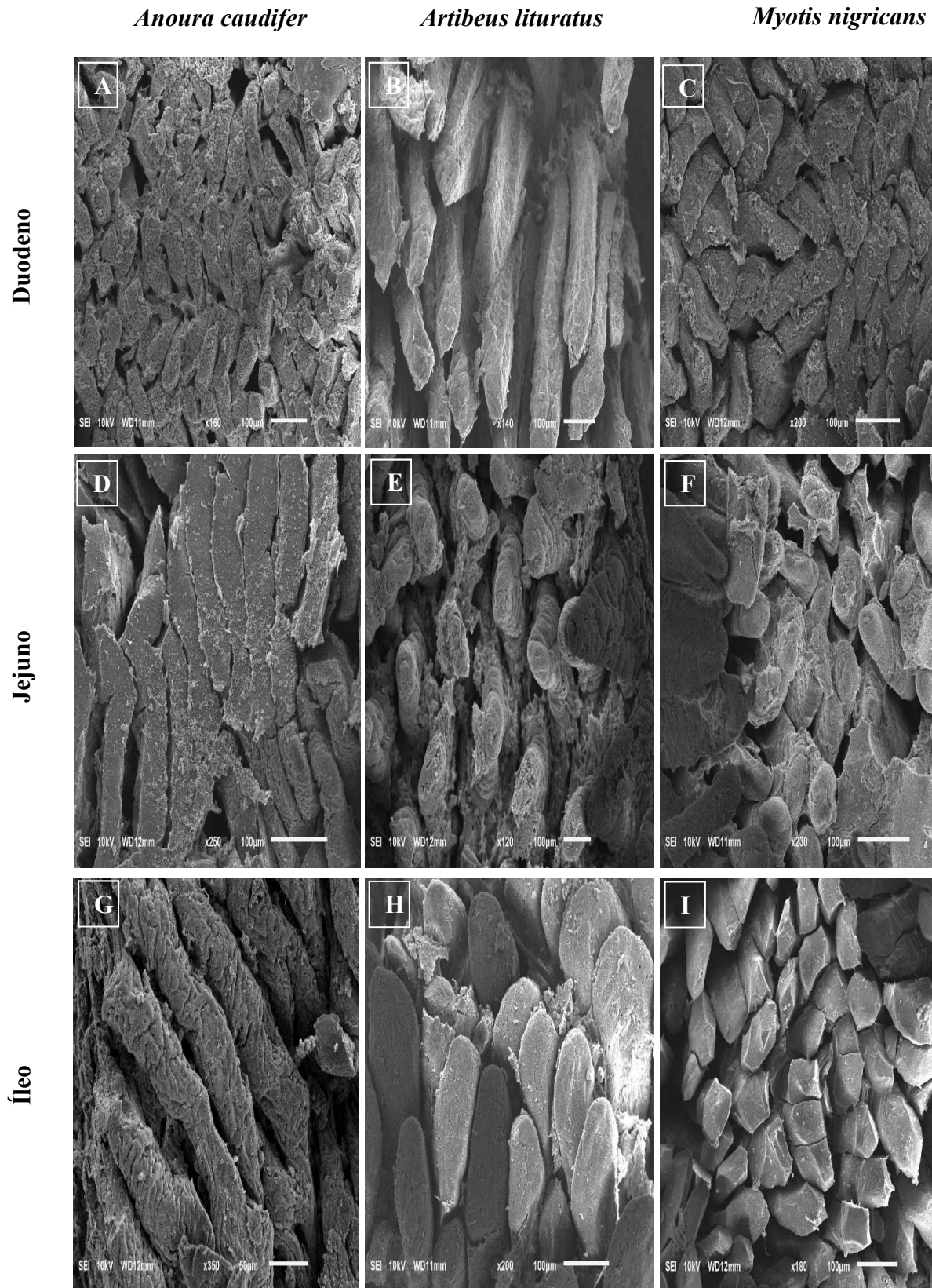
A mucosa dos morcegos estudados era revestida por epitélio simples constituído majoritariamente por células prismáticas absortivas (enterócitos) e por células caliciformes (Figura 9). Tais células, especialmente os enterócitos, possuíam muitas microvilosidades em sua porção apical, formado uma borda estriada bem desenvolvida, como um tapete denso e uniforme sobre os enterócitos (Figura 10). As microvilosidades das células caliciformes eram bastante variáveis inter e intra-espécies, em relação a tamanho e quantidade, podendo estar ausentes em algumas células cuja superfície se assemelhava a uma cratera (Figura 10D, E e F). Ao longo de todo o tubo intestinal de *A. caudifer*, *A. lituratus* e *M. nigricans* foram percebidas as células de Paneth na base das criptas (Figura 9B), este tipo celular foi abundante no frugívoro *A. lituratus*. A lâmina própria, presente no interior dos vilos e ao redor das criptas, era constituída de tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos, vasos linfáticos, células musculares lisas e células do conjuntivo (Figura 9A). A muscular da mucosa era constituída por duas finas camadas de células musculares lisas (Figura 9B).

Figura 7 - Secções histológicas transversais do intestino delgado dos morcegos estudados.



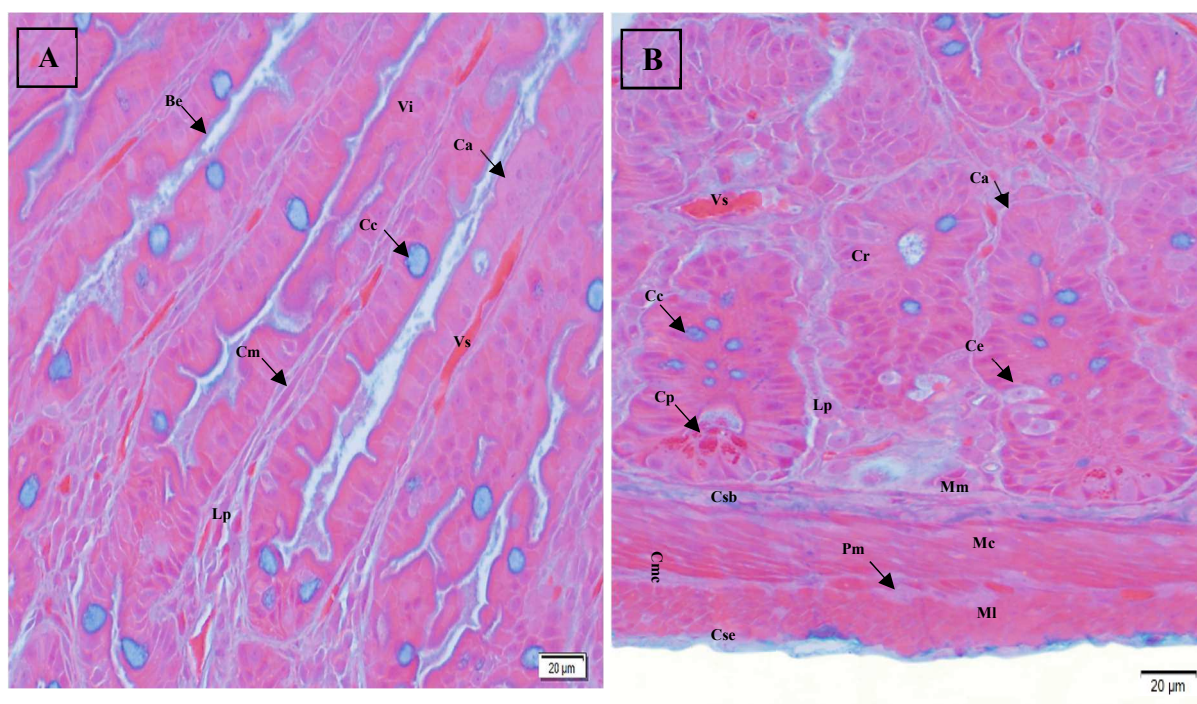
Coloração: Azul de toluidina. Escala: 200µm.

Figura 8 - Ultraestrutura da mucosa do intestino delgado dos morcegos estudados.



Microscopia Eletrônica de Varredura. Escala: Figura A, B, C, D, E, F, H e I = 100µm; Figura G = 50

Figura 09 - Secções histológicas transversais do intestino delgado de *Anoura caudifer*, evidenciando as camadas parietais e seus constituintes.

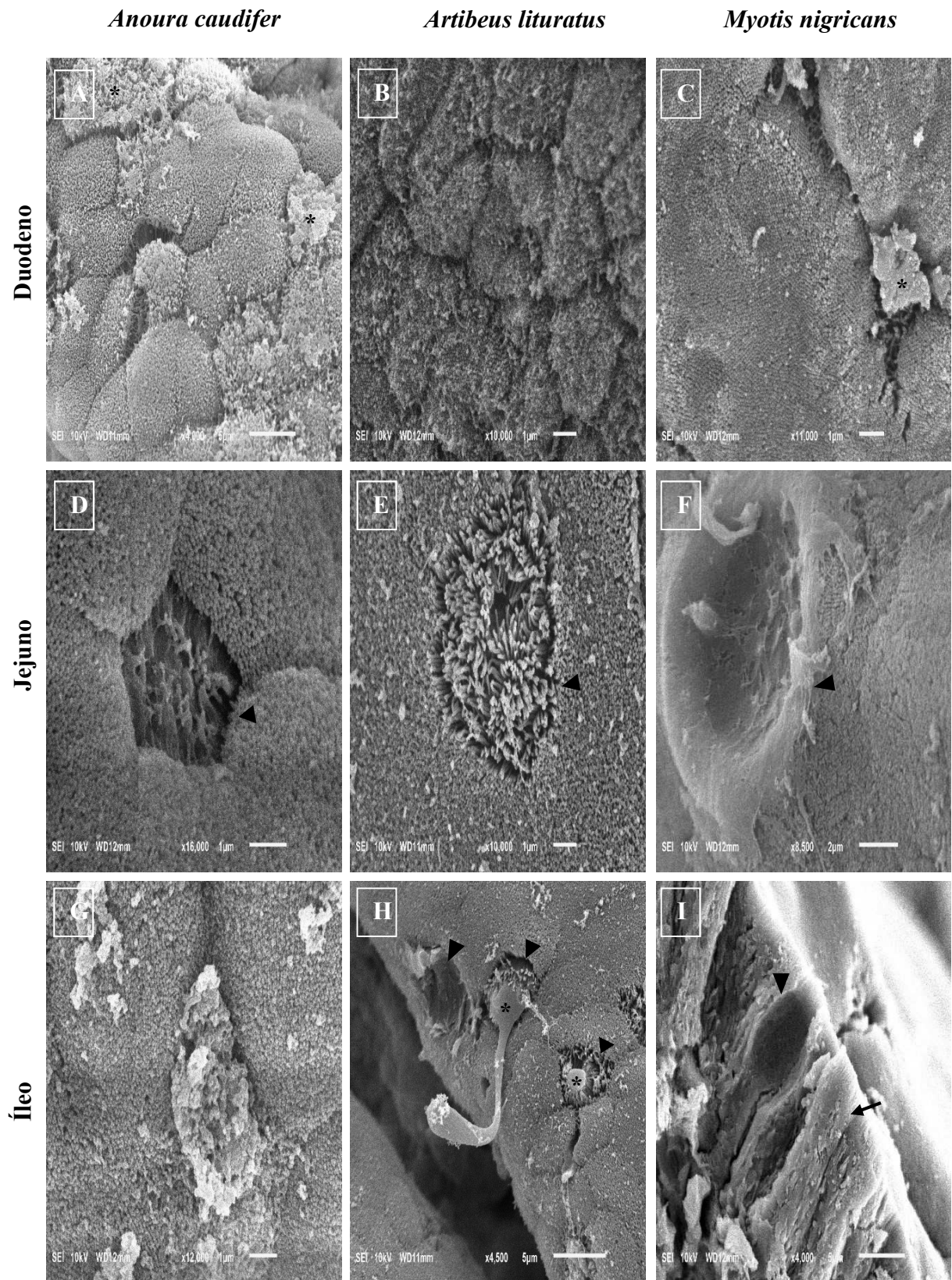


A – Camada mucosa, parte apical, com os vilos (Vi); B– Camada mucosa, parte basal, com as criptas (Cr), além das camadas submucosa (Csb), muscular (Csm) e serosa (Cse). Be –Borda Estriada; Ca - Célula Absortiva Cc – Célula Caliciforme; Ce - Célula Endócrina; Cm - Célula Muscular Cp – Célula de Paneth; Lp – Lâmina Própria; Mm – Muscular da Mucosa; Mc - Muscular Circular; MI – Muscular longitudinal; Pm – Plexo Nervoso Mioentérico; Vs – Vaso Sanguíneo. Coloração: Tricrômico de Gomori. Escala: 20µm.

A camada submucosa estava composta por tecido conjuntivo frouxo com vasos sanguíneos e linfáticos. Em uma curta porção no segmento cranial do duodeno, bem próximo ao esfíncter pilórico, haviam poucas glândulas de Brünner ou glândulas duodenais (PAS positivas) em *A. caudifer* e *A. lituratus*, já em *M. nigricans* essas glândulas eram abundantes. Em nenhuma das espécies foi observado o plexo submucoso (plexo de Meissner).

A camada muscular encontrava-se dividida em duas subcamadas, uma camada interna com feixe de células musculares orientadas circularmente, e outra externa, com orientação longitudinal (Figura 9B). Entre as duas subcamadas ajustava-se uma faixa de tecido conjuntivo frouxo com presença de gânglios nervosos formando o plexo mioentérico (plexo de Auerbach) e vasos sanguíneos. A camada serosa era constituída de tecido conjuntivo frouxo, revestido por epitélio simples pavimentoso (mesotélio) (Figura 9B).

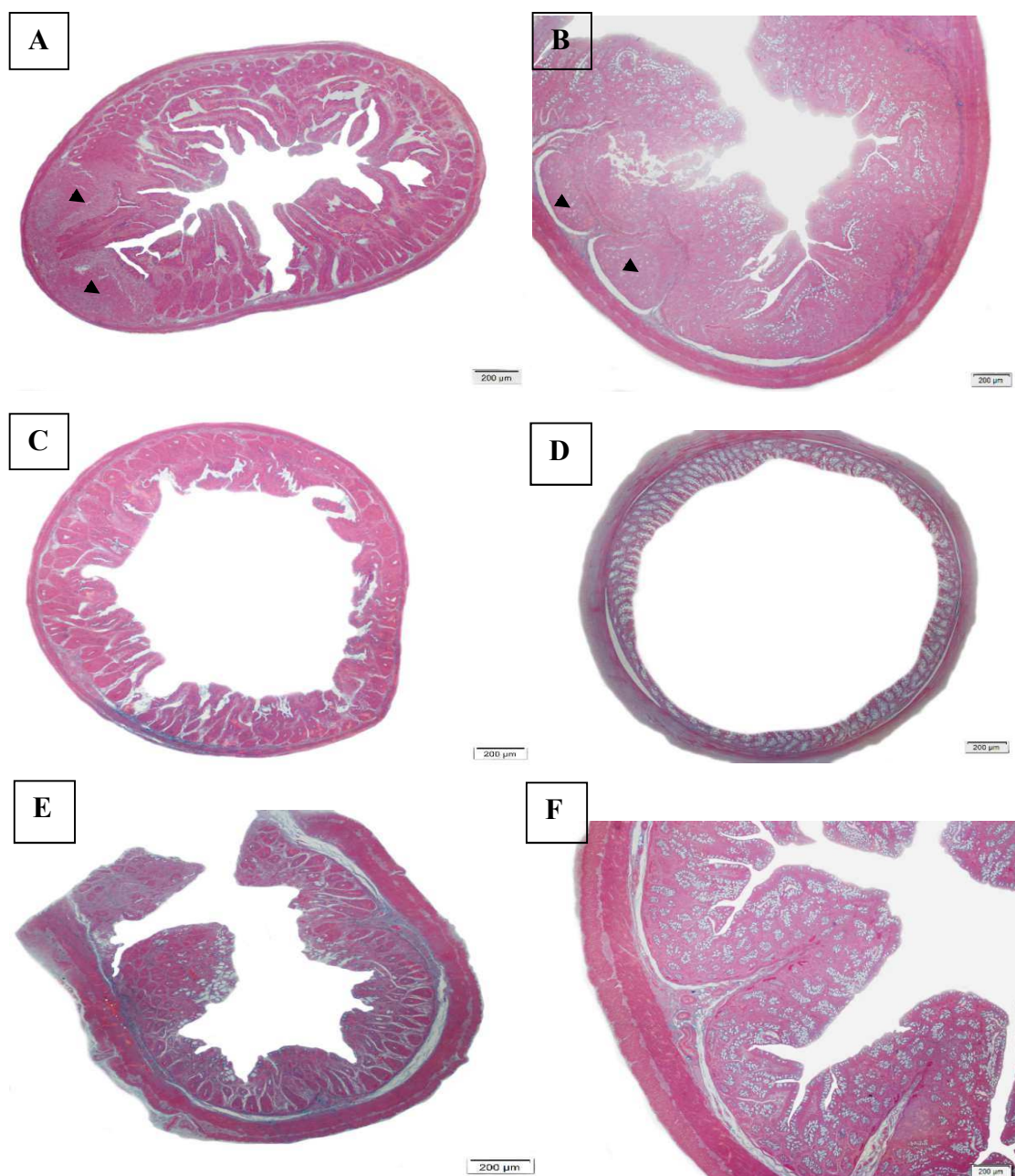
Figura 10 - Imagens ultraestruturais do epitélio de revestimento do intestino delgado dos morcegos estudados.



Microscopia Eletrônica de Varredura. Legenda: Asterisco: Secreção de Muco; Cabeça de Seta: Células Caliciformes; Seta: enterócito. Escala: Figura A, H e I = 5µm; Figura B, C, D, E e G = 1µm; Figura F = 2µm.

No segmento caudal do intestino delgado de *A. caudifer* e *A. lituratus* foi possível notar a diminuição no número e tamanho dos vilos e a deformação de muitos deles pela presença das placas de Peyer, que se projetam da submucosa para a mucosa (Figura 11A e B). Em *Myotis nigricans* não foram observadas as placas de Peyer.

Figura 11 - Secções histológicas transversais da transição íleo-cólon e do intestino grosso dos morcegos estudados.



A – Íleo/cólon de *Anoura caudifer*. B – Íleo/cólon de *Artibeus lituratus*. C - Cólon de *A. caudifer*; D - Cólon de *Myotis nigricans*. E - Reto de *A. caudifer*; F – Reto de *A. lituratus*. Legenda: Cabeça de Seta: Placas de Peyer. Coloração: Tricrômico de Gomori. Escala: 200µm

O intestino grosso apresentava-se como um segmento muito curto constituído por um cólon descendente e um reto. As criptas eram proeminentes em *A. caudifer* e *A. lituratus*, e por vezes se assemelham aos vilos, pela forma como se projetavam para a luz, especialmente em *A. lituratus*. As células absortivas estavam presentes tanto quanto as células caliciformes, configurando uma borda em escova proeminente nas três espécies. O reto dos morcegos nectarívoro e frugívoro foram marcados pela presença de pregas e pelo aumento na espessura da túnica muscular. Agregados linfóides foram percebidos no cólon e no reto destas espécies. O morcego *Myotis nigricans* apresentou agregados linfóides no cólon. O reto desta espécie não foi observado.

4.2.2. Histometria

Os segmentos do intestino delgado quando estatisticamente comparados revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$). O morcego nectarívoro (Tabela 9) possuía espessura da parede, espessura da mucosa, altura e largura do vilo, profundidade de cripta, altura do epitélio e espessura da submucosa maiores no duodeno em relação ao jejuno e íleo, porém a altura da borda estriada foi a menor nesta porção. A largura da cripta foi maior no íleo que nas demais. A camada muscular não mostrou diferença significativa, mas suas subcamadas divergiram sendo a circular interna mais espessa na região caudal, e a longitudinal externa mais proeminente na região média.

Tabela 9 - Histometria do intestino delgado do morcego *Anoura caudifer*.

Medidas	Duodeno	Jejuno	Íleo
Espessura Parede	807,4 ± 94,29 ^a	675,0 ± 61,31 ^b	591,1 ± 97,82 ^b
Espessura Mucosa	744,8 ± 98,43 ^a	617,2 ± 53,12 ^b	534,7 ± 95,86 ^c
Altura Vilo	504,3 ± 59,26 ^a	458,4 ± 68,16 ^a	348,6 ± 74,11 ^b
Largura Vilo	60,19 ± 6,79 ^a	48,64 ± 8,13 ^b	64,06 ± 11,42 ^a
Altura Epitélio	22,00 ± 1,45 ^a	19,89 ± 2,06 ^b	21,70 ± 1,66 ^a
Altura Borda estriada	2,071 ± 0,19 ^b	2,606 ± 0,25 ^a	2,49 ± 0,63 ^a
Profundidade Cripta	213,3 ± 35,40 ^a	165,0 ± 18,06 ^b	166,3 ± 27,16 ^b
Largura Cripta	56,78 ± 3,14 ^b	60,60 ± 11,01 ^b	71,25 ± 14,42 ^a
Espessura Submucosa	17,90 ± 5,07 ^a	14,44 ± 3,44 ^b	14,71 ± 3,45 ^b
Espessura Muscular (M)	40,86 ± 9,15	42,19 ± 5,08	41,90 ± 6,20
Espessura M. Circular	25,99 ± 5,77 ^{ab}	23,62 ± 3,72 ^b	28,28 ± 4,79 ^a
Espessura M. Longitudinal	15,30 ± 3,77 ^b	19,04 ± 2,42 ^a	14,07 ± 2,08 ^b

Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Dunn ($p < 0,05$).

Foi possível notar a diminuição gradativa da espessura da parede, espessura da mucosa e altura do vilo ao longo dos segmentos cranial, médio e caudal no morcego *A. lituratus* (Tabela 10). As criptas estavam mais profundas nas porções cranial e caudal, e mais largas na região caudal que nas demais. A borda estriada foi mais proeminente no segmento médio e caudal. A camada muscular e subcamada muscular circular foram mais espessas no segmento caudal. Alguns parâmetros não diferiram entre os segmentos: largura do vilo, altura do epitélio, espessura da submucosa e da muscular longitudinal.

Tabela 10 - Histometria do intestino delgado do morcego *Artibeus lituratus*.

Medidas	Duodeno	Jejuno	Íleo
Espessura Parede	1222 ± 93,20 ^a	999,4 ± 72,73 ^b	855,9 ± 80,48 ^c
Espessura Mucosa	1135 ± 91,92 ^a	909,0 ± 59,32 ^b	753,7 ± 74,55 ^c
Altura Vilo	896,9 ± 71,56 ^a	749,6 ± 66,95 ^b	506,3 ± 46,47 ^c
Largura Vilo	108,0 ± 18,30	122,1 ± 28,78	122,7 ± 17,47
Altura Epitélio	36,29 ± 3,41	37,08 ± 3,62	36,54 ± 3,50
Altura Borda Estriada	2,79 ± 0,31 ^b	3,50 ± 0,57 ^a	2,69 ± 0,21 ^b
Profundidade Cripta	234,0 ± 48,22 ^a	188,1 ± 10,54 ^b	246,2 ± 33,94 ^a
Largura Cripta	41,61 ± 6,26 ^b	43,47 ± 5,58 ^b	51,34 ± 8,62 ^a
Espessura Submucosa	24,89 ± 6,82	24,02 ± 4,96	26,60 ± 9,31
Espessura Muscular (M)	64,76 ± 9,59 ^b	66,52 ± 15,37 ^b	75,46 ± 10,22 ^a
Espessura M. Circular	41,78 ± 6,53 ^b	37,79 ± 8,63 ^b	50,87 ± 8,30 ^a
Espessura M. longitudinal	24,59 ± 5,89	28,11 ± 7,81	25,90 ± 3,63

Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Dunn ($p < 0,05$).

Em *M. nigricans* (Tabela 11), os segmentos duodeno e jejuno foram semelhantes em relação à espessura da parede, espessura das camadas mucosa, submucosa e muscular longitudinal, e altura e largura do vilo, havendo a diminuição destes parâmetros no segmento íleo. As criptas mais profundas foram encontradas no duodeno, porém com menor largura. Alguns parâmetros não apresentaram diferença: altura do epitélio e da borda, espessura da muscular total e muscular circular.

Tabela 11 - Histometria do intestino delgado do morcego *Myotis nigricans*.

Medidas	Duodeno	Jejuno	Íleo
Espessura Parede	549,4 ± 75,93 ^a	501,9 ± 42,90 ^a	423,8 ± 82,74 ^b
Espessura Mucosa	460,6 ± 65,35 ^a	440,0 ± 38,80 ^a	354,8 ± 73,99 ^b
Altura Vilo	337,3 ± 55,04 ^a	331,4 ± 26,77 ^a	271,9 ± 53,65 ^b
Largura Vilo	85,22 ± 6,02 ^a	81,41 ± 11,64 ^{ab}	74,29 ± 14,13 ^b
Altura Epitélio	24,13 ± 1,43	23,97 ± 1,66	24,64 ± 2,67
Altura Borda Estriada	1,81 ± 0,16	1,91 ± 0,34	1,90 ± 0,29
Profundidade Cripta	134,5 ± 12,03 ^a	112,7 ± 21,57 ^b	78,01 ± 20,97 ^c
Largura Cripta	34,98 ± 3,43 ^b	39,03 ± 5,17 ^a	42,28 ± 4,14 ^a
Espessura Submucosa	14,76 ± 6,15 ^a	13,42 ± 3,46 ^a	7,16 ± 1,48 ^b
Espessura Muscular (M)	50,85 ± 7,55	59,84 ± 12,06	49,80 ± 21,72
Espessura M. Circular	31,45 ± 6,06	34,14 ± 8,33	30,66 ± 11,64
Espessura M. longitudinal	21,30 ± 4,50 ^a	26,89 ± 7,78 ^a	13,74 ± 2,76 ^b

Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste Tukey ou Dunn ($p < 0,05$).

As espécies de morcegos quando comparadas entre si por meio de um índice exibiram diferenças significativas ($p < 0,05$) (Tabela 12). No duodeno, a camada mucosa mostrou-se mais espessa em *A. caudifer* e *A. lituratus*, e os maiores vilos foram de *A. lituratus*. As criptas se apresentaram mais curtas e menos largas em *A. lituratus*. A borda estriada foi maior no morcego nectarívoro, entretanto a altura do epitélio foi maior no insetívoro. Os vilos foram mais largos em *M. nigricans*, assim como a espessura da túnica muscular e de suas subcamadas. A camada submucosa apresentou espessura indistinta entre as espécies.

Tabela 12 - Comparação dos índices histométricos duodenais dos morcegos estudados.

Índice	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Esp. Mucosa/ Esp. Parede	92,29 ± 0,06 ^a	92,91 ± 0,03 ^a	84,63 ± 0,12 ^b
Alt. Vilo/ Esp. Mucosa	68,12 ± 0,07 ^b	79,57 ± 0,10 ^a	73,54 ± 0,09 ^{ab}
Prof. Cripta/ Esp. Mucosa	28,84 ± 0,04 ^a	20,65 ± 0,04 ^b	29,76 ± 0,05 ^a
Alt. Borda Estriada/ Alt. Epitélio	9,43 ± 0,01 ^a	7,79 ± 0,01 ^b	7,53 ± 0,01 ^b
Alt. Epitélio/ Alt. Vilo	4,00 ± 0,00 ^b	4,00 ± 0,00 ^b	7,35 ± 0,01 ^a
Larg. Vilo/ Alt. Vilo	12,14 ± 0,02 ^b	12,05 ± 0,02 ^b	25,86 ± 0,04 ^a
Larg. Cripta/ Prof. Cripta	27,18 ± 0,04 ^a	18,28 ± 0,03 ^b	26,20 ± 0,03 ^a
Esp. Submucosa/ Esp. Parede	2,24 ± 0,01	2,04 ± 0,01	2,80 ± 0,01
Esp. Muscular/ Esp. Parede	5,05 ± 0,01 ^b	5,31 ± 0,01 ^b	9,68 ± 0,02 ^a
Esp. M. Circular/ Esp. Parede	3,13 ± 0,00 ^b	3,41 ± 0,00 ^b	5,76 ± 0,01 ^a
Esp. M. Longitudinal/ Esp. Parede	1,89 ± 0,00 ^b	1,91 ± 0,00 ^b	3,95 ± 0,01 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste Tukey ou Dunn ($p < 0,05$). Legenda: Alt. = altura, Esp. = Espessura, Larg. = largura, M. = muscular, Prof. = profundidade

Os parâmetros do jejuno (Tabela 13) foram bastante semelhantes aos do duodeno.

Tabela 13 - Comparação dos índices histométricos jejunais dos morcegos estudados.

Índice	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Esp. Mucosa/ Esp. Parede	91,63 ± 0,05 ^a	91,10 ± 0,04 ^{ab}	87,84 ± 6,12 ^b
Alt. Vilo/ Esp. Mucosa	75,05 ± 0,15 ^b	82,73 ± 0,08 ^a	75,80 ± 8,40 ^{ab}
Prof. Cripta/ Esp. Mucosa	27,38 ± 0,04 ^a	20,89 ± 0,02 ^b	25,75 ± 5,14 ^a
Alt. Borda Estriada/ Alt. Epitélio	13,23 ± 0,02 ^a	9,43 ± 0,01 ^b	8,079 ± 1,74 ^b
Alt. Epitélio/ Alt. Vilo	4,32 ± 0,01 ^b	5,04 ± 0,01 ^b	7,25 ± 0,01 ^a
Larg. Vilo/ Alt. Vilo	10,78 ± 0,02 ^c	16,42 ± 0,04 ^b	24,79 ± 4,27 ^a
Larg. Cripta/ Prof. Cripta	32,03 ± 0,10 ^a	23,57 ± 0,04 ^b	35,62 ± 6,97 ^a
Esp. Submucosa/ Esp. Parede	2,14 ± 0,00 ^b	2,42 ± 0,01 ^{ab}	2,71 ± 0,81 ^a
Esp. Muscular/ Esp. Parede	6,31 ± 0,01 ^b	6,64 ± 0,01 ^b	12,01 ± 2,80 ^a
Esp. M. Circular/ Esp. Parede	3,54 ± 0,01 ^b	3,78 ± 0,01 ^b	6,82 ± 1,63 ^a
Esp. M. Longitudinal/ Esp. Parede	2,85 ± 0,01 ^b	2,82 ± 0,01 ^b	5,39 ± 1,67 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey ou Dunn ($p < 0,05$). Legenda: Alt. = altura, Esp. = Espessura, Larg. = largura, M. = muscular, Prof. = profundidade

Por sua vez, no íleo (Tabela 14), a camada mucosa foi mais espessa em *A. caudifer* e *A. lituratus*, e a altura da borda estriada foi maior em *A. caudifer*. A altura do epitélio e vilos foram maiores, e as criptas menores no morcego insetívoro *M. nigricans*. As criptas foram mais largas em *A. caudifer* e *M. nigricans*. A submucosa foi mais espessa em *A. lituratus* e menos espessa em *M. nigricans*. A camada muscular e a muscular circular interna possuem proporções similares nos morcegos frugívoro e insetívoro, nos quais foram mais espessas. A muscular longitudinal externa foi mais espessa em *M. nigricans*, seguido de *A. lituratus* e por último *A. caudifer*.

Tabela 14 - Comparação de índices histométricos íleais dos morcegos estudados.

Índices	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Esp. Mucosa/ Esp. Parede	89,65 ± 0,04 ^a	88,20 ± 0,06 ^a	83,57 ± 0,04 ^b
Alt. Vilo/ Esp. Mucosa	65,12 ± 0,07 ^b	67,37 ± 0,05 ^b	77,17 ± 0,08 ^a
Prof. Cripta/ Esp. Mucosa	31,41 ± 0,04 ^a	32,92 ± 0,05 ^a	21,95 ± 0,04 ^b
Alt. Borda Estriada/ Alt. Epitélio	11,53 ± 0,03 ^a	7,65 ± 0,01 ^b	7,74 ± 0,01 ^b
Alt. Epitélio/ Alt. Vilo	6,48 ± 0,02 ^b	7,20 ± 0,01 ^b	9,30 ± 0,02 ^a
Larg. Vilo/ Alt. Vilo	19,19 ± 0,05 ^b	24,34 ± 0,04 ^a	27,83 ± 0,05 ^a
Larg. Cripta/ Prof. Cripta	43,25 ± 0,08 ^a	21,07 ± 0,04 ^b	58,57 ± 0,19 ^a
Esp. Submucosa/ Esp. Parede	2,53 ± 0,01 ^b	3,10 ± 0,01 ^a	1,73 ± 0,00 ^c
Esp. Muscular/ Esp. Parede	7,29 ± 0,02 ^b	8,89 ± 0,01 ^a	11,35 ± 0,03 ^a
Esp. M. Circular/ Esp. Parede	4,92 ± 0,01 ^b	5,98 ± 0,01 ^a	7,15 ± 0,02 ^a
Esp. M. Longitudinal/ Esp. Parede	2,44 ± 0,01 ^c	3,05 ± 0,01 ^b	3,82 ± 0,01 ^a

Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey ou Dunn ($p < 0,05$). Legenda: Alt. = altura, Esp. = Espessura, Larg. = largura, M. = muscular, Prof. = profundidade

Em relação ao intestino grosso, foi possível observar no morcego *A. caudifer* que a espessura da mucosa foi maior no cólon do que no reto, ocorrendo o inverso para as outras camadas. A borda estriada possuiu tamanho semelhante nos diferentes segmentos para as três espécies (Tabela 15) e, especialmente em *A. lituratus*, foi tão expressiva quanto a do intestino delgado.

Tabela 15 - Histometria do intestino grosso dos morcegos estudados.

Espécies/ Parâmetros	Cólon	Reto
<i>Anoura caudifer</i>		
Espessura Mucosa	286,00 ± 40,13 ^a	236,50 ± 52,14 ^b
Altura Borda Estriada	1,41 ± 0,12	1,48 ± 0,06
Espessura Submucosa	17,45 ± 4,01 ^b	39,45 ± 11,35 ^a
Espessura Muscular	53,00 ± 13,55 ^b	106,60 ± 12,35 ^a
Espessura Muscular Circular	33,77 ± 6,88 ^b	90,56 ± 37,95 ^a
Espessura Muscular Longitudinal	19,05 ± 5,81 ^b	33,76 ± 7,61 ^a
<i>Artibeus lituratus</i>		
Espessura Mucosa	531,80 ± 54,53	589,30 ± 132,60
Altura Borda Estriada	2,86 ± 0,65	2,58 ± 0,19
Espessura Submucosa	39,59 ± 4,32 ^b	68,81 ± 34,71 ^a
Espessura Muscular	114,10 ± 16,99 ^b	173,10 ± 52,39 ^a
Espessura Muscular Circular	71,62 ± 9,22 ^b	107,0 ± 33,69 ^a
Espessura Muscular Longitudinal	43,03 ± 7,68 ^b	67,25 ± 20,86 ^a
<i>Myotis nigricans</i> *		
Espessura Mucosa	139,32 ± 34,68	
Altura Borda Estriada	1,28 ± 0,16	
Espessura Submucosa	24,39 ± 18,78	
Espessura Muscular	101,14 ± 20,26	
Espessura Muscular Circular	69,96 ± 13,97	
Espessura Muscular Longitudinal	31,51 ± 8,07	

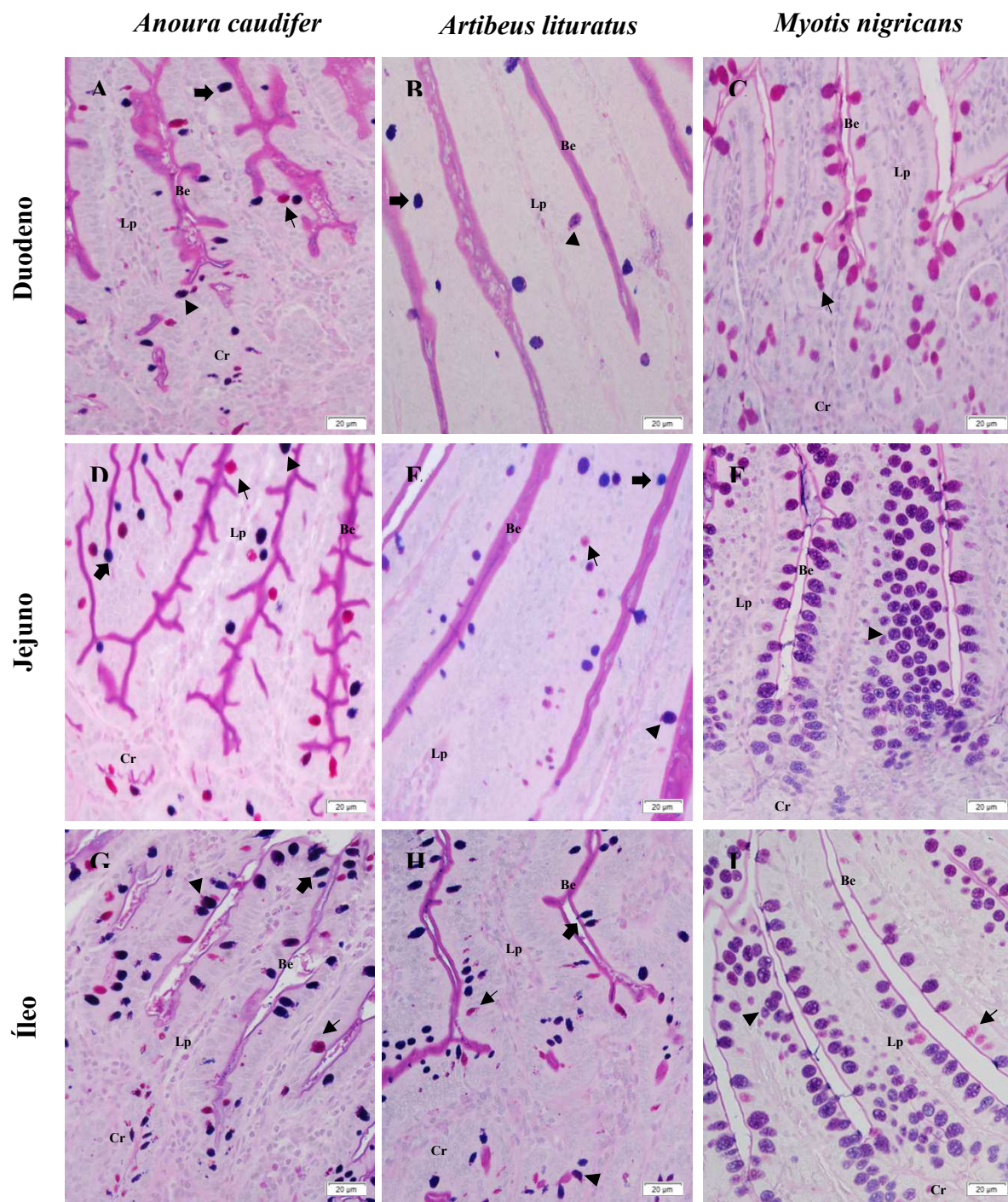
*Não foi analisado o reto dessa espécie. Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste t ($p < 0,05$)

4.2.3. Histoquímica

Todos os segmentos intestinais revelaram reação positiva para a técnica de AB/PAS. No intestino delgado, as células caliciformes eram sempre maiores em altura nos vilos do que nas criptas. Verificou-se que, no duodeno de *A. caudifer*, as células caliciformes estavam bem distribuídas em toda a mucosa (Figura 12A), enquanto em *A. lituratus* (Figura 12B) essas células foram mais abundantes nos vilos que nas criptas; já as células caliciformes em *M. nigricans* estavam em maior número nas criptas que nos vilos (Figura 12C). No jejuno, *A. caudifer* possuía uma distribuição semelhante ao duodeno (Figura 12D), já em *A. lituratus* foi possível notar aumento no número de células caliciformes nos vilos e nas criptas (Figura 13E); neste mesmo segmento em *M. nigricans* haviam muitas células distribuídas em toda a mucosa

(Figura 12F). No íleo das três espécies houve aumento no tamanho e na quantidade de células caliciformes distribuídas pela mucosa (Figura 12G, H e I).

Figura 12 – Secções histológicas da mucosa do intestino delgado evidenciado as células caliciformes e a borda estriada nos morcegos estudados.



Legenda: Be = Borda Estriada; Cr = Cripta; Lp = Lâmina Própria. Cabeça de Seta: Mucina Mista; Seta Fina: Mucina Neutra; Seta Larga: Mucina Ácida. Coloração Alcian Blue/ Ácido Periódico de Schiff (AB/PAS). Escala: 20µm

A quantificação da área corada pela técnica de AB/PAS permitiu comparar estatisticamente ($p < 0,05$) a densidade de mucinas ácidas, neutras e mistas nos diferentes segmentos do intestino delgado, como também analisar o tipo predominante de mucina em cada segmento (Tabela 16). Em *A. caudifer* o segmento caudal foi o que apresentou maior densidade de mucinas, em especial ácidas e mistas. Em *A. lituratus* o segmento caudal mostrou maior secreção de mucinas ácidas, assim como o cranial e caudal revelaram maior secreção de mucinas mistas. Em *M. nigricans*, os segmentos caudal e médio apresentaram grandes quantidades de mucinas mistas, e o segmento cranial apresentou maior quantidade de mucinas neutras. Nessa espécie as mucinas ácidas não foram encontradas.

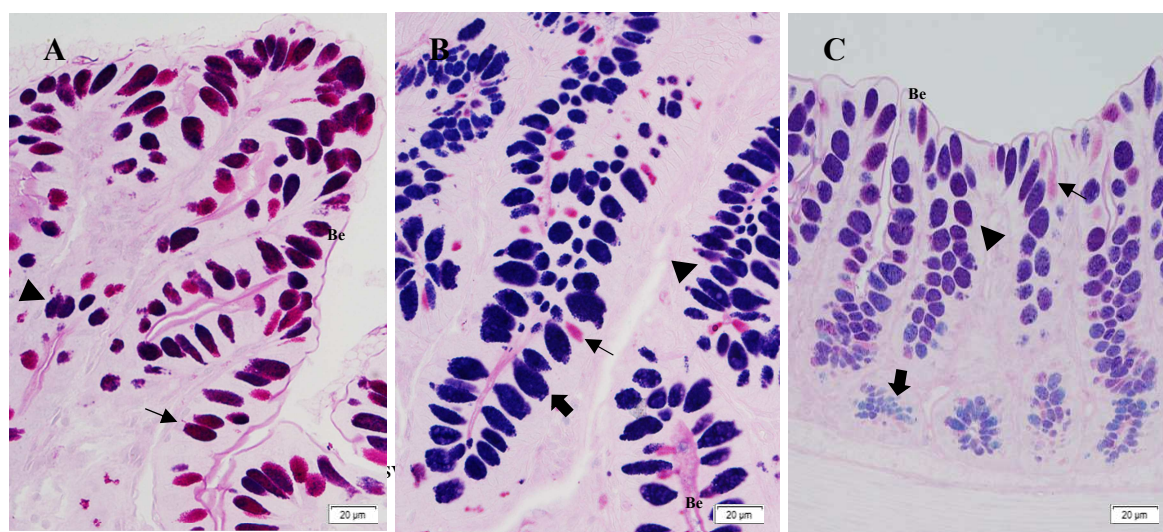
Tabela 16. Densidade média (%) de mucinas na mucosa do intestino delgado dos morcegos estudados.

Intestino Delgado	Duodeno	Jejuno	Íleo
<i>Anoura caudifer</i>			
Mucina Ácida	0,39 ± 0,41 ^b	0,45 ± 0,41 ^b	1,04 ± 0,96 ^a
Mucina Neutra	0,14 ± 0,12 ^b	0,14 ± 0,11 ^b	0,43 ± 0,29 ^a
Mucina Mista	0,58 ± 0,48 ^b	0,64 ± 0,45 ^b	1,39 ± 1,09 ^a
<i>Artibeus lituratus</i>			
Mucina Ácida	0,82 ± 1,03 ^c	1,26 ± 0,57 ^b	2,09 ± 1,30 ^a
Mucina Neutra	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,13 ± 0,14 ^a
Mucina Mista	0,92 ± 0,92 ^a	0,46 ± 0,33 ^b	0,79 ± 0,65 ^a
<i>Myotis nigricans</i>			
Mucina Ácida	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Mucina Neutra	2,85 ± 2,39 ^a	0,00 ± 0,00 ^c	0,38 ± 0,42 ^b
Mucina Mista	2,40 ± 2,80 ^b	12,08 ± 4,48 ^a	15,43 ± 7,86 ^a

Densidade de mucinas obtida por colorimetria, calculando-se a área da coloração por área do campo (0,06mm²). Dados expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes mostram valores significativamente diferentes na mesma linha pelo teste de Tukey ou Dunn ($p < 0,05$).

As células caliciformes foram abundantes no intestino grosso e era maior e mais larga em relação ao intestino delgado. Nesta porção final do tubo digestivo foi possível notar a secreção de variados tipos de mucinas, intensamente coradas pela técnica histoquímica AB/PAS (Figura 13). O morcego nectarívoro possuía grande densidade de mucinas neutras e mistas no cólon, e mucinas ácidas no reto. Em *A. lituratus* as mucinas ácidas foram predominantes no intestino grosso, especialmente no reto. O morcego insetívoro, que no intestino delgado não mostrou secreção ácida, exibia no cólon células produtoras de muco ácido principalmente na base das criptas, porém o tipo misto ainda foi o mais encontrado (Tabela 17).

Figura 13 –Secções histológicas da mucosa do intestino grosso evidenciado as células caliciformes e a borda estriada dos morcegos estudados.



A - Cólon de *Anoura caudifer*; B – Reto de *Artibeus lituratus*; C – Cólon de *Myotis nigricans*. Legenda: Be: Borda Estriada; Cabeça de Seta: Mucina Mista; Seta Fina: Mucina Neutra; Seta Larga: Mucina Ácida. Coloração Alcian Blue/ Ácido Periódico de Schiff (AB/PAS). Escala: 20µm

Tabela 17 - Densidade média (%) de mucinas na mucosa do intestino grosso dos morcegos estudados.

Espécie	Cólon	Reto
<i>Anoura caudifer</i>		
Mucina ácida	0,47 ± 0,84 ^b	1,08 ± 0,63 ^a
Mucina neutra	2,26 ± 2,34 ^a	0,33 ± 0,22 ^b
Mucina mista	4,42 ± 2,69 ^a	1,22 ± 0,45 ^b
<i>Artibeus lituratus</i>		
Mucina ácida	6,23 ± 1,60 ^b	13,57 ± 5,36 ^a
Mucina neutra	0,52 ± 0,30	0,56 ± 0,36
Mucina mista	1,08 ± 0,71 ^a	0,93 ± 1,11 ^b
<i>Myotis nigricans</i> *		
Mucina ácida	2,28 ± 2,59	
Mucina neutra	0,16 ± 0,32	
Mucina mista	8,29 ± 6,44	

*Não foi observado o reto dessa espécie. Densidade de mucinas obtida por colorimetria, calculando-se a área da coloração por área do campo (0,06mm²). Dados expressos como média ± desvio padrão (em µm). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo Teste t (p < 0,05).

4.2.4. Células enteroendócrinas

Foram observadas células endócrinas nas criptas intestinais em todas as espécies (Tabela 18). O intestino grosso foi o local com maior quantidade de células endócrinas. As células argentafins foram encontradas somente no morcego frugívoro, tanto no intestino delgado quanto no intestino grosso. As células argirófilas, por sua vez, foram localizadas em todas as espécies. Em *A. caudifer*, as células argirófilas foram localizadas no segmento cranial do intestino delgado, enquanto em *A. lituratus* foram vistas nos segmentos médio e caudal; e em *M. nigricans* nos segmentos cranial e caudal. No intestino grosso as células endócrinas argirófilas foram localizadas em *A. caudifer*, *A. lituratus* e *M. nigricans*. Portanto, o morcego frugívoro foi a espécie que apresentou o maior número total de células enteroendócrinas.

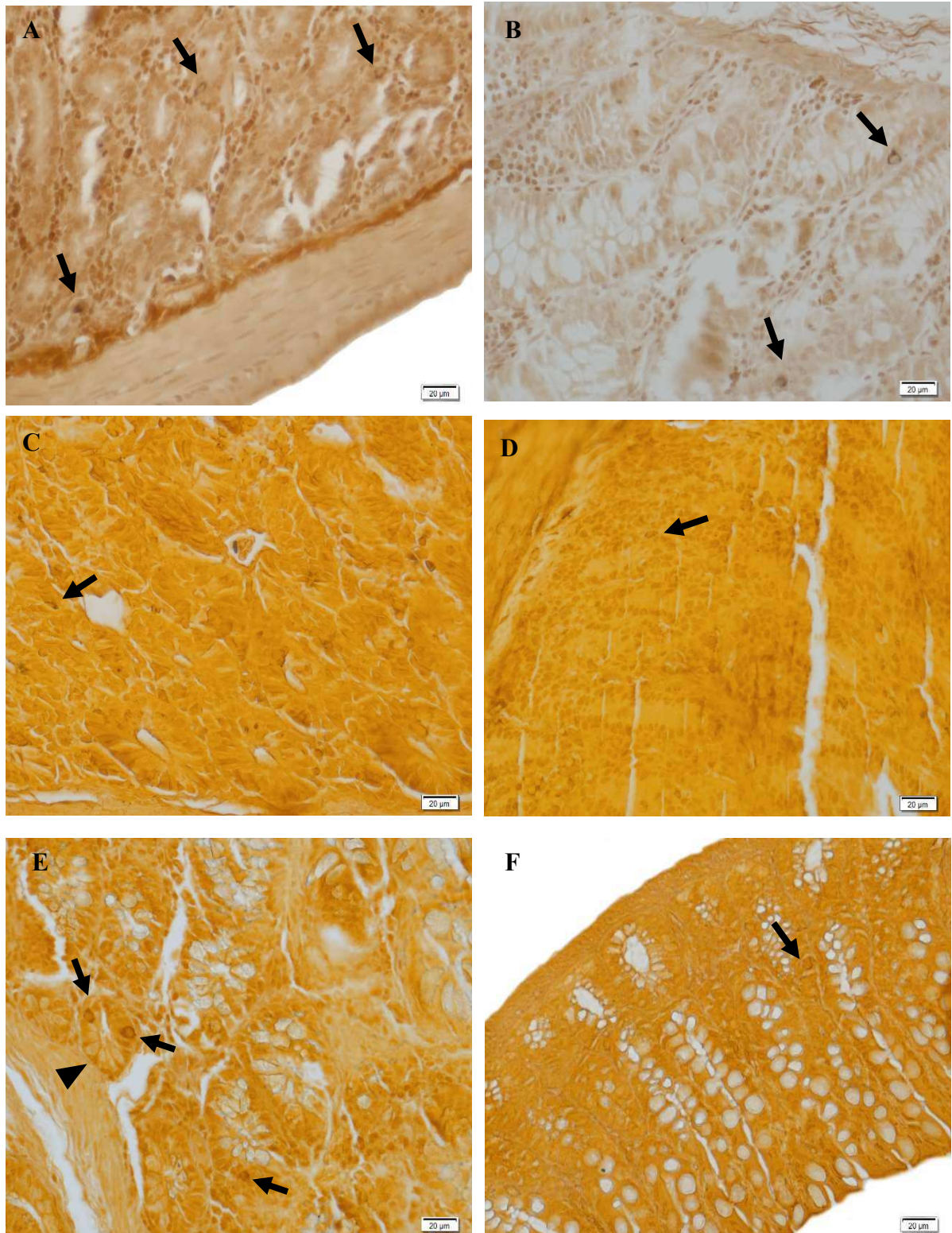
As células endócrinas apresentaram morfologia variada, mas com o predomínio de células do “tipo aberto”, exibindo formato piramidal ou oval com núcleo esférico e citoplasma corado em preto ou marrom pelas técnicas do Grimelius e Masson Fontana (Figura 14).

Tabela 18 - Percentual de células endócrinas argirófilas e argentafins nos intestinos delgado e grosso dos morcegos estudados.

Células Argentafins	<i>Anoura caudifer</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Myotis nigricans</i>
Intestino Delgado			
Segmento Cranial	0	8,55	0
Segmento Médio	0	16,28	0
Segmento Caudal	0	6,53	0
Intestino Grosso	0	20,34	0
Células Argirófilas			
Intestino Delgado			
Segmento Cranial	5,96	0	4,46
Segmento Médio	0	0,50	0
Segmento Caudal	0	0,46	9,32
Intestino Grosso	6,60	41,10	18,11

Percentual calculado pelo número de células por número de criptas no campo.

Figura 14–Fotomicrografias do intestino evidenciando as células endócrinas nos morcegos estudados.



A - Duodeno de *Artibeus lituratus*; B - Reto de *A. lituratus*. Coloração Técnica de Masson Fontana. C - Duodeno de *Anoura caudifer*; D - Jejuno de *A. lituratus*; E - Reto de *A. lituratus*; F - Cólon de *Myotis nigricans*. Coloração Técnica de Grimellius. Legenda: Seta - Células Endócrinas.

5. DISCUSSÃO

Este estudo abordou as características morfológicas e histológicas do trato gastrointestinal de três espécies de morcegos com dietas diferentes, introduzindo novas metodologias para a comparação entre espécies diferentes. Para a histometria foi elaborado um índice que considera a razão entre os constituintes do tecido, e para a colorimetria foi analisada a área de distribuição de mucinas no tecido. Através das comparações foi possível observar e inferir sobre as diferenças na estruturação histológica dos constituintes do tubo.

5.1. Estômago

O estômago dos três morcegos se mostrou como um órgão sacular típico, como já documentado na literatura para outras espécies de morcegos (Park & Hall, 1951; Perrin & Hughes, 1992; Rouk & Glass, 1970). Todavia, a morfologia estomacal de *A. lituratus* diferiu de *A. caudifer* e *M. nigricans* em alguns aspectos, entre elas, por sua aparência triangular, pela presença de um vestíbulo cárdico e de um sulco proeminente delimitando um extenso fundo cego. As espécies frugívoras de Pteropodidae e Phyllostomidae geralmente possuem um vestíbulo cárdico desenvolvido, fundo cego alongado e região pilórica estreita (Forman, 1973; Abumandour & Pérez, 2017). Os achados do presente trabalho concordam com os desses autores sobre a descrição do estômago de morcegos frugívoros, sendo que *A. lituratus* apresentou morfologia gástrica quase idêntica a dos frugívoros *Centurio senex*, *Artibeus phaeotis*, *Sturnira ludovici* e *Sturnira lilium* (Forman, 1973). Os morcegos do gênero *Artibeus* consomem apenas o suco das frutas que é composto de água e substâncias não fibrosas, não ingerindo as fibras, mas sim, as descartando como pelotas secas (Handley & Gardner, 1991; Mello et al., 2005)

O estômago de *A. caudifer* foi análogo ao descrito por Forman (1971) para a espécie nectarívora *Anoura geoffroyi*, assemelhando-se a estômagos de morcegos insetívoros, como o de *M. nigricans*, o que o autor relacionou ao consumo esporádico de insetos pelos nectarívoros.

A espécie *M. nigricans*, assim como outros morcegos insetívoros, apresentou um estômago simples sem especializações, indicativo de um estômago com características primitivas, possivelmente por ser a insetivoria a dieta basal. Nesse contexto, Kamiya e Pirlot (1975) concluíram que existem poucas diferenças na anatomia gástrica entre os morcegos insetívoros do Velho e do Novo Mundo.

As quatro camadas concêntricas (mucosa, submucosa, muscular e serosa) que constituem a parede do estômago dos morcegos são semelhantes em todas as espécies de morcegos (Rouk & Glass, 1970). O estômago foi dividido em três regiões funcionais com características diferentes: região da cárdia, região do fundo/corpo e região do piloro. Essas regiões são glandulares, com glândulas fúndicas ocupando a maior parte da mucosa gástrica. A estrutura glandular variou conforme a região, mas foi semelhante entre as espécies (salvo algumas particularidades em *A. lituratus* e *M. nigricans*): glândulas cárdicas constituídas principalmente de células mucossecretoras e parietais, glândulas fúndicas extensas constituídas por células mucossecretoras, parietais e principais, e glândulas pilóricas constituídas principalmente por células mucossecretoras.

Foi observado em *A. lituratus* que as células principais surgem em quantidade expressiva já na cárdia. Kamiya e Pirlot (1975) em suas observações nos morcegos frugívoros do Velho Mundo *Pteropus intermedius*, *Penthetor lucasi* e *Eonycteris spelaea* relataram a presença de células mucosas, células parietais e principais logo no vestíbulo cárdico, sugerindo uma adaptação para um tratamento mais rápido do alimento ingerido. Assim como em *Eidolon helvum* (Okon, 1977), o morcego frugívoro, *A. lituratus*, possuía abundantes células principais e parietais na mucosa gástrica, principalmente na região do fundo/corpo. Kamiya e Pirlot (1975) destacaram a diminuição de células parietais e principais no piloro dos frugívoros, semelhante ao que ocorreu em *A. lituratus*.

Em *M. nigricans*, assim como no insetívoro *Rhinolophus cornutus* (Kamiya & Pirlot, 1975), as regiões cárdica e pilórica possuem células mucosas e parietais, sendo que as células principais estão na região fúndica somente. Entretanto, o morcego *Myotis lucifugus lucifugus* apresentou nas regiões da cárdia e do piloro glândulas contendo apenas células mucossecretoras (Ito & Winchester, 1963), e *Miniopterus schreibersii* exibiu muitas células principais nas glândulas cárdicas, sobrepondo em quantidade as das glândulas fúndicas (Bhide, 1979).

Quando da comparação das regiões gástricas, o morcego nectarívoro *A. caudifer* não apresentou diferença significativa na espessura da mucosa ao longo do estômago, porém quando comparado aos outros morcegos, as fossetas foram mais profundas e mais estreitas e as glândulas menores com bases mais largas. O alimento consumido por estes animais, normalmente açucarados, são substâncias mais fáceis de serem quebradas em moléculas menores e de serem absorvidas no intestino. A grande quantidade de células mucosas encontradas nas fossetas e no colo da glândula auxiliam na fluidez do alimento para o duodeno,

agilizando o processo de esvaziamento do estômago; possivelmente, não há grande produção de pepsinogênio devido ao reduzido número de proteínas ingeridas na alimentação.

A espessura da camada mucosa variou entre os segmentos de *A. lituratus*, sendo menos espessa no segmento caudal. Nesse morcego frugívoro, o segmento médio apresentou as fossetas mais curtas em relação aos outros morcegos, porém eram mais largas. Nas glândulas de *A. lituratus*, a altura do colo e da base foram maiores em relação a *A. caudifer*, contudo a base da glândula foi menos larga. Devido às propriedades dos alimentos consumidos, é provável que a grande produção de ácido clorídrico e pepsina seja necessária, especialmente de ácido, tendo sido constatado grande quantidade de células parietais ao longo da mucosa gástrica.

Diferente do citado por Bhidé (1979), no morcego *Miniopterus schreibersii*, que apresentou camada mucosa mais espessa na região cárdica que na região do piloro, em *M. nigricans* a espessura da mucosa foi menor na cárdica que nos demais segmentos. Ito e Winchester (1963) observaram que a espessura da mucosa em *Myotis lucifugus lucifugus* ocupava quase a metade da espessura da parede, e que esta camada variou em espessura entre as regiões, expondo glândulas gástricas um pouco mais curtas na região fúndica e mais longas na pilórica. Abumandour e Pérez (2017) aludiram que a maior espessura de mucosa e as fossetas mais longas foram encontradas no morcego insetívoro *Taphozous perforates* em relação ao frugívoro *Rousettus aegyptiacus*. De forma similar, em *M. nigricans* foram vistas fossetas profundas em comparação a *A. lituratus*. Nos morcegos insetívoro e frugívoro, as fossetas eram mais largas e com maior altura do colo glandular do que as de *A. caudifer*. A configuração glandular dos morcegos insetívoros e frugívoros está intimamente relacionada com o tipo de alimento consumido, dessa forma há uma maior produção de secreções capazes de quebrar as moléculas de proteínas e agilizar o processo digestivo.

Conforme reportado Rouk e Glass (1970), este estudo concorda que a camada submucosa nos morcegos é formada por tecido conjuntivo, com vasos sanguíneos e linfáticos, e afirma a ausência ou a raridade do plexo submucoso. Rouk e Glass (1970) reportaram a comum presença de nódulos linfáticos em morcegos insetívoros, diferentemente dos nectarívoros. Entretanto, em nossas observações o morcego nectarívoro *A. caudifer* apresentou nódulos linfáticos. Similar ao que foi visto no morcego frugívoro *Rousettus aegyptiacus* (Abumandour & Pérez, 2017), também encontramos nódulos em *A. lituratus*. Ainda em *A. lituratus*, a camada submucosa continha tecido adiposo unilocular. Segundo Forman (1973) essa é uma característica típica do gênero *Artibeus*, entretanto o autor não infere sobre a funcionalidade deste tecido na parede gástrica. No morcego frugívoro a espessura da

submucosa foi significativamente maior no segmento caudal, devido à grande concentração de tecido adiposo nesta região; é possível que essa propriedade garanta ao órgão energia para a intensa atividade motora, além de proteção mecânica.

A camada muscular é formada por duas subcamadas, uma interna circular e outra externa longitudinal. A espessura destas subcamadas variou nas diferentes regiões do estômago. Como mostrado neste estudo, em todos os morcegos a subcamada circular interna formada de músculo liso sofre um aumento em sua espessura na região pilórica para a formação do esfíncter na junção gastroduodenal. A maior espessura da subcamada muscular circular para a formação do esfíncter é comum aos morcegos, e geralmente o esfíncter pilórico é simétrico nos insetívoros (Rouk & Glass, 1970; Forman, 1971; Forman, 1973; Kamiya & Pirlot, 1975; Bhide, 1979; Perrin & Hughes, 1992). Rouk e Glass (1970) destacaram que em morcegos insetívoros a camada longitudinal externa é geralmente mais fina nas regiões cárdica e pilórica, e de igual espessura ao longo da região corpo/fúndica, todavia, em *M. nigricans* a maior espessura da longitudinal externa foi vista na cárdica e menor no piloro. Bhide (1979) considerou que as duas subcamadas são igualmente grossas em algumas regiões do estômago, porém quando se aproxima da região pilórica há um aumento na espessura da circular. Existem variações na espessura das camadas musculares em razão do estado contrátil das mesmas, especialmente na metade distal do estômago, onde há maior atividade motora. O morcego *M. nigricans* conta com uma musculatura desenvolvida nas regiões cárdica e fúndica, justamente por garantir a digestão mecânica do bolo alimentar que é bastante rígido.

Perrin e Hughes (1992) inferiram que a camada muscular dos morcegos insetívoros *Miniopterus schreibersi*, *Miniopterus fraterculus*, *Rhinolophus simulator* e *Miniopterus tricolor* foi mais espessa em todo o estômago que no frugívoro *Epomophorus wahlbergi*, sugerindo que a musculatura proeminente dos insetívoros corresponde a uma resposta à natureza do alimento ingerido, que necessita de maiores contrações musculares para a mistura das secreções gástricas. Os numerosos gânglios do plexo mioentérico (de Auerbach) entre as subcamadas musculares também foram descritos Rouk e Glass (1970). A camada serosa, assim como nos mamíferos em geral, é uma fina camada externa de tecido conjuntivo que cobre a túnica muscular (El-Mansi et al., 2019; Junqueira & Carneiro, 2013).

As mucinas (glicoconjugados) neutras foram as mais abundantes no estômago dos morcegos estudados. As secreções das glândulas pilóricas e das glândulas de Brünner foram semelhantes em sua natureza química, ricas em mucinas neutras. Através da técnica conjugada de AB/PAS, Sheahan & Jervis (1976) notaram o predomínio de glicoconjugados neutros em 11

espécies de mamíferos, incluindo o homem. As células mucosas da superfície gástrica em *A. caudifer* tiveram reação positiva para mucinas neutras e as células mucosas do colo positivas para mucinas ácidas, semelhante ao encontrado em *Anoura. geoffroyi* (Forman, 1971). As mucinas ácidas são importantes para a fluidez do muco, facilitando o trânsito alimentar, certamente mais rápido em nectarívoros. O morcego frugívoro *A. lituratus* apresentou glicoconjugados mistos e neutros em suas células mucosas. A secreção neutra já foi demonstrada para os frugívoros *Rousettus aegyptiacus* (El-Desouk et al., 2006) e *Pteropus intermedius* (Kamiya & Pirlot, 1975). Todavia, El-Mansi et al. (2019) observaram em *R. aegyptiacus* reação positiva intensa para mucinas ácidas nas células mucosas das glândulas gástricas, além de mucinas neutras e mistas. Diferente de *M. nigricans* que manteve a secreção neutra em todo o estômago, os insetívoros *Myotis velifer*, *Tadarida brasiliensis*, *Antrozous pallidus* e *Taphozous nudiventris* tiveram em suas células mucosas superficiais reação positiva para resíduos de ácido carboxilado (Rouk & Glass, 1970; El-Desouk et al., 2006). Nos morcegos *Miniopterus schreibersii* e *Rhinolophus ferrumequinum* houveram secreções de mucinas ácidas, porém com predomínio de mucinas neutras na região pilórica (Bhide, 1979; Scillitani et al., 2007). As células mucosas da superfície de *Pipistrellus pipistrellus* produziam muco neutro, enquanto as células do colo secretavam uma mistura de muco neutro e ácido (Strobel et al., 2015), e em *Taphozous perforatus* foram observadas mucinas predominantemente ácidas, como também neutras e mistas (El-Mansi et al., 2019). Dessa forma, compreende-se que as mucinas neutras realizam função crucial para proteção do epitélio contra agressores químicos, físicos e biológicos, além de facilitar o trânsito do alimento ao intestino, por essas características são essenciais na mucosa gástrica. A secreção de mucinas ácidas e mistas parece estar associada ao tipo de hábito alimentar, uma vez que são menos secretadas ou não secretadas em morcegos insetívoros, ou ainda, poderia ter implicação filogenética, estando ausente no tipo basal da dieta alimentar.

5.2. Intestinos

Os morcegos possuem intestinos curtos e morfologicamente simples quando comparados a de outros mamíferos não voadores. Price et al. (2015) afirmaram que apesar deste encurtamento intestinal e consecutiva menor área de superfície, estes animais dispõem de uma absorção paracelular mais rápida de nutrientes solúveis em água, consistindo em um mecanismo de compensação. Além disso, no cólon da espécie frugívora *Eidolon helvum*, Ogunbiye e Okon (1976) encontraram alta atividade enzimática de maltase e tripsina o que pode indicar que nesta

região do tubo digestivo, até então relacionada a absorção de água e eletrólitos, é responsável por digerir e absorver nutrientes. Tedman e Hall (1985) sugeriram que a rápida passagem de alimentos pelo trato digestivo pode garantir vantagens para os morcegos, evitando carga de peso, aumentando sua capacidade de manobra e menor custo energético durante o voo.

Neste estudo, não foi percebido a clara distinção entre os intestinos, que se constituíram como um tubo uniforme. A ausência de distinção macroscópica entre intestinos delgado e grosso em morcegos com diferentes hábitos alimentares já foi documentada em diversos estudos (Okon, 1977; Ishikawa et al., 1985; Tedman & Hall, 1985; Makanya & Maina, 1994; Scillitani et al., 2007; Gadelha-Alves et al., 2008; Paksuz & Paksuz, 2015; Selim & El Nahas, 2015; Strobel et al., 2015). Em algumas espécies, entre o intestino delgado e o grosso foram observadas externamente pequenas protuberâncias, as placas de Peyer (Gadelha-Alves et al., 2008; Selim & El Nahas, 2015). E no morcego insetívoro *Rhinopoma hardwickii* foi verificada uma pequena estrutura semelhante a um ceco, com vilosidades curtas e abundantes células caliciformes, e em sua submucosa havia tecido linfoide (Aylward et al., 2019).

As quatro camadas concêntricas (mucosa, submucosa, muscular e serosa) que constituem os intestinos dos morcegos são comuns aos mamíferos (Junqueira & Carneiro, 2013). Os diversos formatos de vilos, encontrados ao longo da mucosa do intestino delgado nas diferentes espécies neste estudo, refletem a variedade morfológica para ampliação da superfície absorptiva nos morcegos. Em quirópteros já foram observados vilos em forma de língua, em ziguezague, digitiformes e piramidais, como também vilos semelhantes a favos de mel e cristas (Ishikawa et al., 1985; Makanya & Maina, 1994; Scillitani et al., 2007; Gadelha-Alves et al., 2008; E. P. nar Paksuz & Paksuz, 2015; Selim & El Nahas, 2015; Strobel et al., 2015; El-Mansi et al., 2019). Tais padrões dos vilos podem estar associados ao tipo de dieta, contribuindo para uma otimização da superfície de contato para a digestão e absorção dos nutrientes, ou pode ter relação com a filogenia das espécies.

A espessura da parede e da mucosa, assim como a altura dos vilos, foram maiores no duodeno e diminuíram à medida que se aproximava do intestino grosso. A diminuição da altura dos vilos distalmente foi reportada nos morcegos *Pteropus poliocephalus*, *Pteropus alecto* (Pteropodidae) (Tedman & Hall, 1985), *Rhinolophus ferrumequinum* (Rhinolophidae) (Scillitani et al., 2007), *Rhinolophus hildebrandti* (Makanya & Maina, 1994), *Asellia tridens* (Hipposideridae), *Chaerephon pumilus* (Molossidae) e *Nycteris thebaica* (Nycteridae) (Aylward et al., 2019). Tal fato certamente está ligado à funcionalidade desse segmento, uma vez que o duodeno é o local do intestino onde ocorre a maior parte da digestão e absorção dos

nutrientes, para tanto necessita otimizar a superfície de contato e atividade secretória. A presença de criptas mais profundas no duodeno também condiz com sua grande participação nos processos digestivos.

No nosso trabalho, comparando os mesmos segmentos intestinais entre as diferentes espécies, as maiores vilosidades foram observadas nas espécies em que as criptas foram menores, no caso *A. lituratus*, seguido de *M. nigricans* e *A. caudifer*. Gadelha-Alves et al. (2008) analisaram a morfometria das criptas e dos vilos no segmento médio do intestino delgado, e relataram criptas mais profundas em *Phyllostomus hastatus* (onívoro) e mais curtas em *Desmodus rotundus* (hematófago), enquanto os vilos mais altos foram observados em *Sturnira lilium* e *Carollia perspicillata* (frugívoros). Quando comparados, El-Mansi et al. (2019) notaram vilos mais altos no morcego frugívoro *Rousettus aegyptiacus* que no insetívoro *Taphozous perforatus*.

O epitélio da camada mucosa no intestino delgado é constituído de células absortivas e células caliciformes com proeminentes microvilos em sua região apical. Este tipo de epitélio é comum a morcegos e demais mamíferos (Tedman & Hall, 1985; Gadelha-Alves et al., 2008; Junqueira & Carneiro, 2013; Selim & El Nahas, 2015). A altura do epitélio foi significativamente diferente entre as regiões no morcego nectarívoro *A. caudifer*, apresentando menor altura no jejuno, onde a borda em escova mostrou-se mais alta, o que também ocorreu no frugívoro *A. lituratus*. O empacotamento das microvilosidades é uma adaptação a nível celular que aumenta a área da superfície exposta ao lúmen, garantindo a captação otimizada de moléculas (Maroux et al., 1988), o que reflete a importante participação do jejuno na absorção de nutrientes. O morcego nectarívoro possuiu maior altura de borda em escova no intestino delgado do que *A. lituratus* e *M. nigricans*, essa condição pode estar associada a uma rápida absorção dos nutrientes de fácil digestão e que também são absorvidos por via paracelular. O insetívoro, *M. nigricans*, apresentou maior altura do epitélio em todas regiões do intestino delgado em relação aos outros morcegos. A maior altura do epitélio também pode ser um aspecto adaptativo para otimizar a absorção, tendo em vista que diminui a distância de deslocamento dos nutrientes.

Anoura caudifer, *Artibeus lituratus* e *Myotis nigricans* possuíam células de Paneth em todo o tubo intestinal. Estas células granuladas, localizadas na base das criptas intestinais, são responsáveis pela liberação de peptídeos antimicrobianos auxiliando na proteção do intestino (Ouellette, 1997; Porter et al., 2002). Estas células são somente encontradas no intestino delgado de mamíferos e aves (Banks, 1992); entretanto em morcegos podem estar distribuídas

em todo intestino. Gadelha-Alves et al. (2008) encontraram células de Paneth em *Phyllostomus hastatus*, *Desmodus rotundus*, *Sturnira lilium* e *Carollia perspicillata*. No insetívoro *Taphozous nudiventris* foram observadas as células de Paneth na base das criptas de morcegos adultos, pré-natal e pós-natal (Selim & El Nahas, 2015). Tedman e Hall (1985) verificaram algumas células de Paneth somente no duodeno nos morcegos frugívoros *Pteropus alecto* e *Pteropus poliocephalus*.

A camada submucosa foi formada por tecido conjuntivo frouxo, com vasos sanguíneos e linfáticos, semelhantemente a de outros mamíferos (Gadelha-Alves et al., 2008; Junqueira & Carneiro, 2013; Selim & El Nahas, 2015). A espessura da submucosa entre os segmentos foi significativamente diferente em *A. caudifer* e *M. nigricans*, consistindo em maior espessura no duodeno. Gadelha-Alves et al. (2008) atribuíram a *D. rotundus* uma submucosa mais densa do que a dos outros morcegos analisados. Em *A. caudifer*, *A. lituratus* e *M. nigricans* foram observadas glândulas de Brünner secretando muco alcalino bem próximo ao esfíncter gastroduodenal. A presença e a quantidade destas glândulas no duodeno podem variar entre as espécies de morcego conforme a sua alimentação (Tedman & Hall, 1985; Scillitani et al., 2007; E. P. nar Paksuz & Paksuz, 2015; Selim & El Nahas, 2015; Strobel et al., 2015; Aylward et al., 2019). As glândulas de Brünner foram mais numerosas em *M. nigricans* em relação às demais espécies, portanto pode se considerar que a dieta insetívora, rica em proteínas, leva à maior acidez duodenal e necessita ser neutralizada rapidamente.

A camada muscular externa é composta por duas camadas, uma circular e outra longitudinal, e entre elas existe o plexo mioentérico (Junqueira & Carneiro, 2013). A espessura da camada muscular não apresentou diferenças entre os segmentos de *A. caudifer* e *M. nigricans*, todavia no morcego frugívoro o íleo teve maior espessura. A subcamada muscular circular no morcego nectarívoro foi mais fina no jejuno comparada ao íleo, porém o inverso ocorre para a muscular longitudinal. A muscular circular é mais espessa no íleo de *A. lituratus*. Similar ao que ocorreu em *A. caudifer*, o morcego *M. nigricans* possuía menor espessura da muscular longitudinal no íleo. O aumento da espessura na camada muscular circular próximo ao intestino grosso foi constatada por Tedman e Hall (1985) e Gadelha-Alves et al. (2008). Este aumento da muscular circular é conveniente pois levará à maior motilidade, para compressão e eliminação do bolo fecal pelo intestino grosso, apesar do seu reduzido tamanho em morcegos. El-Mansi et al. (2019) também obtiveram diferenças significativas entre a espessura da camada muscular de *Rousettus aegyptiacus* e *Taphozous perforatus*. Nossos achados revelaram que *M. nigricans* conta com uma musculatura bastante desenvolvida ao longo do intestino delgado em

relação a *A. caudifer* e *A. lituratus*. Este fato indica que o morcego insetívoro por consumir alimentos rígidos e fibrosos necessita de uma considerável atividade motora para a propulsão do bolo alimentar, em contrapartida, o morcego nectarívoro, por sua dieta ser fluída, na maioria das vezes, não necessita de uma musculatura bastante desenvolvida. O mesmo ocorre com *A. lituratus* nas regiões do duodeno e jejuno, porém na região do íleo a musculatura se torna mais espessa, possivelmente isso ocorre devido a uma maior concentração de fibras que até então estavam misturadas a açúcares e proteínas. A camada serosa é fina, formada por tecido conjuntivo frouxo revestida por mesotélio, similar à da maioria dos mamíferos (Junqueira & Carneiro, 2013)..

Agregados linfóides foram identificados na junção íleo/cólon nas espécies *A. caudifer* e *A. lituratus*. Forman (1974) ao analisar o tubo intestinal de 35 espécies de morcegos, incluindo *A. lituratus*, 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, mas não haviam placas no intestino grosso. Todavia, no presente trabalho, associações de tecido linfóide semelhantes às placas de Peyer foram encontradas no intestino grosso das espécies estudadas. Igualmente, Makanya e Maina (1994) observaram na submucosa retal em *Rhinolophus hildebrandti* agregações de nódulos linfóides. Gadelha-Alves et al. (2008) relataram abundante tecido linfóide no tubo intestinal em *Sturnira lilium* e *Desmodus rotundus*, enquanto em *Phyllostomus hastatus* e *Carollia perspicillata* essas placas se concentravam na junção entre intestinos delgado e grosso. Ishikawa et al. (1985) e Paksuz e Paksuz (2015) relataram a presença de nódulos na porção íleo/cólon dos morcegos *Myotis frater kaguae* e *M. myotis*, respectivamente. No insetívoro *Pipistrellus pipistrellus* não foi observado tecido linfóide ao longo de todo o tubo (Strobel et al., 2015). A presença de agregados linfóides constituindo as placas de Peyer, geralmente na junção íleo-cólon, assim como os nódulos presentes no intestino grosso, configuram um importante mecanismo de defesa que impede que agentes patogênicos causem danos ao órgão, que geralmente é mais colonizado por microrganismos que o intestino delgado. Tendo em vista as variações na presença e distribuição das placas de Peyer em morcegos, necessita-se de mais estudos para averiguar se há relação com o hábito alimentar e/ou com a filogenia das espécies, ou mesmo com características regionais.

Caracterizado pela ausência de vilosidades e pelo aumento na densidade de células caliciformes, o intestino grosso foi constituído por cólon descendente e reto. Okon (1977) descreveu as criptas de *Tadarida nigeriae* (insetívoro) e *Eidolon helvum* (frugívoro) como

distintas às do intestino delgado, devido a seu tamanho e formato semelhante às projeções vilosas; o mesmo ocorreu neste estudo, especialmente em *A. lituratus*. Devido ao tamanho reduzido dos intestinos, esta configuração das criptas pode ser uma adaptação para uma absorção otimizada dos nutrientes ainda disponíveis no lúmen, em associação com o grande número de células absortivas e borda estriada desenvolvida no intestino grosso. Assim como em *M. nigricans*, a porção do intestino grosso era muito curta em *Pipistrellus pipistrellus*, *Rhinolophus hildebrandti* e *Tadarida nigeriae*, não sendo notória a diferença entre o colón e o reto (Okon, 1977; Makanya & Maina, 1994; Strobel et al., 2015). Gadelha-Alves et al. (2008) afirmaram que o intestino grosso foi similar entre as espécies *Phyllostomus hastatus*, *Desmodus rotundus*, *Carollia perspicillata* e *Sturnira lilium*, apresentando cólon descendente e reto, o que também foi encontrado em *Myotis myotis* por Paksuz e Paksuz (2015). Ishikawa et al. (1985) observaram o cólon e reto em *Myotis frater kaguae*, pontuando que as criptas no intestino grosso eram mais longas que no jejuno e íleo, e que as células absortivas possuíam microvilosidades bastantes desenvolvidas.

As células caliciformes são capazes de sintetizar e secretar moléculas bioativas. A camada de muco secretada pelas células caliciformes sobre o epitélio é muito importante para a defesa contra lesões físicas e químicas causadas pela ingestão de alimentos e micróbios, para o transporte do bolo alimentar e a eliminação do conteúdo fecal (Dharmani et al., 2009).

Os glicoconjugados foram identificados nos intestinos conforme sua natureza por meio de técnicas histoquímicas. Mucinas ácidas e mistas foram as mais abundantes no intestino delgado de *A. caudifer* e *A. lituratus*, enquanto em *M. nigricans* houve o predomínio de mucinas mistas. Todas as cinco espécies estudadas por Gadelha-Alves et al. (2008) tiveram reação positiva para mucinas neutras e ácidas em todo o intestino (PAS/ AB pH 2,5). Selim & El Nahas (2015) relataram que as células caliciformes de *Taphozous nudiventris* foram fortemente coradas por PAS. Em *Myotis myotis*, por meio da coloração AB/PAS (pH 5,8) no intestino delgado, houve a presença de mucinas neutras e ácidas, com o predomínio de mucinas ácidas (Paksuz, 2014). A espécie *Pipistrellus pipistrellus* revelou glicoconjugados mistos, neutros e ácidos ao longo do tubo digestivo (Strobel et al., 2015). Nos vilos de morcegos frugívoros e insetívoros, as células caliciformes tiveram reação positiva para mucinas ácidas e nas criptas foram identificadas mucinas neutras e ácidas (El-Mansi et al., 2019). Por sua vez, o morcego *Rhinolophus ferrumequinum* produz mucinas positivas para PAS/ AB (pH 2,5) e AB (pH 1,0) nas células caliciformes no duodeno e jejuno-íleo (Scillitani et al., 2007). Pelo visto, é consenso a presença de variados tipos de mucinas no intestino delgado de morcegos, assim como no de

outros mamíferos (Subbuswamy, 1971; Sheahan & Jervis, 1976; Kotzé & Coetzee, 1994; Boonzaier et al., 2013; Johnson et al., 2016).

As glândulas de Brünner secretavam muco alcalino nas três espécies de morcego deste estudo, o mesmo foi encontrado por Scillitani et al. (2007) no morcego *Rhinolophus ferrumequinum*, como também em *Asellia tridens*, *Chaerephon pumilus*, *Nycteris thebaica* e *Rhinopoma hardwickii* por Aylward et al. (2019). A secreção exclusivamente neutra também foi observada no rato, gato, cachorro e homem (Sheahan & Jervis, 1976). A secreção neutra liberada por essas glândulas no lúmen intestinal possivelmente está associada a neutralização do quimo ácido recém-chegado do estômago, consequentemente impedindo que danos químicos ocorram na mucosa intestinal.

No intestino grosso as células caliciformes com mucinas mistas foram predominantes em *A. caudifer* e *M. nigricans*, em contrapartida as mucinas ácidas foram mais frequentes em *A. lituratus*. Sheahan e Jervis (1976) consideraram que, embora ocorresse mucossustâncias neutras em todo o intestino grosso, geralmente o tipo predominante foram os glicoconjugados ácidos. A grande quantidade de células caliciformes no intestino grosso é fundamental para que haja a lubrificação necessária para a eliminação das fezes, assim como a proteção contra adesão e penetração de micróbios. Neste contexto, as mucinas neutras são especialmente importantes pela sua natureza viscosa, por outro lado, as mucinas ácidas são importantes contra a ação de enzimas microbianas presentes nas fezes, como as glicosidases fecais (Rhodes et al., 1985). A grande quantidade mucinas ácidas presente especialmente no morcego *A. lituratus* pode estar associada ao hábito alimentar rico em fibras, uma vez que os microrganismos utilizam esses materiais não digeríveis como fonte de nutrientes (Mcfarland, 2000; Isolauri et al., 2004).

Neste estudo, células argentafins estavam presentes somente no morcego frugívoro, porém células argirófilas foram vistas nas três espécies. O morcego frugívoro apresentou a maior quantidade de células, sendo o intestino grosso a região com mais células endócrinas. Utilizando as técnicas histoquímicas de Grimellius e Masson-Fontana, células enteroendócrinas foram descritas no trato digestivo de muitos mamíferos (Oomori et al., 1980; Kitamura et al., 1982; Fonseca et al., 2002; Bressan et al., 2004; Freitas-Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2004; Santos et al., 2013 Sartori et al., 2018). Células endócrinas foram identificadas no intestinos de morcegos por meio de técnicas histoquímicas (Santana, 2015; Silva, et al., 2020) e imunohistoquímicas (Ashihara et al., 1999; Komori et al., 2000; Santos et al., 2008a; Santos et al., 2008b). As células endócrinas produzem variados peptídeos e amins biologicamente ativos, possuindo funções importantes no controle da secreção de líquidos e eletrólitos, de

enzimas digestivas e outras secreções glandulares, como também na proliferação celular e regulação da motilidade (Rodrigues et al., 2005). Células argirófilas representam uma população heterogênea de células endócrinas que são capazes de absorver sais de prata através da adição de um agente redutor externo, e as células argentafins reduzem diretamente os sais de prata. As células endócrinas que se estendem até o lúmen e respondem à estímulos químicos e alterações do pH podem ser classificadas como células do “tipo aberto”, enquanto as células do “tipo fechado” recebem essa denominação por não possuírem contato com o lúmen, respondendo à estímulos humorais (Rodrigues et al., 2005).

6. CONCLUSÕES

O trato gastrointestinal dos morcegos era constituído pelas camadas mucosa, submucosa, muscular e serosa. Embora os constituintes histológicos dos órgãos apresentassem semelhanças, foi possível observar diferenças significativas quanto aos aspectos morfológicos, histométricos e histoquímicos entre as espécies. Os estômagos das espécies estudadas eram saculares e glandulares. A camada mucosa do estômago apresentou fossetas e glândulas com diferentes proporções entre as espécies. Diferente das outras espécies deste estudo, a submucosa de *Artibeus lituratus* continha abundante tecido adiposo. Em relação à secreção mucígena, as mucinas neutras foram as mais abundantes no estômago das três espécies.

O tubo intestinal era curto e não apresentou diferenças macroscópicas entre intestinos delgado e grosso. A camada mucosa exibia grandes vilos com diversos formatos, e no epitélio observou-se uma borda estriada proeminente em toda extensão do tubo intestinal, inclusive no intestino grosso, indicando que existe nestes animais mecanismos de ampliação da superfície de contato. As células de Paneth foram encontradas na base das criptas intestinais, e foram abundantes em *A. lituratus*. No intestino delgado as células caliciformes secretavam mucinas ácidas, neutras e mistas em *Anoura caudifer* e *A. lituratus*, e somente neutras e mistas em *Myotis nigricans*. No intestino grosso foram observadas Placas de Peyer nas três espécies de morcego. Células caliciformes eram abundantes neste segmento, secretando mucinas ácidas, neutras e mistas. As células endócrinas argentafins estavam presentes somente no morcego frugívoro, enquanto células endócrinas argirófilas foram encontradas em todas as espécies, com maior representatividade no intestino grosso de *A. lituratus*.

Este estudo apresentou diferentes abordagens para a descrição e comparação entre o trato gastrointestinal de diferentes espécies de morcegos, contribuindo para o conhecimento biológico e evolutivo destes animais. A maioria dos trabalhos que compararam a morfologia do tubo digestivo dos morcegos se resumem à descrição, o que revela uma grande lacuna no que diz respeito à morfometria, bioquímica e fisiologia do tubo. Assim, são necessários estudos interdisciplinares que permitam preencher significativamente o conhecimento acerca de mecanismos e adaptações morfofisiológicos do trato digestivo tendo vista aspectos da ecologia das espécies.

REFERÊNCIAS

- Abumandour, M. M. A., & Pérez, W. (2017). Morphological and Scanning Electron Microscopy Studies of the Stomach of the Egyptian Fruit Bat (*Rousettus aegyptiacus*). *International Journal of Morphology*, 35(1), 242–250. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022017000100040>
- Altringham, J. (2011). *Bats: From Evolution to Conservation* (O. U. Press (ed.); 2nd ed.). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ashihara, N., Taddei, V. A., Hondo, E., Kitamura, N., Pai, V. D., Valencio J. D. M Campos, C. N. C., & Yamada, J. (1999). An Immunohistochemical Study of Gut Endocrine Cells in Nectarivorous Frugi Bats Chiroptera: Anour. *Gut Endocrine Cells in Phyllostoinid Bats*, 4(2), 125–133.
- Ayala-Berdon, J., & Schondube, J. E. (2011). A physiological perspective on nectar-feeding adaptation in phyllostomid bats. *Physiological and Biochemical Zoology*, 84(5), 458–466. <https://doi.org/10.1086/661541>
- Aylward, M., Beselaar, L. C., Alagaili, A. N., Amor, N. M. S., Mohammed, O. B., & Kotzé, S. H. (2019). 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*, 280(8), 1106–1117. <https://doi.org/10.1002/jmor.21004>
- Bancroft, J.D. & Stevens, A. (1996) *Theory and Practice of Histological Techniques*. 4th Edition, Churchill Livingstone, New York.
- Banks, W. J. (1992). *Histologia veterinária aplicada*. São Paulo: Manole, 629.
- Bhide, S. A. (1979). Observations on the anatomy, histology and histochemistry of the stomach of the vespertilionid bat *Miniopterus schreibersii* (Kuhl). *Proceedings: Animal Sciences*, 88(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/BF03179619>
- Boonzaier, J., Van der Merwe, E. L., Bennett, N. C., & Kotzé, S. H. (2013). A comparative histochemical study of the distribution of mucins in the gastrointestinal tract of three insectivorous mammals. *Acta Histochem*, 115(6):549–56, <http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2012.12.003>.
- Boyles, J. G., Cryan, P. M., McCracken, G. F., & Kunz, T. H. (2011). Economic importance of bats in agriculture. *Science*, 332(6025), 41–42. <https://doi.org/10.1126/science.1201366>
- Bressan, M. S., Fonseca, C. C., Menin, E., Paula, T. A. (2004). Identificação e quantificação de gânglios nervosos, células argentafins, argirófilas e imunorreativas à serotonina no ceco da capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Revista Ceres*, 51(298), 729–739.
- Brinati, A., Oliveira, J. M., Oliveira, V. S., Barros, M. S., Carvalho, B. M., Oliveira, L. S., ... & Freitas, M. B. (2016). Low, Chronic Exposure to Endosulfan Induces Bioaccumulation and Decreased Carcass Total Fatty Acids in Neotropical Fruit Bats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(5), 626–631. doi:10.1007/s00128-016-1910-8
- Burgin, C. J., Colella, J. P., Kahn, P. L., & Upham, N. S. (2018). How many species of mammals are there? *Journal of Mammalogy*, 99(1), 1–14.

<https://doi.org/10.1093/jmammal/gyx147>

- Caviedes-Vidal, E., McWhorter, T. J., Lavin, S. R., Chediack, J. G., Tracy, C. R., & Karasov, W. H. (2007). The digestive adaptation of flying vertebrates: High intestinal paracellular absorption compensates for smaller guts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(48), 19132–19137. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703159104>
- Costa, L. D. M., Tabosa, L. de O., Luz, J. L., & Carvalho, W. D. de. (2016). Predadores naturais de morcegos no Brasil. *Boletim Da Sociedade Brasileira de Mastozoologia*, 77, 131–142.
- Crawley, S. W., Mooseker, M. S., & Tyska, M. J. (2014). Shaping the intestinal brush border. *Journal of Cell Biology*, 207(4), 441–451. <https://doi.org/10.1083/jcb.201407015>
- Dharmani, P., Srivastava, V., Kisson-Singh, V., & Chadee, K. (2009). Role of intestinal mucins in innate host defense mechanisms against pathogens. *Journal of Innate Immunity*, 1(2), 123–135. <https://doi.org/10.1159/000163037>
- El-Desouk, N. I., Madkour, G., Sayed, A. E.-H. H., Attia, W. Y., & I.El-Refaiy, A. (2006). Histological, cytological and histochemical studies on the stomach of two common species of Egyptian bats, *Rousettus aegyptiacus* and *Taphozous nudiventris*. *Egypt. J. Exp. Biol.*, 2, 137–152. <http://www.globalbuddhism.org/jgb/index.php/jgb/article/view/88/100>
- El-Mansi, A. A., Al-Kahtani, M. A., & Abumandour, M. M. A. (2019). Comparative phenotypic and structural adaptations of tongue and gastrointestinal tract in two bats having different feeding habits captured from Saudi Arabia: Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*) and Egyptian tomb bat (*Taphozous perforatus*). *Zoologischer Anzeiger*, 281, 24–38. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2019.05.005>
- Fonseca, C. C., Nogueira, J. C., & Barbosa, A. J. (2002). Argyrophilic and glucagon-immunoreactive cells in the ileum and colon of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). *Cells, tissues, organs*, 170(1), 29–33. <https://doi.org/10.1159/000047918>
- Forman, G. L. (1971). Gastric morphology in selected mormoopid and glossophagine bats as related to systematic problems. In *Transactions Illinois Academy of Science* 64, 273–282).
- Forman, G. L. (1973). Studies of Gastric Morphology in North American Chiroptera (Emballonuridae, Noctilionidae, and Phyllostomatidae). *Journal of Mammalogy*, 54(4), 909–923.
- Forman, G. L. (1974). Structure of Peyer's Patches and Their Associated Nodules in Relation to Food Habits of New World Bats. *Journal of Mammalogy*, 55(4), 738–746. <https://doi.org/10.2307/1379404>
- Forman, G. L. (1974). Comparative studies of organized gut-associated lymphoid tissue in mammals with diverse food habits. distribution, size, and organization of peyer's patches in new world bats. *Ill State Acad. SCI*, 67(2), 152–162.b
- Freitas-Ribeiro, G. M., Fonseca, C. C., Sartori, S. S. R., Loures-Ribeiro, A., & Neves, C. A. (2012). Endocrine cells and nerve ganglia of the small intestine of the opossum *Didelphis aurita* wied-neuwied, 1826 (Mammalia: Didelphidae). *Anais Da Academia*

- Brasileira de Ciencias*, 84(3), 747–757. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652012005000045>
- Gadelha-Alves, R., Rozensztranch, A. M. D. S., & Barbosa, O. R. (2008). Comparative Intestinal Histomorphology of Five Species of Phyllostomid Bats (Phyllostomidae, Microchiroptera): Ecomorphological Relations with Alimentary Habits / Histomorfometria Comparativa de Intestino de Cinco Especies de Murciélagos Phyllostomideos. *International Journal of Morphology*, 26(3), 591–602. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022008000300014>
- Garbino, G. S. T., R., Gregorin, I. P., Lima, L., Loureiro, L. M., Moras, R., Moratelli, M. R., Nogueira, A. C., Pavan, V. C., Tavares, M. C. do Nascimento & Peracchi, A. L. (2020). Updated checklist of Brazilian bats: versão 2020. *Comitê da Lista de Morcegos do Brasil—CLMB. Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (Sbeq)*. <<https://www.sbeq.net/lista-de-especies>> acessado em: 11/05/2021.
- Gebert, A., Rothkötter, H. J., & Pabst, R. (1996). M cells in Peyer's patches of the intestine. *International Review of Cytology*, 167, 91–159. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(08\)61346-7](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)61346-7)
- Greenhall, A. M. & Paradiso, J. L. (1968). Bats and bat banding. *Bureau of Sport Fisheries and Wildlife Resource Publication*, 72, 1-47.
- Grimelius, L., Wilander, E. (1980). Silver stains in the study of endocrine cells of the gut and pancreas. *Investigative & Cell Pathology*, 3, 3-12
- Gunnell, G. F., & Simmons, N. B. (2005). Fossil evidence and the origin of bats. *Journal of Mammalian Evolution*, 12(1-2 SPEC. ISS.), 209–246. <https://doi.org/10.1007/s10914-005-6945-2>
- Helander, H. F., & Fändriks, L. (2014). Surface area of the digestive tract-revisited. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 49(6), 681–689. <https://doi.org/10.3109/00365521.2014.898326>
- Handley Jr, C. O., Wilson, D. E., & Gardner, A. L. (1991). Demography and natural history of the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis*, on Barro Colorado Island, Panama. *Smithsonian contributions to zoology*.
- Ishikawa, K., Matoba, M., Tanaka, H., & Ono, K. (1985). Anatomical study of the intestine of the insect-feeder bat, *Myotis frater kaguae*. *Journal of Anatomy*, 142, 141–150. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17103582> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1166369>
- Isolauri, E., Salminen, S., Ouwehand, A.C. (2004). Microbial-gut interactions in health and disease - Probiotics. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 18, 299-313.
- Ito, S. & Winchester, R. J. (1963). The fine structure of the gastric mucosa in the bat. *The Journal of Cell Biology*, 16(3), 541–577. <https://doi.org/10.1083/jcb.16.3.541>
- Johnson, O., Marais, S., Walters, J., van der Merwe, E. L., Alagaili, A. N., Mohammed, O. B., ... & Kotzé, S. H. (2016). The distribution of mucous secreting cells in the gastrointestinal tracts of three small rodents from Saudi Arabia: *Acomys dimidiatus*, *Meriones rex* and *Meriones libycus*. *Acta Histochemica*, 118(2), 118–128. doi:10.1016/j.acthis.2015.12.003
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013). *Histologia básica*. Guanabara Koogan, 12 ed.

- Kamiya, T. & Pirlot, P. (1975). Comparative Gastric Morphology of Old World Bats. *Journal of the Mammalogical Society of Japan*, 6(4), 145–154.
<https://doi.org/10.11238/jmammsocjapan1952.6.145>
- Karasov, W. H., & Douglas, A. E. (2013). Comparative Digestive Physiology. *Compr Physiol*, 3(2), 741–783. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.03.011>
- Kim, Y. S., & Ho, S. B. (2010). Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: Recent insights and progress. *Current Gastroenterology Reports*, 12(5), 319–330.
<https://doi.org/10.1007/s11894-010-0131-2>
- Kitamura, N., Yamada, J., Yamashita, T. & Misu, M. (1982). Endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cat as revealed by various staining methods. *Jpn. J. Vet. Sci.* 44, 427-431.
- Komori, M., Taddei, A., Hondo, E., Kitamura, N., Pai, V. D., Choliq, C. N., & Yamada, J. (2000). An Immunohistochemical Study of Gut Endocrine Cells in Piscivorous Bat (Chiroptera : Noctilio leporinus). *Japanese Society of Zoo and Wildlife Medicine*, 5(1), 45–54.
- Kotzé, S. H, Coetzee, H.L. (1994). A histocytochemical study of mucus glycoproteins or mucins in the intestinal tract of the African elephant (*Loxodonta africana*). *Onderstepoort J Vet Res*, 61, 177–81.
- Kunz, T. H., de Torrez, E. B., Bauer, D., Lobova, T., & Fleming, T. H. (2011). Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223(1), 1–38.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06004.x>
- Maine, J. J.& Boyles, J. G. (2015). Bats initiate vital agroecological interactions in corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(40), 12438–12443. <https://doi.org/10.1073/pnas.1505413112>
- Makanya, A. N. & Maina, J. N. (1994). The morphology of the intestine of the insectivorous horseshoe bat (*Rhinolophus hildebrandti*, Peters): a scanning electron and light microscopic study. *African Journal of Ecology*, 32(2), 158–168.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2028.1994.tb00566.x>
- Maroux, S., Coudrier, E., Feracci, H., Gorvel, J. P., & Louvard, D. (1988). Molecular organization of the intestinal brush border. *Biochimie*, 70(9), 1297–1306.
[https://doi.org/10.1016/0300-9084\(88\)90198-8](https://doi.org/10.1016/0300-9084(88)90198-8)
- Mcfarland, L.V. (2000). Normal flora: diversity and functions. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 12:193-207.
- Mello, M. A. R., Leiner, N. O., Guimarães, P. R., & Jordano, P. (2005). Size-based fruit selection of *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) by bats of the genus *Artibeus* (Phyllostomidae) in a Restinga area, southeastern Brazil. *Acta Chiropterologica*, 7(1), 179–182. <https://doi.org/10.3161/1733-5329>
- Moratelli, R., & Calisher, C. H. (2015). Bats and zoonotic viruses: Can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(1), 1–22.
<https://doi.org/10.1590/0074-02760150048>
- Nogueira, M. R., de Lima, I. P., Moratelli, R., Tavares, V. da C., Gregorin, R., & Peracchi, A. L. (2014). Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. *Check List*,

- 10(4), 808–821. <https://doi.org/10.15560/10.4.808>
- Ogunbiyi, O. A. & Okon, E. E. (1976). Studies on the digestive enzymes of the african fruit bat *Eidolon helvum* (Kerr). *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 55(4), 359–361. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(76\)90061-X](https://doi.org/10.1016/0300-9629(76)90061-X)
- Okon, E. E. (1977). Functional Anatomy of the Alimentary Canal in the Fruit Bat, *Eidolon helvum*, and the Insect Bat, *Tadarida nigeriae*. *Acta Zoologica*, 58(2), 83–93. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1977.tb00242.x>
- Oliveira, J. M., Brinati, A., Miranda, L. D. L., Morais, D. B., Zanuncio, J. C., Gonçalves, R. V., ... & Freitas, M. B. (2017). Exposure to the insecticide endosulfan induces liver morphology alterations and oxidative stress in fruit-eating bats (*Artibeus lituratus*). *International Journal of Experimental Pathology*, 98(1), 17–25. doi:10.1111/iep.12223
- Oomori, Y., Yamashita, T., Yamada, J. & Misu, M. (1980). Light microscopic study on endocrine cells in the gastrointestinal tract of sheep. *Res. Bull. Obihuro Univ*, 11, 541–553.
- Ouellette, A. J. (1997). Paneth Cells and Innate Immunity in the Crypt. *Gastroenterology*, 113, 1779–1784. [http://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(97\)00548-9/pdf](http://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(97)00548-9/pdf)
- Paksuz, E. P. (2014). The effect of hibernation on the morphology and histochemistry of the intestine of the greater mouse-eared bat, *Myotis myotis*. *Acta Histochemica*, 116(8), 1480–1489. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2014.10.004>
- Paksuz, E. P. nar & Paksuz, S. (2015). The Morphology of the Intestine of the Greater Mouse-Eared Bat, *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797). *Global Veterinaria*, 14(5), 686–692. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2015.14.05.91171>
- Park, H. & Hall, R. (1951). The Gross Anatomy of the Tongues and Stomachs of Eight New World Bats. *Kansas Academy of Science*, 54(1), 64–72.
- Patterson, B. D., Willig, M. R. & Stevens, R. D. (2003). Trophic strategies, niche partitioning, and patterns of ecological organization. *Bat Ecology*, 536–579.
- Perrin, M. R. & Hughes, J. J. (1992). Preliminary observations on the comparative gastric morphology of selected Old World and New World bats. *Z. Säugetierkunde*, 57, 257–268. <https://www.winefrog.com/7/2127/wine-regions/new-world/old-world-and-new-world-wines-what-makes-them-different>
- Plowright, R. K., Eby, P., Hudson, P. J., Smith, I. L., Westcott, D., Bryden, W. L., Middleton, D., Reid, P. A., McFarlane, R. A., Martin, G., Tabor, G. M., Skerratt, L. F., Anderson, D. L., Cramer, G., Quammen, D., Jordan, D., Freeman, P., Wang, L. F., Epstein, J. H., ... & McCallum, H. (2014). Ecological dynamics of emerging bat virus spillover. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1798). <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2124>
- Porter, E. M., Bevins, C. L., Ghosh, D., & Ganz, T. (2002). The multifaceted Paneth cell. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59(1), 156–170. <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8412-z>
- Price, E. R., Brun, A., Caviades-Vidal, E., & Karasov, W. H. (2015). Digestive adaptations of aerial lifestyles. *Physiology*, 30(1), 69–78. <https://doi.org/10.1152/physiol.00020.2014>
- Reis, N. R. (1981). Estudo ecológico sobre quirópteros das matas primárias e capoeiras da

- região de Manaus. Tese. Fundação Universidade do Amazonas — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. Tese (Doutorado), *Universidade do Amazonas*, INPA, 242.
- Reis, N. R., Peracchi, A. L., Pedro, W. A., & de Lima, I. P. (2007). Morcegos do Brasil. *Univesidade Estadual de Londrina*.
- Rodrigues, S. S., Fonseca, C. C., & Neves, M. T. D. (2005). Células Endócrinas Do Sistema Gastroenteropancreático : Conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. *Arq. Ciên. Vet. Zool. UNIPAR*, 8(2), 171–180.
- Rouk, C. S., & Glass, B. P. (1970). Comparative Gastric Histology of Five North and Central American Bats. *Journal of Mammalogy*, 51(3), 455. <https://doi.org/10.2307/1378387>
- Russo, D., Bosso, L., & Ancillotto, L. (2018). Novel perspectives on bat insectivory highlight the value of this ecosystem service in farmland: Research frontiers and management implications. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 266(July), 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.07.024>
- Santana, M. D. A. (2015). Caracterização histológica e histomorfométrica do intestino grosso dos morcegos machos *Desmodus rotundus* (hematófago) e *Sturnira lilium* (frugívoro) e identificação e quantificação de células enteroendócrinas da túnica mucosa do quiróptero hematófago. Viçosa, MG: UFV Dissertação (Tese de Doutorado em Biologia Geral) *Universidade Federal de Viçosa*, 66p.
- Saldaña-Vázquez, R. A., Castaño, J. H., Baldwin, J., & Pérez-Torres, J. (2019). Does seed ingestion by bats enhance germination? A new meta-analysis 15 years later. *Mammal Review*, 49(3), 201–209. <https://doi.org/10.1111/mam.12153>
- Santos, C. M., Nascimento, A. A., Peracchi, A. L., Sales, A., Mikalauskas, J. S., & Gouveia, S. F. (2008). Immunocytochemical study of gastrointestinal endocrine cells in insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera). *Brazilian Journal of Biology*, 68(3), 663–669. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000300026>
- Santos, C. M., Nascimento, A. A., Peracchi, A. L., Dias, D., Ribeiro, T. P., & Sales, A. (2008). A comparative immunohistochemical study of endocrine cells in the digestive tract of two frugivorous bats: *Artibeus cinerius* and *Sturnira lilium*. *Acta Histochemica*, 110(2), 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.10.002>
- Santos, D. C. M., Soares, Í. A. C., Cupertino, M. C., Fonseca, C. C., Rodrigues-Sartori, & S. S.; Matta, S. L. P. (2004). Distribuição de células endócrinas argirófilas e argentafins no cólon do gambá *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). *I Simpósio Sobre a Biodiversidade Da Mata Atlântica*, 90–93.
- Santos, D. C. M. dos, Cupertino, M. do C., Novaes, Rô. D., Soares, Í. A. da C., Fonseca, C. C., Matta, S. L. P. da, & Sartori, S. S. R. (2013). Morphologic characterization and distribution of endocrine cells in the large intestine of the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). *Tissue and Cell*, 45(5), 338–349. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2013.05.003>
- Santos, G.C. & Zucolato, S. (1996). Células endócrinas gastrointestinais: Breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia optica. *Arquivos de Gastroenterologia*, 33(1), 36-43
- Sartori, S. S. R., Peixoto, J. V., Lopes, V. D. P. G., Barbosa, A. J. A., Neves, C. A., & Fonseca, C. C. (2018). Neuroendocrine structures of the small intestine of the capybara

- Hydrochoerus hydrochaeris (Mammalia, Rodentia). *Animal Biology*, 68(1), 89–104.
<https://doi.org/10.1163/15707563-17000109>
- Schondube, J. E., Herrera-M, L. G., & Martínez Del Rio, C. (2001). Diet and the evolution of digestion and renal function in phyllostomid bats. *Zoology*, 104(1), 59–73.
<https://doi.org/10.1078/0944-2006-00007>
- Scillitani, G., Zizza, S., Liquori, G. E., & Ferri, D. (2007). Lectin histochemistry of gastrointestinal glycoconjugates in the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum* (Schreber, 1774). *Acta Histochemica*, 109(5), 347–357.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.02.010>
- Selim, A. & El Nahas, E. (2015). 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.
<https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.04.004>
- Sheahan, D. G. & Jervis, H. R. (1976). Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances. *American Journal of Anatomy*, 146(2), 103–131.
<https://doi.org/10.1002/aja.1001460202>
- Shifrin, D. A., McConnell, R. E., Nambiar, R., Higginbotham, J. N., Coffey, R. J. & Tyska, M. J. (2012). Enterocyte microvillus-derived vesicles detoxify bacterial products and regulate epithelial-microbial interactions. *Current Biology*, 22(7), 627–631.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.02.022>
- Silva, C. H. S; Amarante, S. M., Cordeiro-Schmidt, E., Vargas-Mena, J., Barros, M.A.S., Sartori, S. S. R. & Morais, D. B. (2020). 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*, 22(2), 435–448.
- Smith, T., Habersetzer, J., Simmons, N. B. & Gunnell, G. F. (2012). Systematics and paleobiogeography of early bats. In *Evolutionary History of Bats: Fossils, Molecules and Morphology*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139045599.003>
- Simmons, N.B. (2005). Order Chiroptera. In: WILSON, D. E., REEDER, D. M. (Eds). *Mammals Species of the World: a taxonomic and geographic reference*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 3(1):312–529.
- Song, S. J., Sanders, J. G., Delsuc, F., Metcalf, J., Amato, K., Taylor, M. W., Mazel, F., Lutz, H. L., Winker, K., Graves, G. R., Humphrey, G., Gilbert, J. A., Hackett, S. J., White, K. P., Skeen, H. R., Kurtis, S. M., Withrow, J., Braile, T., Miller, M., ... & Knight, R. (2020). Comparative analyses of vertebrate gut microbiomes reveal convergence between birds and bats. *MBio*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02901-19>
- Strobel, S., Encarnação, J. A., Becker, N. I., & Trenczek, T. E. (2015). Histological and histochemical analysis of the gastrointestinal tract of the common pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*). *European Journal of Histochemistry*, 59(2), 107–115.
<https://doi.org/10.4081/ejh.2015.2477>
- Subbuswamy, S. G. (1971). Patterns of mucin secretion in human intestinal mucosa. *J. Anat*, 108(2), 291–293.
- Taylor, P. J., Grass, I., Alberts, A. J., Joubert, E. & Tschardtke, T. (2018). Economic value of

- bat predation services – A review and new estimates from macadamia orchards. *Ecosystem Services*, 30, 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2017.11.015>
- Tedman, R. A. & Hall, L. S. (1985). The morphology of the gastrointestinal tract and food transit time in the fruit bats *Pteropus alecto* and *P. poliocephalus* (Megachiroptera). *Australian Journal of Zoology*, 33(5), 625–640. <https://doi.org/10.1071/ZO9850625>
- Voss, R. S. & Emmons, L. H. (1996). Mammalian Diversity in Neotropical Lowland Rainforests : a Preliminary Assessment. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 230(230), 1–115. <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=OET.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=013548>
- Walton, K. D., Freddo, A. M., Wang, S. & Gumucio, D. L. (2016). Generation of intestinal surface: An absorbing tale. *Development (Cambridge)*, 143(13), 2261–2272. <https://doi.org/10.1242/dev.135400>
- Wetterer, A. L., Rockman, M. V. & Simmons, N. B. (2000). Phylogeny of Phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera): Data from diverse morphological systems, sex chromosomes, and restriction sites. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 248, 1–200. doi:10.1206/0003-0090(2000)248<0001:popbmc>2.0.co;2
- Yamada, J., Campos, V. J., Kitamura, N., Pacheco, A. C., Yamashita, T. & Caramaschi, U. (1984). Immunocytochemical study of gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine cells in the vampire bat (*Desmodus rotundus*). *Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch*, 130(6), 845–856.
- Zukal, J., Pikula, J. & Bandouchova, H. (2015). Bats as bioindicators of heavy metal pollution: History and prospect. *Mammalian Biology*, 80(3), 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.01.001>

ANEXO

A - Tricrômico de Gomori em Resina

- 1- Hematoxilina por um minuto
- 2- Lavar em água corrente
- 3- Corar com Gomori (A) 5 – 20 minutos
- 4- Lavar com ácido acético a 0,2%
- 5- Montar a lâmina

- Solução A

Cromotrope 2R – 0,6g

Fast green FGF – 0,3g

Ácido Fosfotúngstico – 0,6g

Ácido Acético Glacial – 1 ml

Água destilada – 100 ml

B - Técnica combinada de AB+PAS modificada para material em Resina

- 1- Tratar com solução de Azul de Alcian pH 2,5 por cerca de duas horas em estufa 60°C
- 2- Banhos sucessivos em água corrente e dois em água destilada
- 3- Tratamento com solução aquosa de Ácido Perióxico 1% por 45 minutos
- 4- Lavar em água destilada
- 5- Tratar com Reativo de Schiff por cerca de 60 minutos em temperatura ambiente, com a cuba envolvida por papel alumínio
- 6- Lavar em água corrente durante cinco a dez minutos
- 7- Contracorar os núcleos com Hematoxilina de Harris (ou Mayer) durante dois minutos
- 8- Lavar em água corrente
- 9- Secar as lâminas em temperatura ambiente e montar em Entellan

C - Técnica de Masson-Fontana/ Protocolo do Laboratório de Morfofisiologia – DBA/UFV**1- Vidraria utilizada:**

- 2 pipetas de 100ml
- 3 Erlenmeyers de 200ml
- 2 cubas de vidro
- 2 cubas de coloração
- 2 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 60°

3- Processamento

- Iniciar a desparafenização e a hidratação
- Colocar a lâminas na solução a 60°C por uma hora
- Interromper a coloração em água destilada
- Observar ao microscópio. Se houver muita precipitação, fazer o uso do tiosulfato 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

D - Técnica de Grimelius/ Protocolo do Laboratório de Morfofisiologia – DBA/UFV**1- Vidraria utilizada:**

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

- 2 cubas de vidro
- 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_3 - 80 mg
- Hidroquinona - 1 g
- Sulfito de sódio anidro - 5 g

4- Solução de Prata:

- AgNO_3 - 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_3 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.