

Universidade do Estado de Mato Grosso  
*Campus* de Nova Xavantina  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação

JAQUELINE RIBEIRO TAVARES

Aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares de morcegos dos gêneros  
*Tonatia* e *Dermanura* (Chiroptera: Phyllostomidae): novo citótipo para *Tonatia*  
*bidens* Spix, 1823.



**UNEMAT**  
Universidade do Estado de Mato Grosso

Nova Xavantina, MT

2014

Universidade do Estado de Mato Grosso  
*Campus* de Nova Xavantina  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação

JAQUELINE RIBEIRO TAVARES

Aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares de morcegos dos gêneros  
*Tonatia* e *Dermanura* (Chiroptera: Phyllostomidae): novo citótipo para *Tonatia*  
*bidens* Spix, 1823.

Dissertação apresentada a Universidade do Estado  
de Mato Grosso, como parte dos requisitos do  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e  
Conservação para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Karina de Cassia Faria

Coorientador: Dr. Paulo Cesar Venere

NOVA XAVANTINA, MT

2014

JAQUELINE RIBEIRO TAVARES

Aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares de morcegos dos gêneros *Tonatia* e *Dermanura* (Chiroptera: Phyllostomidae): novo citótipo para *Tonatia bidens* Spix, 1823.

Dissertação julgada e aprovada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação pela Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil.

Nova Xavantina, 18 de julho de 2014.

**Banca examinadora**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>a</sup> Karina de Cassia Faria  
Universidade do Estado de Mato Grosso  
(Orientadora)

---

Prof. Dr<sup>o</sup> Paulo Cesar Venere  
Universidade Federal de Mato Grosso  
(Membro Interno)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>a</sup> Vanessa Veltrini Abril  
Universidade Federal de Mato Grosso  
(Membro Externo)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>a</sup> Maricília C. C. de Arruda  
Universidade do Estado de Mato Grosso  
(Suplente)

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Maurício Amormino Júnior, CRB6/2422)

---

T231a Tavares, Jaqueline Ribeiro.  
Aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares de morcegos dos gêneros *Tonatia* e *Dermanura* (Chiroptera: Phyllostomidae): novo citótipo para *Tonatia bidens* Spix, 1823 / Jaqueline Ribeiro Tavares. – Nova Xavantina (MT), 2014.  
91 f. : il.

Orientadora: Karina de Cassia Faria.  
Coorientador: Paulo Cesar Venere.

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) –  
Universidade do Estado de Mato Grosso.

1. Cromossomos. 2. Morcego – Brasil - Ecologia. 3. Morcego - Citogenética. 4. Morcego - Identificação. I. Faria, Karina de Cassia. II. Venere, Paulo Cesar. III. Universidade do Estado de Mato Grosso. IV. Título.

CDU: 575

---

---

## Dedicatória

---

Aos meus pais Sebastião e Divina, meus verdadeiros educadores, pois com muito esforço e dedicação conseguiram mostrar que a educação é a única herança que jamais será roubada. A vocês dois dedico todas as minhas conquistas. Obrigada.

---

## Agradecimentos

---

🦇 Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida. Por ter cuidado de mim desde o meu nascimento e por ter colocado pessoas maravilhosas para me guiar em meus caminhos.

🦇 Aos meus pais Sebastião e Divina e aos meus irmãos Juliana e Sérgio, pelo apoio e incentivo que me deram durante toda essa caminhada e por terem se alegrado comigo diante de cada conquista. Mesmo quando tudo parecia perdido eles estavam ao meu lado dizendo: vai dar tudo certo, amo vocês.

🦇 Ao meu namorado Junior, pela compreensão e por estar sempre ao meu lado com palavras de incentivo, principalmente nos momentos mais difíceis durante o mestrado. Meu amor, obrigada por se alegrar comigo com minhas conquistas, saiba que mesmo na distância seu apoio foi fundamental para a conclusão de mais essa etapa da minha vida, obrigada pelas palavras de fé e por jamais me deixar desistir. Te Amo.

🦇 Agradeço a toda minha família que sempre expressaram pensamentos positivos e me apoiaram na realização dessa conquista. Aos meus primos Welme e Dalba que me acolheram em sua casa durante a realização de uma etapa desse trabalho.

🦇 A minha orientadora Karina, que me deu a oportunidade de realizar este trabalho e pelos ensinamentos no laboratório. Sua orientação foi fundamental na realização deste trabalho e seus ensinamentos (acadêmicos e de respeito ao próximo), certamente estarão comigo durante toda a vida.

🦇 As minhas amigas Érika Cristina e Michele Gross que mesmo à distância nunca se esqueceram de mim e sempre me apoiaram. Obrigada pela compreensão e pelo apoio.

🦇 Aos colegas da turma de mestrado PPG-EC / UNEMAT (2012), que assim como eu, batalharam por essa conquista, obrigada pelas ajudas “mútuas” durante as disciplinas, trabalhos de campo e por tudo que passamos juntos. Agradeço principalmente à Tati, ao Sérgio, a Loana e a Carol pela convivência, realização dos trabalhos de campo e laboratório, certamente aprendi muito com vocês.

🦇 Ao pessoal do laboratório de genética de Nova Xavantina e do laboratório GEPEMA em Barra dos Garças, obrigada por tudo. Agradeço ao professor Paulo que me acolheu em seu laboratório em Barra do Garças, permitindo que eu realizasse parte deste trabalho.

🦇 A todas as pessoas que de forma direta ou indireta foram essenciais para a realização deste trabalho.

🦇 Muito obrigada!

## SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas .....	x
Anexos .....	xi
Apêndices.....	xii
Resumo Geral .....	xiii
General Abstract .....	xiv
Formatação.....	xv
Introdução geral .....	1
Referências Bibliográficas .....	5
<b>Capítulo I.....</b>	<b>7</b>
Resumo .....	8
Abstract.....	9
Introdução .....	10
Material e Métodos .....	14
1. Capturas e espécies.....	14
2. Análise de caracteres morfológicos externos e cranianos.....	15
3. Preparações cromossômicas .....	15
4. Bandamentos e documentação cromossômica .....	16
5. Extração e amplificação de DNA.....	16
6. Análise dos dados moleculares .....	17
Resultados.....	18
1. Análises morfométricas.....	18
2. Análises citogenéticas .....	21
3. Análises moleculares.....	24
Discussão .....	26
Referências Bibliográficas .....	32
<b>Capítulo II .....</b>	<b>37</b>
Resumo .....	38
Abstract.....	39
Introdução .....	40
Material e Métodos .....	44

1. Capturas e espécies.....	44
2. Medidas morfológicas externas e cranianas .....	45
3. Preparações cromossômicas .....	46
4. Bandamentos cromossômicos .....	46
5. Documentação e nomenclatura cromossômica .....	46
6. Extração e amplificação de DNA.....	47
7. Análise dos dados moleculares .....	47
Resultados .....	49
1. Análises morfológicas externas e cranianas .....	49
2. Análises citogenéticas .....	51
3. Análises moleculares.....	53
Discussão .....	54
Referências Bibliográficas .....	58
Conclusão Geral.....	62
Agradecimentos .....	63
Anexos .....	64
Apêndices.....	74

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I

- Figura 1.** A) *Tonatia bidens* (RM 338). B) *Tonatia saurophila* (RM 354) evidenciando a lista branca no topo da cabeça (seta).....20
- Figura 2.** A) Crânio de *Tonatia bidens* (RM 338): à esquerda crânio do espécime (seta indica a constrição pós-orbital); no centro a mandíbula e à direita dentes inferiores, as setas indicam: a) separação dos caninos por uma abertura estreita, b) incisivos inferiores estreitos, c) aglomeração no segundo pré-molar inferior. B) *Tonatia saurophila* (RM 354): à esquerda crânio do espécime (seta indica ausência de constrição orbital); no centro a mandíbula e à direita dentes inferiores, as setas indicam: a) caninos inferiores separados por um espaço relativamente grande; b) incisivos inferiores largos, c) segundo pré-molar inferior mais desenvolvido e com menos aglomeração. ....21
- Figura 3.** Cariótipo de *Tonatia bidens*. a) Coloração convencional com Giemsa, em evidência marcação da RON (par 12); b) Bandamento C; c) Coloração com cromomicina CMA<sub>3</sub>. (♀, 2n = 26 e NF = 38). ....23
- Figura 4.** Cariótipo de *Tonatia saurophila*. a) Coloração convencional com Giemsa, em evidência marcação da RON (par 4); b) Bandamento C; c) Coloração com cromomicina CMA<sub>3</sub>. (♀, 2n= 16 e NF = 20).....24
- Figura 5.** Dendograma do vizinho mais próximo (NJ) baseado na distância K2P mostrando a separação dos clados analisados de espécimes do Cerrado.....25

### Capítulo II

- Figura 1.** A) *Dermanura gnoma* (RM 296). B) À esquerda crânio do espécime RM 333 (seta indica concavidade acentuada na região supra-orbital); à direita mandíbula do espécime (setas indicam a presença do 3º molar inferior extremamente reduzido).....50
- Figura 2.** Cariótipo de *Dermanura gnoma*. a) Coloração convencional com Giemsa; b) Bandamento C (setas indicam blocos adicionais de heterocromatina constitutiva nas regiões terminais dos cromossomos); c) Coloração com cromomicina CMA<sub>3</sub>. (♂, 2n = 30 e NF = 56). ....52
- Figura 3.** Dendograma do vizinho mais próximo (NJ) baseado na distância K2P, com espécimes do Cerrado *D. gnoma*, *D. cinerea*, *A. planirostris* e *A. lituratus*, mostrando a separação dos clados entre as espécies analisadas.....53

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo I

<b>Tabela 1.</b> Medidas externas e cranianas (mm) dos exemplares de morcegos analisados <i>T. bidens</i> e <i>T. saurophila</i> do Cerrado de Mato Grosso, Brasil. Dados: comprimento (C) e largura (L). .....	18
<b>Tabela 2.</b> Similaridades interespecíficas baseado na distância K2P para todas as comparações dos táxons analisados (%). .....	25
<b>Tabela 3.</b> Espécies de <i>Tonatia bidens</i> e <i>Tonatia saurophila</i> registradas em inventários faunísticos brasileiros, ressaltando o local de coleta e o número de indivíduos capturados ao longo desses inventários. ....	26

### Capítulo II

<b>Tabela 1.</b> Média $\pm$ desvio padrão das cinco medidas morfológicas externas e das medidas cranianas obtidas dos espécimes de <i>Dermanura gnoma</i> (sem a separação por sexo), com valores mínimos e máximos obtidos de cada medida. Valores das medidas são dados em mm. ....	49
<b>Tabela 2.</b> Similaridades interespecíficas baseada na distância K2P, para verificar a distância genética entre as espécies analisadas (%). .....	53
<b>Tabela 3.</b> Comparação das quatro medidas cranianas usualmente utilizadas para distinguir a espécie <i>Dermanura gnoma</i> de <i>Dermanura cinerea</i> (medidas obtidas da literatura). .....	54

## ANEXOS

Anexo 1. Normas para publicação de artigos na Revista Iheringia – Série Zoologia. ....	64
Anexo 2. Medidas morfológicas externas e cranianas realizadas nos espécimes de morcegos, conforme VIZOTTO & TADDEI (1973). ....	66
Anexo 3. Extração direta da medula óssea adaptado de Morielle-Versute <i>et al.</i> , 1996. ....	69
Anexo 4. Bandamentos cromossômicos. ....	70
Anexo 5. Classificação cromossômica definida através das medidas obtidas pela razão entre os braços do cromossomo “AR” (índice gerado pela divisão entre o tamanho do braço maior (p) pelo braço menor (q) do cromossomo) e valores dos índices de AR utilizados para a nomenclatura dos cromossomos de acordo com o estabelecido por LEVAN <i>et al.</i> (1964). ....	72
Anexo 6. Extração de DNA (Aljanabi & Martinez, 1997). ....	73

## APÊNDICES

Apêndice 1. Índice das medidas cromossômicas obtidas pela razão entre os braços do cromossomo “AR” e sua respectiva nomenclatura. Metacêntrico (M), submetacêntrico (SM), subtelocêntrico (ST) e acrocêntrico (A). .....	74
Apêndice 2. Local de captura dos espécimes de <i>Dermanura gnoma</i> . .....	75
Apêndice 3. Medidas morfológicas externas e medidas cranianas obtidas dos espécimes de <i>Dermanura gnoma</i> . Dados: F (fêmea), M (macho). C. (comprimento), L. (largura). .....	76

---

## Resumo Geral

---

O Cerrado apresenta 101 espécies de morcegos em sua fauna, número que tende a aumentar visto que a diversidade dos Chiroptera ainda é considerada pouco conhecida neste bioma. Phyllostomidae é a família mais diversificada dos morcegos do novo mundo, sendo composta por sete subfamílias. Stenodermatinae é a subfamília mais numerosa, com a maioria dos gêneros apresentando listras claras faciais. *Dermanura gnoma* Handley, 1987, incluído nesta subfamília, diferencia-se das outras espécies do gênero pela presença do terceiro molar inferior e pela coloração amarela da orelha, trago e base da folha nasal. A subfamília Phyllostominae é representada por morcegos essencialmente neotropicais. *Tonatia bidens* Spix, 1823 e *Tonatia saurophila* Koopman & Williams, 1951 ambos desta subfamília, se diferem essencialmente pela presença/ausência de uma listra clara na cabeça. Dois espécimes de *Dermanura gnoma* capturados no município de Nova Xavantina – MT foram analisados citogeneticamente, e adicionalmente 10 espécimes foram utilizados para análises morfológicas e cranianas. Dois espécimes de *T. bidens* e um de *T. saurophila* foram capturados no município de Barra do Garças – MT e analisados citogeneticamente. O material citogenético obtido foi submetido à coloração convencional com Giemsa, bandamento C, NOR e CMA<sub>3</sub>. Análises moleculares foram realizadas por meio do marcador COI. As análises cromossômicas revelaram que *D. gnoma*, *T. bidens* e *T. saurophila* apresentam em sua constituição cariotípica número diplóide ( $2n = 30$ ;  $2n = 26$  e  $2n = 16$ ) e número fundamental (NF = 56, NF = 38 e NF = 20), respectivamente. As análises por meio do marcador COI confirmaram a identificação das espécies analisadas, formando clados com índice de dissimilaridade alto. O presente estudo contribuiu com a caracterização morfológica, citogenética e molecular de espécies da ordem Chiroptera no estado de Mato Grosso.

**Palavras-chave:** Cromossomos, COI, Cerrado, bandamentos cromossômicos.

---

## General Abstract

---

The Cerrado biome presents 101 bat species in its fauna, a number that is bound to grow, since Chiroptera diversity is still considered poorly known in the biome. Phyllostomidae is the most diverse bat family in the New World, and comprises seven subfamilies. Stenodermatinae is the most numerous subfamily, and most genera present light facial stripes. *Dermanura gnoma* Handley, 1987, included in this subfamily, is different from other species in the genus for the presence of the third mandibular molar and for the yellow coloration of the ear, tragus and nose-leaf basis. The Phyllostominae subfamily is represented by essentially Neotropical bats. *Tonatia bidens* Spix, 1823 and *Tonatia saurophila* Koopman & Williams, 1951, both from this subfamily, differ basically for the presence/absence of a light stripe on the head. Two specimens of *Dermanura gnoma* captured in the municipality of Nova Xavantina – MT were analyzed cytogenetically, and 10 additional specimens were used for morphological and cranial analyses. Two specimens of *T. bidens* and one of *T. saurophila* were captured in the municipality of Barra do Garças – MT and cytogenetically analyzed. The cytogenetic material obtained was subjected to conventional coloration with Giemsa, C banding, NOR and CMA<sub>3</sub>. Molecular analyses were conducted using the COI marker. The chromosomes analyses revealed that *D. gnoma*, *T. bidens* and *T. saurophila* presented, in their karyotypic constitution, diploid number ( $2n = 30$ ;  $2n = 26$  and  $2n = 16$ ) and fundamental number (NF = 56, NF = 38 and NF = 20), respectively. Analyses with the COI marker confirmed the species identification, forming clades with high dissimilarity index values. The present study contributed to the morphological, cytogenetic and molecular characterization of the species of the order Chiroptera in the state of Mato Grosso.

**Keywords:** Chromosomes, COI, Cerrado, chromosome banding.

---

## **Formatação**

---

A dissertação é composta por dois capítulos, sendo a introdução geral, capítulo I e capítulo II formatados segundo as normas de referências bibliográficas da revista *Iheringia*, série Zoologia (Anexo 1).

---

## Introdução geral

---

O Cerrado, considerado o segundo maior bioma brasileiro, tem sua localização geográfica condicionada por fatores climáticos (temperatura, pluviosidade, umidade relativa) e pelo tipo de substrato, sendo caracterizado como um complexo vegetacional com formações campestres e florestais (EITEN, 1994; KLINK & MACHADO, 2005; VALENTE, 2006; RIBEIRO & WALTER, 2008).

Este bioma apresenta uma alta riqueza biótica e um elevado nível de endemismo, sendo considerado um “*hotspot*” mundial de biodiversidade (WALTER & GUARINO, 2006). Do total de 251 espécies da fauna de mamíferos conhecida no bioma, 101 espécies são representadas pelos morcegos (PAGLIA *et al.*, 2012). Estudos com morcegos neste bioma ainda são poucos e mal distribuídos (AGUIAR & ZORTÉA, 2008), mas a riqueza de espécies tende a aumentar à medida que os estudos com o grupo aumentem no bioma.

Os morcegos compõem a ordem Chiroptera, composta por aproximadamente 1.100 espécies, dividida em duas subordens: Megachiroptera e Microchiroptera (SIMMONS, 2005). Os Megachiroptera apresentam uma única família, Pteropodidae, encontrada exclusivamente no Velho Mundo e representada por 42 gêneros e 185 espécies (BREDT *et al.*, 1996; PERACCHI *et al.*, 2011). Os Microchiroptera estão amplamente distribuídos por todo o globo, envolvendo 17 famílias, 157 gêneros e 928 espécies (SIMMONS, 2005; PERACCHI *et al.*, 2011). No Brasil há ocorrência de nove famílias da subordem Microchiroptera: Emballonuridae, Furipteridae, Molossidae, Mormoopidae, Natalidae, Noctilionidae, Phyllostomidae, Thyropteridae e Vespertilionidae, totalizando 65 gêneros e 174 espécies (PAGLIA *et al.*, 2012; REIS *et al.*, 2013).

A família Phyllostomidae, endêmica do continente americano, destaca-se como a mais versátil na exploração de alimentos (PASSOS & GRACIOLLI, 2004) e a mais diversificada com

57 gêneros e 160 espécies descritas até o momento, formando um grupo monofilético de morcegos do Novo Mundo (BAKER *et al.*, 2003, SIMMONS, 2005). Atualmente esta família encontra-se subdividida em sete subfamílias: Carolliinae, Desmodontinae, Glossophaginae, Phyllostominae, Stenodermatinae, Brachyphyllinae e Phyllonycterinae, sendo que apenas as duas últimas não estão representadas no Brasil (PERACCHI *et al.*, 2011).

Stenodermatinae é a subfamília mais numerosa para Phyllostomidae, com 67 espécies descritas (SIMMONS, 2005). Os morcegos desta subfamília podem apresentar tamanhos variando de pequeno a grande com a amplitude do antebraço que vai de 25 mm em *Ametrida* até 75 mm em grandes *Artibeus*; são predominantemente frugívoros, com algumas espécies completando sua dieta com outros itens, como recursos florais, insetos e folhas. (ZORTÉA, 2007). A maioria dos gêneros apresenta focinho curto e listras claras faciais, mas em algumas espécies estas listras são apenas esboçadas (PERACCHI *et al.*, 2011).

O gênero *Dermanura* Gervais, 1856 representa os pequenos morcegos pertencentes a esta subfamília, incluindo alguns dos morcegos frugívoros mais comuns da região Neotropical (SOLARI *et al.*, 2009). *Dermanura gnoma* Handley, 1987 têm hábito frugívoro com dieta pouco conhecida. No Brasil há registros desta espécie para todas as regiões exceto a região Sul, ocorrendo em ambientes florestais e também no Cerrado (GONÇALVES & GREGORIN, 2004; ZORTÉA, 2007). Embora haja registros desta espécie em várias regiões, dados cariotípicos ainda não foram avaliados.

A subfamília Phyllostominae é representada por morcegos essencialmente neotropicais. Dos 16 gêneros descritos, 15 ocorrem no Brasil, sendo registradas 33 espécies com predominância de insetivoria nas espécies menores e carnivoria nas maiores (GIANNINI & KALKO, 2004; NOGUEIRA *et al.*, 2007; WILLIAMS & GENOWAYS, 2007). O gênero *Tonatia* Gray, 1827 incluído nesta subfamília, atualmente é representado por duas espécies *Tonatia bidens* Spix, 1823 e *Tonatia saurophila* Koopman & Williams, 1951. Estas espécies

apresentam características morfológicas semelhantes e poucos registros de ocorrência na natureza. Recentemente uma revisão taxonômica foi proposta para este gênero (WILLIAMS *et al.*, 1995), mas dados cariotípicos ainda são pouco conhecidos.

Muitos dos caracteres morfológicos e morfométricos utilizados na taxonomia dos morcegos apresentam variabilidade, ocasionando dificuldades no levantamento de informações que permitam reconstruir relações evolutivas desse grupo (MORATELLI & MORIELLE-VERSUTE, 2007). Desta forma para obtenção de informações mais robustas têm sido abordados diferentes e amplos conjuntos de dados incluindo caracteres morfológicos, citogenéticos e moleculares para a construção de filogenias (FARIA, 2003), bem como para a compreensão de aspectos taxonômicos e evolutivos (BAKER *et al.*, 1982).

Estudos cariotípicos possuem um nível morfológico único, pois o cariótipo é menos influenciado por fatores externos do que outras características morfológicas e fisiológicas (BAKER, 1970). Embora possam ocorrer os polimorfismos cromossômicos, eles são dificilmente encontrados com as espécies permanecendo morfolologicamente idênticas, não havendo uma relação direta entre a variabilidade cromossômica e a morfológica, sendo cada tipo de polimorfismo atuante de forma independente no processo evolutivo (GUERRA, 1988). As análises cromossômicas de uma determinada espécie têm várias finalidades, como a de contribuir para o conhecimento da estrutura, organização molecular e o comportamento dos cromossomos, bem como para o mapeamento de genes específicos (KASAHARA, 2009).

Entre as técnicas citogenéticas convencionais importantes na análise de regiões cromossômicas específicas, destacam-se, o bandamento C (SUMMER, 1973) para a visualização das regiões de heterocromatina constitutiva (HC) e a impregnação com nitrato de prata (HOWELL & BLACK, 1980). Em morcegos a HC geralmente ocorre nas regiões centroméricas, teloméricas ou intersticiais, variando no tamanho do bloco heterocromático (GUERRA, 1988; VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989; VARELLA-GARCIA & TADDEI, 1989) e a

impregnação com nitrato de prata marca precisamente sítios cromossômicos conhecidos como regiões organizadoras de nucléolos (RONs) ativas durante o último ciclo de divisão celular, são nestes sítios cromossômicos que os principais genes de rDNA 18S, 28S e 5.8S são agrupados (GUERRA, 1988).

O uso de fluorocromos base-específico caracterizam as bandas heterocromáticas em seu conteúdo GC ou AT e têm sido utilizados para auxiliar no pareamento dos cromossomos homólogos e para diferenciar segmentos heterocromáticos que aparentemente são homogêneos, quando é utilizada a coloração convencional por *Giemsa* e banda-C (SUMNER, 1990).

Com o intuito de auxiliar na identificação dos táxons, a caracterização molecular das espécies está sendo usada em complemento às análises morfológicas e citogenéticas para diferentes grupos de organismos (NORONHA *et al.*, 2003). O citocromo c oxidase subunidade I (COI) pode servir como um código de barras de DNA para a identificação de espécies animais utilizando um fragmento de DNA mitocondrial (DNA mt) (HEBERT *et al.*, 2003).

Este trabalho objetivou analisar a morfologia externa e craniana de espécies do gênero *Tonatia* e *Dermanura*, bem como verificar os dados cariotípicos quanto ao número diplóide e número fundamental das espécies *Tonatia bidens*, *Tonatia saurophila* e *Dermanura gnoma*, sendo a confirmação das espécies utilizadas através de dados moleculares pela utilização do gene mitocondrial COI, visando caracterizar os espécimes ocorrentes no Cerrado matogrossense.

---

## Referências Bibliográficas

---

- AGUIAR, L. M. S.; ZORTÉA, M. 2008. A diversidade de morcegos conhecida para o Cerrado. *In: II simpósio internacional savanas tropicais*. ParlaMundi, Brasília, Brasil.
- BAKER, R. J. 1970. The role of karyotypes in phylogenetic studies of bats. *In: Slaughter, H. & Walton, D. W. eds. About Bats*. Southern Methodist Univ. Press, Dallas:303-312.
- BAKER, R. J.; HAIDUK, M. W.; ROBBINS, L. W.; CADENA, A. & KOOP, B. F. 1982. Chromosomal studies of South American bats and their systematic implications. *In: MARES, M. A. & GENOWAYS, H. H. eds. Special Publication Pymatuning Laboratory of Ecology*:303-328.
- BAKER, R. J.; HOOVER, S. R.; PORTER, C. A. & VAN DEN BUSSCHE, R. A. 2003. Diversification among New World leaf-nosed bats: an evolutionary hypothesis and classification inferred from digenomic congruence of DNA sequence. *Occasional Papers*, Museum of Texas Tech University **230**:1-32.
- BREDT, A.; ARAÚJO, F. A. A.; CAETANO-JUNIOR, J.; RODRIGUES, M. G. R.; YOSHIZAWA, M.; SILVA, M. M. S.; HARMANI, N. M. S.; MUSSUNAGA, P. N. T.; BÜRER, S. P.; PORTO, V. A. & UEDA, W. 1996. Morcegos em Áreas Urbanas e Rurais: Manual de Manejo e Controle. **Brasília, Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde**. 117p.
- EITEN, J. 1994. Vegetação do Cerrado. *In: PINTO, M. N. Org. Cerrado*. Brasília, Editora Universidade de Brasília, 2 ed.: 17-73.
- FARIA, K. C. 2003. Análise citogenética comparativa em espécies de morcegos dos gêneros *Molossus* (Molossidae), *Artibeus*, *Platyrrhinus*, *Sturnira*, *Glossophaga*, *Phyllostomus* e *Carollia* (Phyllostomidae) – Chiroptera (Mammalia). **Dissertação de Metrado**, São José do Rio Preto.
- GIANNINI, N. P. & KALKO, E. K. V. 2004. Trophic structure in a large assemblage of phyllostomid bats in Panama. / *Oikos* **105**: 209-220.
- GONÇALVES, E. & R. GREGORIN. 2004. Quirópteros da Estação Ecológica Serra das Araras, Mato Grosso, Brasil, com o primeiro registro de *Artibeus gnomus* e *A. anderseni* para o Cerrado. *Lundiana* **5**:143-149.
- GUERRA, M. 1988. **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 143p.
- HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. B. & WAARD, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London*. Series B: Biological Sciences **270(1512)**:313-321.
- HOWELL W. N.; BLACK D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Cellular and Molecular Life Sciences* **36**:1014-1015.
- KASAHARA, S. 2009. **Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 160p.
- KLINK, C. A. & MACHADO, R. B. 2005. A conservação do Cerrado Brasileiro. *Megadiversidade* **1(1)**:147-155.
- MORATELLI, R. & MORIELLE-VERSUTE, E. 2007. Métodos e aplicações da citogenética na taxonomia de morcegos brasileiros. *In: REIS, N. L.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. Morcegos do Brasil*. Londrina: 197-217.
- NOGUEIRA, M. R.; DIAS, D.; PERACCHI, A. L. 2007. Subfamília Glossophaginae. *In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. Morcegos do Brasil*. Londrina:45-60p.

- NORONHA, A. C. S.; MOTA, A.; MORAES, G. J. & COUTINHO, L. L. 2003. Caracterização molecular de populações de *Euseius citrifolius* Denmark & Muma e *Euseius concordis* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) utilizando o seqüenciamento das regiões ITS1 e ITS2. **Neotropical Entomology** **32**(4):591-596.
- PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. C.; MITTERMEIER, R. A. & PATTON, J. L. 2012. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology** (6):76p.
- PASSOS, F. C. & GRACIOLLI, G. 2004. Observação da dieta de *Artibeus lituratus* (Olfers) (Chiroptera, Phyllostomidae) em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **21**(3):487-489.
- PERACCHI, A. L.; LIMA, I. P.; REIS, N. R.; NOGUEIRA, M. R.; ORTÊNCIO-FILHO, H. 2011. Ordem Chiroptera. *In*: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. **Mamíferos do Brasil**. Londrina, 2º ed., p. 155-234.
- REIS, N. R.; FREGONEZI, M. N.; PERACCHI, A. L. & SHIBATTA, O. A. 2013. **Morcegos do Brasil – Guia de Campo**. Technical Books, p. 252.
- RIBEIRO, J. F. & WALTER, B. M. T. 2008. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. *In*: SANO, S. M., ALMEIDA, S. P. & RIBEIRO, J. F. eds. Cerrado: ecologia e flora: EMBRAPA-CPAC, Planaltina, p. 151-212.
- SIMMONS, N. B. 2005. Order Chiroptera. *In*: Wilson, D. E. & Reeder, D. M. eds. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 3 ed., p. 312-529.
- SOLARI, S.; HOOFFER, S. R.; LARSEN, P. A.; BROWN, A. D.; BULL, R. J.; GUERRERO, J. A.; ORTEGA, J.; CARRERA, J. P.; BRADLEY, R. D. & BAKER, R. J. 2009. Operational criteria for genetically defined species: analysis of the diversification of the small fruit-eating bats, *Dermanura* (Phyllostomidae: Stenodermatinae). **Acta Chiropterologica** **11**(2):279-288.
- SUMNER, A. T. 1973. A simple technique for demonstrating centromérica heterochromatin. **Experimental Cell Research** **75**:304-306.
- SUMNER, A. T. 1990. **Chromosome banding**. Unwin Hyman, London, p. 434.
- VALENTE, C. R. 2006. Caracterização geral e composição florística do Cerrado. *In*: GUIMARÃES, L. D. A. SILVA, M. A. D. & ANACLETO, T. C. eds. **Natureza viva Cerrado: caracterização e conservação**. Editora da UCG, Goiânia, p. 20-44.
- VARELLA-GARCIA, M.; MORIELLE-VERSUTE, E. & TADDEI, V. A. 1989. A survey of cytogenetic data on Brazilian bats. **Revista Brasileira Genética** **12**(4):761-793.
- VARELLA-GARCIA, M. & TADDEI, V. A. 1989. Citogenética de quirópteros: métodos e aplicações. **Revista Brasileira de Zoologia** **6**(2):297-323.
- WALTER, B. M. T. & GUARINO, E. S. G. 2006. Comparação do método de parcelas com o “levantamento rápido” para amostragem da vegetação arbórea do Cerrado sentido restrito. **Acta Botânica Brasílica** **20**(2):285-297.
- WILLIAMS, S. L. & GENOWAYS, H. H. 2007. Subfamily Phyllostominae Gray, 1825. **Mammals of South America** **1**:255-300.
- WILLIAMS, S. L.; WILLIG, M. R. & REID, F. A. 1995. Review of the *Tonatia bidens* complex (Mammalia: Chiroptera), with descriptions of two new subspecies. **Journal of Mammalogy**, **76**(2):612-626.
- ZORTÉA, M. 2007. Subfamília Stenodermatinae. *In*: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. **Morcegos do Brasil**. Londrina: p. 107-128.

---

## Capítulo I

---

**Taxonomia integrativa de morcegos do gênero *Tonatia* (Chiroptera, Phyllostomidae):**

**novo citótipo para *Tonatia bidens* Spix, 1823**

Jaqueline Ribeiro Tavares<sup>1</sup>; Tatiane Pires de Sousa<sup>1</sup>; Paulo Cesar Venere<sup>1,2</sup> & Karina de  
Cassia Faria<sup>1,3</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade do Estado de Mato Grosso, UNEMAT – *Campus* de Nova Xavantina.
2. Instituto de Biociências – Departamento de Biologia e Zoologia, Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT – *Campus* de Cuiabá.
3. Faculdade de Ciências Agrárias, biológicas e Sociais Aplicadas, Universidade do Estado de Mato Grosso, UNEMAT – *Campus* de Nova Xavantina, Caixa Postal 08, 78690-000, Nova Xavantina, MT, Brasil. (karinafaria@unemat.br)

---

## Resumo

---

O gênero *Tonatia*, é representado por duas espécies e distribui-se por quase todos os estados brasileiros exceto, Goiás, Rondônia, Rio Grande do Norte e Rio Grande do Sul. *Tonatia bidens* (Spix, 1823), Chiroptera de porte médio da subfamília Phyllostominae diferencia-se de *Tonatia saurophila* pela ausência de uma listra clara na cabeça, constrição pós-orbital ampla, aglomeração no segundo pré-molar inferior e caninos inferiores separados por uma abertura estreita. Dois espécimes de *T. bidens* e um de *T. saurophila* foram capturados no município de Barra do Garças – MT, no Parque Estadual da Serra Azul e Complexo da Serra do Roncador, respectivamente. Foram realizadas medidas morfológicas, análises citogenéticas por meio da coloração convencional com Giemsa, bandamento C, NOR e CMA<sub>3</sub> e análises moleculares por meio do marcador citocromo c oxidase subunidade I (COI). As análises cromossômicas revelaram que a espécie *T. bidens* apresenta número diplóide igual a 26 ( $2n = 26$ ) e número fundamental igual a 38 (NF = 38). O cariótipo de *T. saurophila* apresenta número diplóide igual a 16 ( $2n = 16$ ) e número fundamental igual a 20 (NF = 20), se assemelhando ao descrito na literatura para *T. bidens*. As análises por meio do marcador COI confirmaram a identificação correta das espécies aqui analisadas, formando dois clados distintos entre *T. bidens* e *T. saurophila* com um índice de dissimilaridade alto para essas espécies (15,8%), confirmando a distância genética existente entre elas.

**Palavras-chave:** Cromossomos, COI, bandamentos cromossômicos, morfometria.

---

## Abstract

---

The *Tonatia* genus is represented by two species and occurs in almost all Brazilian states except for Goiás, Rondônia, Rio Grande do Norte and Rio Grande do Sul. *Tonatia bidens* (Spix, 1823), a medium-sized Chiroptera from the Phyllostominae subfamily, differs from *Tonatia saurophila* for the absence of a light head stripe, wide post-orbital constriction, mandibular second premolar agglomeration and mandibular canines separated by a narrow opening. Two specimens of *T. bidens* and one of *T. saurophila* were captured in the municipality of Barra do Garças – MT, in the Serra Azul State Park and the Serra do Roncador Complex, respectively. We took morphological measures, performed cytogenetic analyses using conventional coloration with Giemsa, C banding, NOR and CMA<sub>3</sub>, and performed molecular analyses using the cytochrome c oxidase I marker (COI). Chromosomes analyses revealed that *T. bidens* presents a diploid number of 26 ( $2n = 26$ ) and fundamental number of 38 ( $NF = 38$ ). The karyotype of *T. saurophila* presents a diploid number of 16 ( $2n = 16$ ) and fundamental number of 20 ( $NF = 20$ ), similar to what is described in the literature for *T. bidens*. The COI marker analyses confirmed the correct identification of the studied species and formed two clades distinguishing *T. bidens* and *T. saurophila* with a high dissimilarity index between species (15.8%), which confirms the genetic distance between them.

**Keywords:** Chromosomes, COI, chromosome banding, morphometry.

---

## Introdução

---

O bioma Cerrado apresenta uma grande diversidade de habitats, abrigando 101 espécies de morcegos (PAGLIA *et al.*, 2012), número que tende a aumentar visto que a riqueza desse grupo no bioma ainda é pouco conhecida.

No Brasil são conhecidas nove famílias de Microchiroptera, totalizando 65 gêneros e 174 espécies (PAGLIA *et al.*, 2012). A família Phyllostomidae, endêmica do continente americano, destaca-se como a mais versátil na exploração de alimentos (PASSOS & GRACIOLLI, 2004) e a mais diversificada com 56 gêneros e 160 espécies descritas, formando um grupo monofilético de morcegos do Novo Mundo (BAKER *et al.*, 2003; SIMMONS, 2005), atualmente esta subfamília encontra-se subdividida em sete subfamílias (PERACCHI *et al.*, 2011a).

A subfamília Phyllostominae Gray, 1825, pertencente à Phyllostomidae, constitui um diversificado clado de morcegos, com formas que variam de 10 até quase 200g e também com dieta bem diversificada. São reconhecidos 16 gêneros e 42 espécies para esta subfamília, dos quais apenas um gênero e uma espécie não ocorrem na América do Sul onde também existem 12 espécies endêmicas (WILLIAMS & GENOWAYS, 2007). BAKER *et al.* (2003) sugerem o monofiletismo desta subfamília organizando-a em três tribos: Macrophyllini, com dois gêneros *Trachops* e *Macrophyllum*, Phyllostomini composta por *Tonatia*, *Lophostoma*, *Mimon*, *Phyllostomus* e *Phylloderma* e Vampyrini composta por *Chrotopterus* e *Vampyrum*.

O gênero *Tonatia* Gray, 1827 era inicialmente composto também pelas espécies que integram hoje o gênero *Lophostoma* d'Orbigny, 1836. Atualmente é representado por duas espécies *Tonatia bidens* Spix, 1823 e *Tonatia saurophila* Koopman & Williams, 1951. *Tonatia bidens* apresenta como localidade tipo Brasil, Bahia, Rio São Francisco, após a revisão do gênero a ocorrência desta espécie ficou limitada ao leste e sul do Brasil, Paraguai e

norte da Argentina (WILLIAMS *et al.*, 1995), e recentemente foi registrada na Bolívia (PACA *et al.*, 2012), informações anteriores a esta revisão sobre a ampla distribuição desta espécie na América Central e América do Sul referem-se a *T. saurophila* (SMITH, 2009). *Tonatia saurophila* apresenta como localidade tipo Balaclava, St. Elizabeth Parish, Wallingford Roadside Cave, Jamaica, sendo nesta localidade conhecida apenas por registros fósseis (WILLIAMS *et al.*, 1995). Distribuem-se no México (Chiapas) e de Belize para o Peru, Bolívia, Venezuela, Guianas, Trinidad, Brasil, Equador, Suriname, Colômbia e Argentina (BARQUEZ & DÍAZ, 2001; CLARKE & DOWNIE, 2001; SIMMONS, 2005; McDONOUGH *et al.*, 2011; SAAVEDRA-RODRÍGUEZ & ROJAS-DÍAZ, 2011).

As características morfológicas de *T. bidens* e *T. saurophila* muito se assemelham, podendo resultar em identificações equivocadas. Antes da revisão taxonômica realizada por WILLIAMS *et al.* (1995) *T. saurophila* têm aparecido sob os nomes *T. bidens* (WILLIAMS & GENOWAYS, 2007; CATZEFLIS, 2010). A exemplo disso, GENOWAYS & BAKER (1978) baseados nos aspectos morfológicos identificaram espécimes de *Tonatia* que apresentam uma listra clara na cabeça que se estende até a parte de trás das orelhas como sendo *T. bidens*. WILLIAMS *et al.* (1995), após uma complexa revisão taxonômica do gênero *Tonatia*, afirmam que as diferenças morfológicas marcantes para distinguir *T. saurophila* de *T. bidens* é o fato de nesta última estar ausente a listra clara no topo da cabeça. Apesar desta resolução taxonômica para o gênero *Tonatia*, dados cariotípicos são poucos conhecidos.

BAKER & BICKHAM (1980) verificaram através de análise cariotípica que a evolução cromossômica em morcegos pode ocorrer em duas linhagens distintas, com algumas linhagens apresentando mudanças rápidas e consideráveis com cariótipos derivados por extensos rearranjos cromossômicos e outras linhagens com uma taxa de evolução cariotípica mais lenta, onde as espécies relacionadas compartilham o mesmo número diplóide em seu cariótipo, sendo diferenciadas por poucos rearranjos. Exemplo de ambas as situações pode ser

observado dentro da subfamília Stenodermatinae, onde as espécies *Uroderma bilobatum* e *Vampyressa pusilla* apresentam grande variabilidade cromossômica intraespecífica sendo relatados três citótipos cromossômicos para *U. bilobatum* e citótipos com número diplóide variando de 18 a 24 cromossomos em *V. pusilla*, devido à ocorrência de diversos rearranjos (GARDNER, 1977; BAKER, 1979; SILVA *et al.*, 2005). Já quando comparados *Artibeus*, *Sturnira* e *Platyrrhinus*, foi possível verificar que espécies destes diferentes gêneros apresentam cariótipos muito semelhantes inclusive no padrão de bandas G (Faria *et al.*, 2006)

Considerando os trabalhos citogenéticos já realizados no gênero *Tonatia*, o cariótipo de *T. bidens* é descrito como número diplóide 16 ( $2n = 16$ ) e número fundamental de braços autossômicos 20 ( $NF = 20$ ) e os cromossomos sexuais, X e Y correspondem a um cromossomo metacêntrico e acrocêntrico, respectivamente (BAKER, 1970; BAKER & HSU, 1970; PATTON & BAKER, 1978; BAKER & BICKHAM, 1980). As regiões organizadoras de nucléolo, são evidenciadas nesta espécie em um par de cromossomos acrocêntricos, o par 4 (SANTOS *et al.*, 2002).

A utilização de fluorocromos GC-específico ( $CMA_3$ ) possibilita compreender as relações cromossômicas que se estabeleceram em cada cariótipo tais como, organização, e evolução cromossômica através da identificação de rearranjos intraespecíficos e interespecíficos e diferenciação de segmentos heterocromáticos aparentemente homogêneos por Giemsa e banda-C (GUERRA, 1988; SANTOS & SOUZA, 1998; KASAHARA, 2009). Ainda são poucos os estudos com fluorocromos base-específico para morcegos (SANTOS & SOUZA, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; LEITE-SILVA *et al.*, 2003; GOMES *et al.*, 2012). SANTOS *et al.* (2001) utilizando fluorocromos base-específicos visualizou o padrão de bandas para morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* e *Diphylla ecaudata*, sendo revelado um padrão de bandas fracas nos cromossomos das duas espécies.

Com o intuito de auxiliar na identificação dos táxons, a caracterização molecular das espécies está sendo usada em complemento aos aspectos morfológicos e citogenéticos para diferentes grupos de organismos (NORONHA *et al.*, 2003). O citocromo oxidase subunidade I (COI) pode servir como um código de barras de DNA para a identificação de espécies animais utilizando um fragmento de aproximadamente 648 pb do gene mitocondrial (HEBERT *et al.*, 2003). Estudos com COI em morcegos ainda são recentes (CLARE *et al.*, 2011; NESI *et al.*, 2011). CLARE *et al.* (2007) analisando morcegos neotropicais na Guiana identificaram todos os exemplares a partir de sequências COI e verificaram um alto nível na variação do código de barras dentro do grupo, refletindo uma mudança geral no padrão da diversidade intraespecífica quando comparado com outros grupos de animais.

Uma abordagem sobre o relacionamento filogenético dos gêneros *Tonatia* e *Lophostoma* foi realizada por LEE-JR *et al.* (2002), baseados em sequências de DNA mitocondrial 12S e 16S. Neste trabalho os autores verificaram que as nove espécies que integravam o gênero *Tonatia* não formavam um grupo monofilético e propuseram a mudança de todas as espécies de *Tonatia* para *Lophostoma*, exceto *T. bidens* e *T. saurophila*.

Devido às incertezas taxonômicas e citogenéticas do gênero *Tonatia*, este trabalho buscou obter uma melhor compreensão dos aspectos morfológicos e citogenéticos para o gênero e a ampliação do conhecimento dos morcegos do Cerrado, por meio da caracterização citogenética de espécimes de *Tonatia bidens* e *Tonatia saurophila* e da utilização de sequências nucleotídicas de DNA mitocondrial para a confirmação das espécies analisadas.

---

## Material e Métodos

---

### 1. Capturas e espécies

Dois exemplares de *T. bidens* foram coletados no Parque Estadual da Serra Azul (PESA), uma unidade de conservação localizada no município de Barra do Garças, região Leste do estado de Mato Grosso. O PESA possui uma área de 11.002ha de Cerrado apresentando diversas fitofisionomias, o clima dominante é tropical chuvoso, pertencente ao tipo AW – quente e úmido, de acordo com a classificação de Köppen (FEMA, 2003). Um dos exemplares foi capturado no dia 24 de abril de 2013 em uma mata de galeria preservada, a 533 metros de altitude, tendo como um dos seus limites uma matriz de pasto abandonada (15°50'17,5" S, 52°14'56,0" W). O segundo exemplar foi capturado em 28 de agosto de 2013 em um cerrado ralo, com 728 metros de altitude circundada por vegetação natural preservada, com a vegetação arbórea variando entre dois e nove metros (15°49'36,2" S, 52°13'50,1" W), neste local não há evidências de degradação.

Um exemplar de *T. saurophila*, espécie ainda não registrada para o estado de Mato Grosso, foi coletado numa propriedade particular, em 24 de agosto de 2013 em uma mata de galeria preservada situada em um complexo da Serra do Roncador, município de Barra do Garças (15°20'36,6" S, 52°12'59,0" W). O local de coleta é circundado por ambientes preservados, mas encontra-se próximo a uma área agrícola com plantação de soja.

A captura dos morcegos foi realizada com a utilização de redes de neblina de 9 m x 3 m abertas das 18h00min às 00h00min e a revisão para a retirada dos morcegos foi realizada em intervalos de 30 minutos. Os morcegos capturados foram acondicionados em sacos de pano individuais para identificação e tomada de medidas morfológicas. A identificação dos espécimes foi realizada através de bibliografias especializadas (VIZOTTO & TADDEI, 1973; GARDNER, 2007; REIS *et al.*, 2013), e confirmação com envio a um especialista do laboratório

de Biodiversidade Animal, da Universidade Federal de Goiás (UFG), *Campus* de Jataí-GO. Após serem sacrificados para a obtenção de material genético, os espécimes foram depositados como material testemunho na coleção científica do Laboratório de Genética da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* de Nova Xavantina, sob os números tombo: RM 338 e RM 356 (*Tonatia bidens*) e RM 354 (*Tonatia saurophila*).

## **2. Análise de caracteres morfológicos externos e cranianos**

Em cada exemplar foram verificados os dados de peso, sexo, faixa etária (adulto e subadulto) e condição reprodutiva. Também foram realizadas medidas morfológicas externas e cranianas, de acordo com VIZOTTO & TADDEI (1973), expressas em mm, com auxílio de paquímetro manual “Digimess”, resolução de 0,05 mm. As medidas morfológicas externas realizadas foram: comprimento do antebraço e comprimento da orelha e as medidas cranianas foram: comprimento total do crânio (Ct); comprimento côndilo-basal (Cb); comprimento palatal (Cpt); comprimento da série de dentes superiores (C-M<sup>2</sup><sub>3</sub>S); comprimento da mandíbula (Cm); largura externa dos cingula-caninos (Lc); largura externa dos molares superiores (Lm); largura pós-orbital (Lp); largura zigomática (Lz); largura da caixa craniana (Lcx); largura mastóidea (Lmt) (Anexo 2).

## **3. Preparações cromossômicas**

O material citogenético foi obtido a partir da extração direta da medula óssea, conforme descrito em MORIELLE-VERSUTE *et al.* (1996), com modificações. O procedimento envolve a injeção dorsal e subcutânea de solução de fermento glicosado, injeção intraperitoneal de colchicina a 0,5%, hipotonização com KCl 0,075M e fixação com metanol-ácido acético 3:1 (Anexo 3).

#### **4. Bandamentos e documentação cromossômica**

A morfologia cromossômica foi visualizada com coloração convencional com *Giemsa* (GUERRA, 1988). O bandamento C, para evidenciação de blocos de heterocromatina constitutiva seguiu o procedimento descrito em SUMNER (1973), com modificações e a coloração Ag-NOR para observação das regiões organizadoras de nucléolos (Ag-RONs) ativas durante o último ciclo de divisão celular, seguiu HOWELL & BLACK (1980). Para a distinção de regiões ricas em C e G foi realizada a coloração com o fluorocromo base-específico CMA<sub>3</sub>, seguindo SCHWEIZER (1980), com adaptações (Anexo 4). A documentação cromossômica foi realizada em microscópio Olympus BX51 e os cariótipos foram montados com o auxílio do programa Adobe Photoshop 7.0. Os cromossomos analisados foram medidos e classificados considerando a posição do centrômero, em quatro classes distintas: metacêntrico, submetacêntrico, subtelocêntrico e acrocêntrico (Apêndice 1), seguindo a classificação de LEVAN *et al.* (1964) (Anexo 5).

#### **5. Extração e amplificação de DNA**

As amostras de DNA foram obtidas a partir de pequenos fragmentos de tecido usando o protocolo ALJANABI & MARTINEZ (1997) resultando num extrato de DNA no total de 50 µl (Anexo 6). Os primers COI FishF<sub>2</sub> 5'-TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC3' e FishR<sub>2</sub> 5'ACT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA3' (WARD *et al.*, 2005), foram utilizados posteriormente para amplificar um fragmento de aproximadamente 800 pb do gene COI. O PCR continha 9,08 µl de água miliQ autoclavada; 1,25 µl de tampão 10 x de PCR; 0,325 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 0,25 µl de cada primer; 0,20 µl de dNTPs (0,05 mM); 0,10 µl de Taq polimerase (5 U/ µl) e 1,0 µl de DNA genômico. O regime térmico foi realizado no termociclador da marca Eppendorff e consistiu de um passo inicial de 5 min a 94 °C, seguido de 30 ciclos de 45 s a 94 °C, 1 min a 50 °C e 1 min a 72 °C, por sua vez seguido por 5 min a

72 °C. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose 1,5% solubilizado em tampão TBE 0,5X e visualizados em luz ultravioleta. O produto de PCR do gene COI foi sequenciado seguindo a técnica de SANGER *et al.* (1977) e será disponibilizado para futuras comparações através do *National Center for Biotechnology Information* (Genbank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

## **6. Análise dos dados moleculares**

Os dados moleculares de DNA barcode se basearam na sequência parcial de 670pb do gene COI. As sequências foram alinhadas através da ferramenta Clustal W e editadas usando o software Bioedit (HALL, 1999) para analisar a qualidade do sequenciamento do DNA mitocondrial. No programa Mega 6.0 (TAMURA *et al.*, 2013), as sequências do gene COI foram analisadas utilizando o método do vizinho mais próximo (NJ), pelo modelo K2P com suporte de 1000 replicações de *bootstrap* para verificar as relações entre as espécies. A distância genética entre as amostras também foram calculadas usando o modelo K2P, obtendo a distância média dentro e entre os clados obtidos. As amostras de *T. bidens* e *T. saurophila* obtidas foram comparadas com sequências de espécimes do Cerrado *Lophostoma silviculum* (RM 95, RM 106, RM 160 e RM 105) e *Vampyrum spectrum* (RM 123), cujo material testemunho encontra-se tombado na coleção científica do Laboratório de Genética da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* de Nova Xavantina e com sequências do genbank de *Tonatia saurophila* e *Lophostoma silviculum*.

---

## Resultados

---

### 1. Análises morfométricas

Todos os espécimes analisados apresentaram características de adultos, condição comprovada através da verificação do nível de ossificação das metáfises dos antebraços e também pela condição reprodutiva. As análises morfométricas em *T. bidens* e *T. saurophila* revelaram que os espécimes se assemelharam no tamanho, apresentando medidas externas e cranianas padrões para estas espécies de acordo com o estabelecido na literatura (Tabela 1).

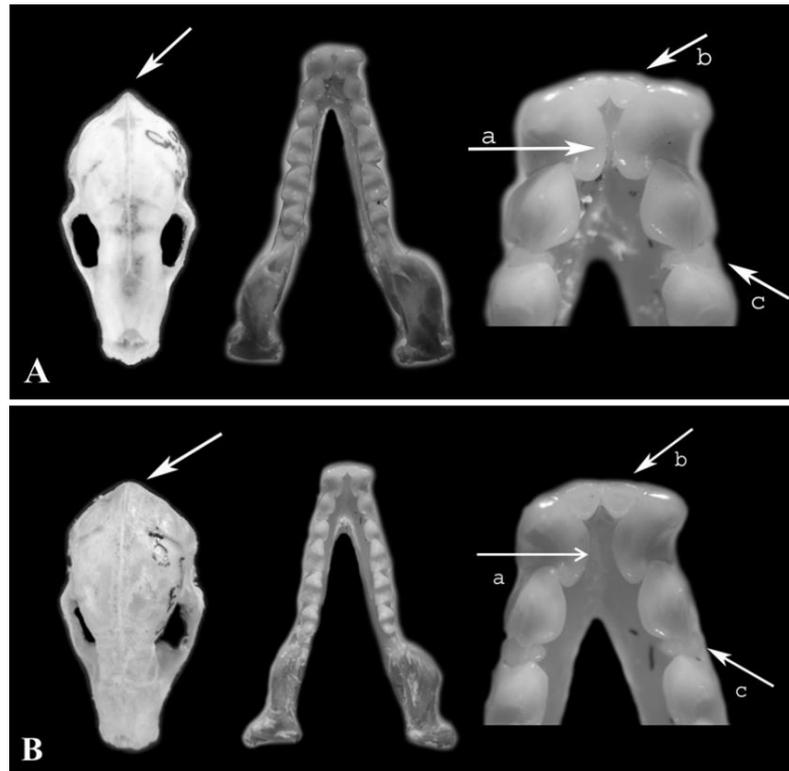
**Tabela 1.** Medidas externas e cranianas (mm) dos exemplares de morcegos analisados *T. bidens* e *T. saurophila* do Cerrado de Mato Grosso, Brasil. Dados: comprimento (C) e largura (L).

Medidas	<i>Tonatia bidens</i> (RM 338)	<i>Tonatia bidens</i> (RM 356)	<i>Tonatia saurophila</i> (RM 354)
<b>Externas</b>			
Peso (g)	30	27	37
C. Antebraço	56,2	52,9	59,1
C. da orelha	24,7	23,6	25,0
<b>Cranianas</b>			
C. total do crânio	28,0	27,6	29,3
C. côndilo-basal	26,4	26,0	27,2
C. palatal	12,2	12,0	12,7
C. da série de dentes superiores	10,2	10,1	11,1
C. da mandíbula	17,6	17,0	18,5
L. externa dos cingula-caninos	5,8	5,5	6,0
L. externa dos molares superiores	8,5	8,7	9,2
L. pós-orbital	6,3	6,7	7,4
L. zigomática	13,8	13,0	14,9
L. da caixa craniana	11,3	11,2	11,5
L. mastóidea	13,0	12,7	13,6

Devido à sobreposição das medidas morfológicas estabelecidas pela literatura para *T. bidens* e *T. saurophila* quando comparadas com as medidas aqui encontradas, também foram realizadas análises morfológicas de caracteres exclusivos para distinguir estas espécies. *Tonatia bidens* foi identificado pelo fato de não apresentar listra branca em cima da cabeça, a qual estava presente em *T. saurophila* (Figura 1); possuir caninos inferiores separados por uma abertura estreita e incisivos inferiores estreitos, enquanto que em *T. saurophila* os caninos inferiores estavam separados por um espaço relativamente grande e incisivos inferiores mais largos; e, apresentar ampla constrição pós-orbital enquanto *T. saurophila* não possui constrição na região pós-orbital do crânio; apresentar aglomeração no segundo pré-molar inferior causada pelos pré-molares adjacentes com coroa obscurecida pelo cingulo do primeiro e terceiro pré-molares enquanto em *T. saurophila* o segundo pré-molar inferior é mais desenvolvido, não obscurecido pelos pré-molares adjacentes (Figura 2).



**Figura 1.** A) *Tonatia bidens* (RM 338). B) *Tonatia saurophila* (RM 354) evidenciando a lista branca no topo da cabeça (seta).



**Figura 2.** A) Crânio de *Tonatia bidens* (RM 338): à esquerda crânio do espécime (seta indica a constrição pós-orbital); no centro a mandíbula e à direita dentes inferiores, as setas indicam: a) separação dos caninos por uma abertura estreita, b) incisivos inferiores estreitos, c) aglomeração no segundo pré-molar inferior. B) *Tonatia saurophila* (RM 354): à esquerda crânio do espécime (seta indica ausência de constrição orbital); no centro a mandíbula e à direita dentes inferiores, as setas indicam: a) caninos inferiores separados por um espaço relativamente grande; b) incisivos inferiores largos, c) segundo pré-molar inferior mais desenvolvido e com menos aglomeração.

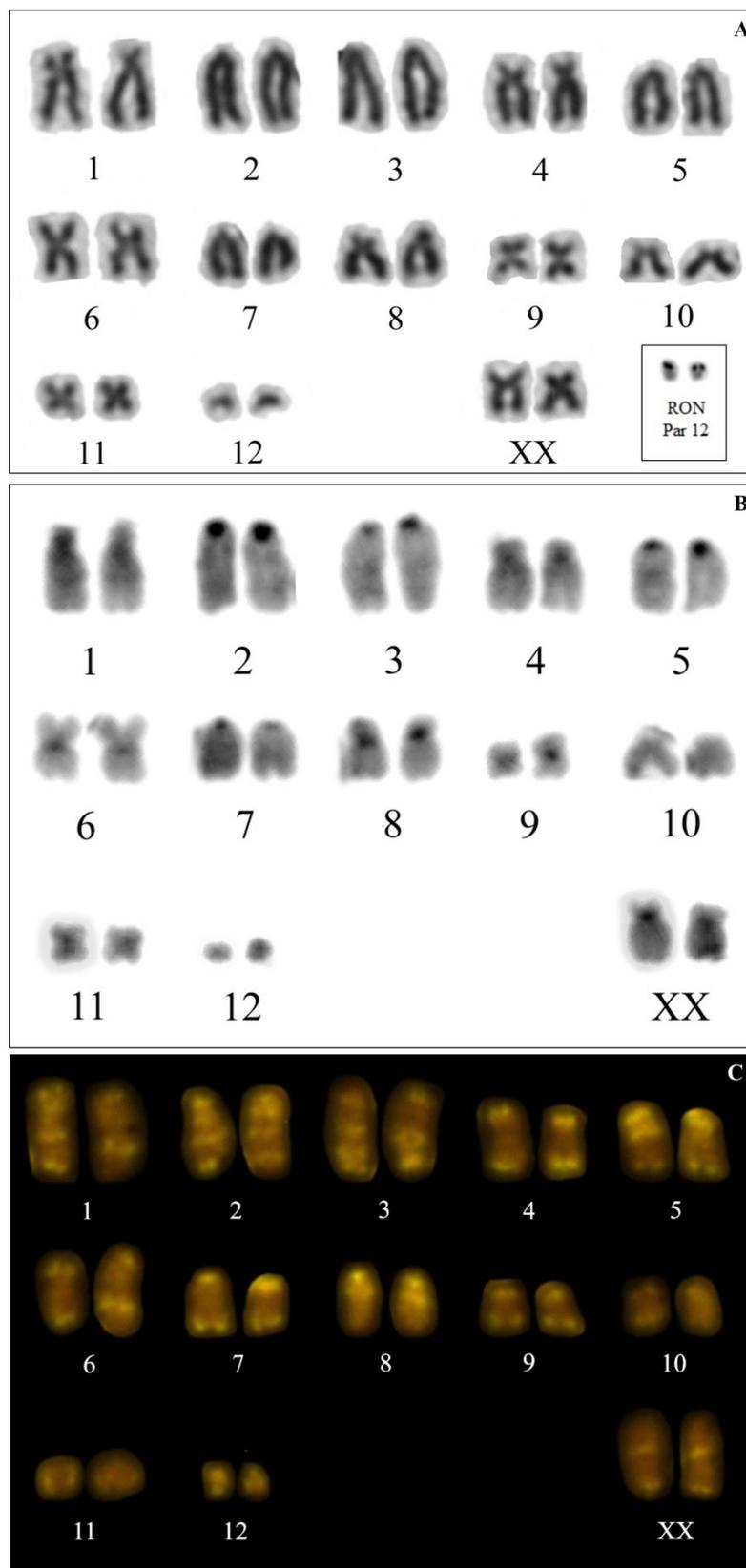
## 2. Análises citogenéticas

Foi possível a obtenção do material cromossômico para os espécimes *T. bidens* (RM 338) e *T. saurophila* (RM 354). Um total de 15 lâminas foi analisado para *T. bidens* e 10 lâminas para *T. saurophila*. As metáfases foram analisadas nas seguintes quantidades:

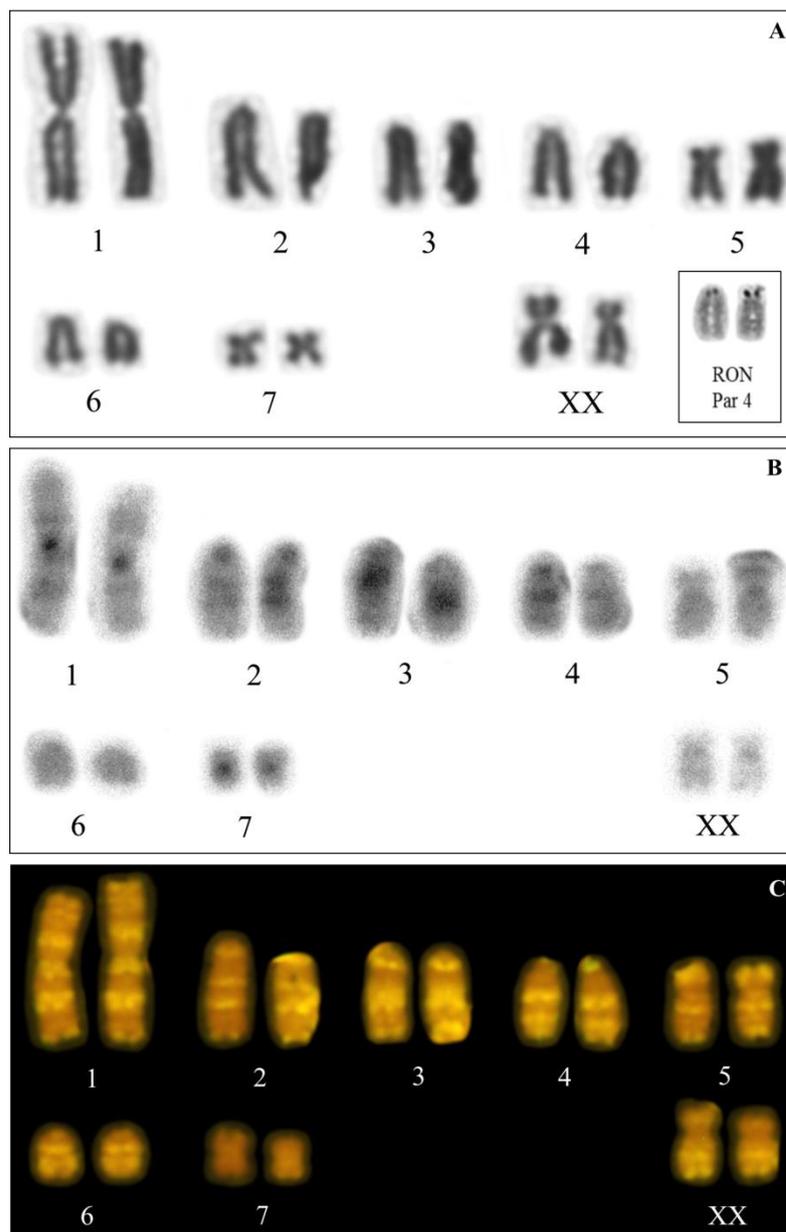
coloração com *Giemsa* (27 e 39), Banda-C (45 e 19), CMA<sub>3</sub> (15 e 30) e Ag-NOR (40 e 23), para *T. bidens* e *T. saurophila*, respectivamente.

*Tonatia bidens* apresentou  $2n = 26$  e  $NF = 38$ . O citótipo analisado possui três pares de cromossomos metacêntricos (6, 9 e 11), um par de cromossomos submetacêntricos (4), três pares de cromossomos subteloicêntricos (1, 8 e 10) e cinco pares de cromossomos acrocêntricos (2, 3, 5, 7 e 12). Embora o exemplar capturado seja uma fêmea, o cromossomo X foi considerado um submetacêntrico médio com base na literatura para este gênero. A região organizadora de nucléolo (Ag-RONs) foi evidenciada em um par de cromossomos acrocêntricos (12). O bandamento C identificou as regiões de heterocromatina constitutiva nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos. A coloração com fluorocromo base-específico CMA<sub>3</sub> identificou bandas transversais correspondentes às regiões ricas em CG<sup>+</sup> em todos os pares de cromossomos (Figura 3).

*Tonatia saurophila* apresentou  $2n = 16$  e  $NF = 20$ . O seu conjunto de autossomos apresenta dois pares de cromossomos metacêntricos (1 e 7), um par de cromossomos submetacêntricos (5) e quatro pares de cromossomos acrocêntricos (2, 3, 4 e 6). O cromossomo X compõe um metacêntrico médio, de acordo com o estabelecido na literatura. A região organizadora de nucléolo (Ag-RONs) foi evidenciada em um par de cromossomos acrocêntricos (4). O bandamento C identificou as regiões de heterocromatina constitutiva nas regiões centroméricas nos pares cromossômicos (1, 2 e 7) e intersticiais nos pares cromossômicos (3, 4 e 5). A coloração com fluorocromo base-específico CMA<sub>3</sub> identificou as bandas transversais correspondentes às regiões ricas em CG<sup>+</sup> em todos os pares de cromossomos (Figura 4).



**Figura 3.** Cariótipo de *Tonatia bidens*. a) Coloração convencional com Giemsa, em evidência marcação da RON (par 12); b) Bandamento C; c) Coloração com cromomicina CMA<sub>3</sub>. (♀, 2n = 26 e NF = 38).

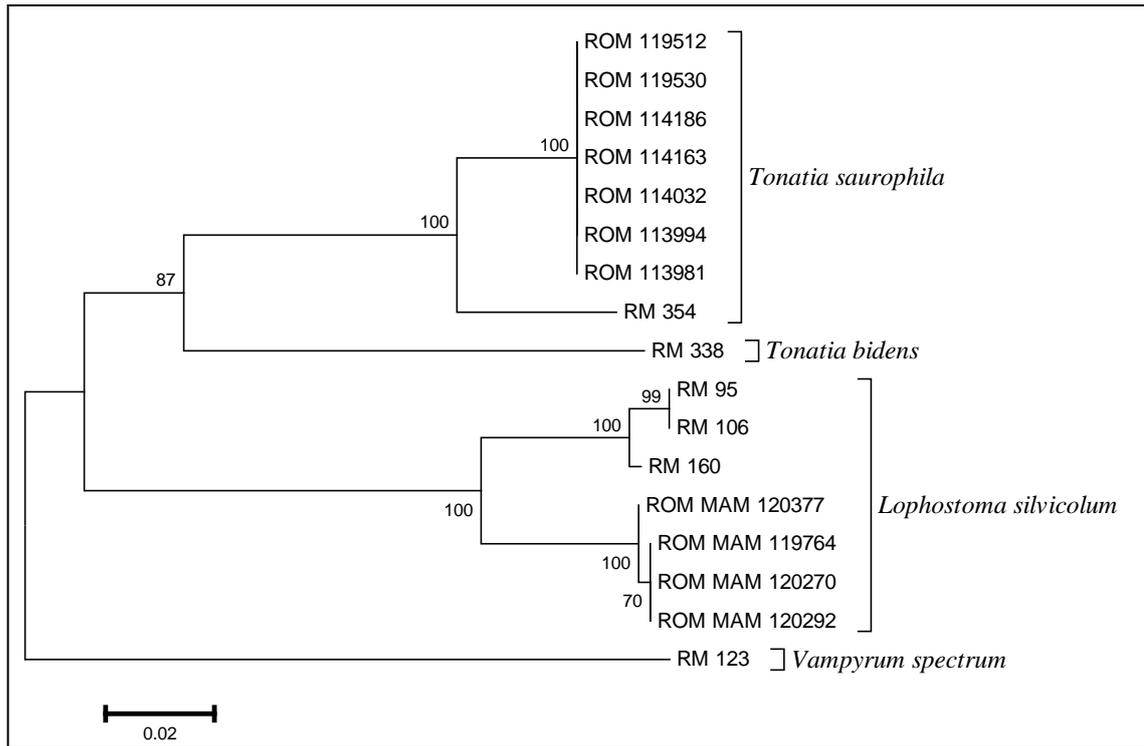


**Figura 4.** Cariótipo de *Tonatia saurophila*. a) Coloração convencional com Giemsa, em evidência marcação da RON (par 4); b) Bandamento C; c) Coloração com cromomicina CMA<sub>3</sub>. (♀, 2n= 16 e NF = 20).

### 3. Análises moleculares

Os dados moleculares de DNA barcode foram baseados na sequência parcial de 670 pb de sequências mitocondriais do gene COI para *T. bidens* e *T. saurophila*. Quando comparados com amostras de espécimes do Cerrado *Lophostoma silvicolum* e *Vampyrum*

*spectrum* (subfamília Phyllostominae) os dados formaram quatro grupos distintos como visualizados no dendograma de NJ (Figura 5). As distâncias genéticas interespecíficas baseadas na distância K2P mostrou uma alta dissimilaridade entre *T. bidens* e *T. saurophila* (15,8%). As distâncias interespecíficas das espécies analisadas estão indicadas na Tabela 2.



**Figura 5.** Dendrograma do vizinho mais próximo (NJ) baseado na distância K2P mostrando a separação dos clados analisados de espécimes do Cerrado.

**Tabela 2.** Similaridades interespecíficas baseado na distância K2P para todas as comparações dos táxons analisados (%).

	<i>T. bidens</i>	<i>T. saurophila</i>	<i>L. silvicolum</i>	<i>V. spectrum</i>
<i>T. bidens</i>	—			
<i>T. saurophila</i>	15,8	—		
<i>L. silvicolum</i>	20,5	19,6	—	
<i>V. spectrum</i>	23,5	22,0	23,5	—

---

## Discussão

---

*Tonatia bidens* e *T. saurophila* podem ser encontrados em diferentes habitats florestais, pântanos e áreas agrícolas (HANDLEY-JR., 1978; WILLIAMS & GENOWAYS, 2007). Em nossos estudos também registramos a ocorrência destas espécies em área florestal preservada, sendo uma delas próximo a uma monocultura (soja), corroborando com a literatura. De acordo com ESBÉRARD & BERGALLO (2004) os morcegos do gênero *Tonatia* são pouco amostrados na natureza, podendo muitas vezes ser considerados raros. Muitos inventários faunísticos têm sido realizados, mas poucos relatam a ocorrência do gênero *Tonatia*. A maioria das capturas de espécimes pertencentes a este gênero ocorreu nos estados do Amazonas, Pernambuco e Rio de Janeiro (Tabela 3). Embora tenham ocorrido registros das espécies *T. bidens* e *T. saurophila* em um número relativamente alto nestes dois estados, dados citogenéticos não foram verificados para estes exemplares.

**Tabela 3.** Espécies de *Tonatia bidens* e *Tonatia saurophila* registradas em inventários faunísticos brasileiros, ressaltando o local de coleta e o número de indivíduos capturados ao longo desses inventários.

Localidade	<i>Tonatia bidens</i>	N	<i>Tonatia saurophila</i>	N	Referências
Acre			X	2	1, 2
Alagoas	X		X		3
Amapá			X	10	4
Amazonas			X	42	5, 6
Bahia	X				7, 8
Ceará	X				3
Belém			X	7	7
Espírito Santo	X	1	X	8	9
Mato Grosso	X	2			7
Maranhão			X		10
Minas Gerais	X	7	X	2	11
Pará	X		X		12, 13

Continuação Tabela 3

Paraíba	X		X		14
Paraná	X				15
Pernambuco	X	47	X	3	7, 16
Rio de Janeiro	X	130			17, 18, 19, 20, 21
Roraima			X		13
Santa Catarina	X	1			7
São Paulo	X	5			7, 22, 23
Sergipe			X	1	24
Tocantins	X				25

Referências: [1] NOGUEIRA *et al.*, 1999; [2] SANTOS *et al.*, 2012; [3] TAVARES *et al.*, 2008; [4] MARTINS *et al.*, 2006; [5] MORATELLI *et al.*, 2010; [6] PRESLEY *et al.*, 2008; [7] WILLIAMS *et al.*, 1995; [8] FARIA *et al.*, 2006; [9] PERACCHI *et al.*, 2011b; [10] DIAS *et al.*, 2009; [11] NOGUEIRA *et al.*, 1998; [12] CESARI *et al.*, 2010; [13] BERNARD *et al.*, 2011; [14] FEIJÓ & LANGGUTH, 2011; [15] MIRETZKI, 2003; [16] SANTOS *et al.*, 2002; [17] DIAS *et al.*, 2002; [18] DIAS *et al.*, 2010; [19] DIAS & PERACCHI, 2008; [20] ESBÉRARD *et al.*, 2000; [21] ESBÉRARD & BERGALLO, 2004; [22] MARTUSCELLI, 1995; [23] PORTER *et al.*, 2003; [24] BRITO & BOCCHIGLIERI, 2012; [25] GREGORIN *et al.*, 2011.

A taxonomia de *T. bidens* e *T. saurophila* é complexa e muitas vezes os espécimes são erroneamente identificados. As características relevantes encontradas neste trabalho em *T. bidens* para diferenciá-lo de *T. saurophila* foi à ausência de uma listra clara na cabeça, constrição pós-orbital mais ampla, aglomeração no segundo pré-molar, menor separação dos caninos inferiores e incisivos estreitos (WILLIAMS *et al.*, 1995; WILLIAMS & GENOWAYS, 2007). WILLIAMS & GENOWAYS (2007) abordando aspectos da subfamília Phyllostominae também ressaltam como característica externa para distinção das duas espécies a presença/ausência de uma listra branca em cima da cabeça, ligadas atrás da orelha.

WILLIAMS *et al.* (1995) em sua revisão taxonômica para o gênero *Tonatia*, reconheceram espécimes de *T. bidens* identificado por GOODWIN (1942) como sendo de *T. saurophila*, devido as características morfológicas e medidas cranianas apresentadas para o grupo em questão. Nossas medidas cranianas estão de acordo com as descritas por estes

autores para as espécies analisadas. NOGUEIRA *et al.* (1998), estudando os aspectos sistemáticos dos quirópteros em Minas Gerais também encontrou esse mesmo padrão na morfometria externa e craniana para *T. bidens* e *T. saurophila*.

As análises cariotípicas para as duas espécies demonstrou que *T. bidens* apresenta  $2n = 26$  e  $NF = 38$  e *T. saurophila* apresenta  $2n = 16$  e  $NF = 20$ , representando uma diferença de 10 cromossomos entre as duas espécies. Na literatura há descrição apenas para o cariótipo de *T. bidens* como sendo composto de  $2n = 16$  e  $NF = 20$  (BAKER, 1970; BAKER & HSU, 1970; GARDNER, 1977; BAKER, 1979; PATTON & BAKER, 1978; BAKER & BICKHAM, 1980; HONEYCUTT *et al.*, 1980; SANTOS *et al.*, 2002), constituição cariotípica semelhante à encontrada neste trabalho para *T. saurophila*. A ocorrência da revisão que separou as duas espécies especialmente pela presença/ausência da lista facial somente em 1995 (WILLIAMS *et al.*, 1995) explica o fato dos trabalhos anteriores a este considerarem o cariótipo  $2n = 16$  como sendo pertencente a *T. bidens* e não a *T. saurophila*.

As variações cromossômicas podem ocorrer entre espécimes do mesmo gênero e até da mesma espécie, mas erros taxonômicos também ocorrem e as espécies chegam a ser confundidas morfologicamente, acarretando numa identificação equivocada. Diante dos erros taxonômicos relatados como ocorridos na identificação das espécies deste gênero (GOODWIN, 1942; GENOWAYS & BAKER, 1978), as evidências cariotípicas indicam que os cariótipos relatados na literatura são de *T. saurophila*.

Dentro da ordem Chiroptera o conservacionismo cromossômico em alguns gêneros é tão intenso que algumas espécies apresentam a mesma constituição cromossômica e o mesmo padrão de bandas-G (BAKER, 1970; MORIELLE-VERSUTE *et al.*, 1996; FARIA & MORIELLE-VERSUTE, 2006). No entanto, algumas espécies de morcegos podem apresentar variações no número diplóide e número fundamental (VARELLA-GARCIA & TADDEI, 1989; SILVA *et al.*, 2005).

Embora a variação no número de cromossomos encontrada para o gênero *Tonatia* neste trabalho (10 cromossomos) seja grande, dentro da subfamília Phyllostominae as espécies de um mesmo gênero também podem apresentar grandes diferenças em seu número diplóide e no número fundamental. Estas diferenças variam de dois cromossomos no gênero *Mimon* a 14 cromossomos no gênero *Micronycteris* (BAKER & HSU, 1970; PATTON & BAKER, 1978; BAKER *et al.*, 1981; GIACOMONI *et al.*, 1998).

O cariótipo de *T. bidens*  $2n = 26$  e  $NF = 38$  encontrado neste trabalho, difere dos já descritos na literatura. Outras espécies que apresentam  $2n = 26$  têm a morfologia cromossômica diferente, acarretando em diferentes números fundamentais: *Lophostoma carrikeri*  $2n = 26$  e  $NF = 46$  (BAKER *et al.*, 1981), *Chiroderma villosum*  $2n = 26$  e  $NF = 48$  (BAKER, 1967; SOUSA, 2011), *Peropteryx macrotis*  $2n = 26$  e  $NF = 48$  (BAKER *et al.*, 1981); *Rhinophylla pumilio*  $2n = 26$  e  $NF = 48$  (TOLEDO, 1973); *Saccopteryx bilineata*  $2n = 26$  e  $NF = 36$  (BAKER & JORDAN, 1970); *Vampyressa bidens*  $2n = 26$  e  $NF = 48$  (GARDNER, 1977) e *Vampyressa brocki*  $2n = 26$  e  $NF = 44$  (GARDNER, 1977).

Em morcegos da família Phyllostomidae a heterocromatina constitutiva (HC) pode ocorrer nas regiões centroméricas, teloméricas e intersticiais, mas no geral o padrão de bandas-C tem sido visualizado nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos (VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989; SANTOS *et al.*, 2001). Neste trabalho as regiões de heterocromatina constitutiva foram observadas nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos de *T. bidens* e nas regiões pericentroméricas e intersticiais de alguns cromossomos de *T. saurophila*, corroborando com o esperado para a visualização da HC em morcegos, de acordo com os relatos da literatura.

As Ag-RONs de *T. bidens* foram evidenciadas no par de cromossomos acrocêntricos 12 e em *T. saurophila* no par de cromossomos acrocêntricos 4. As Ag-RONs de *T. saurophila* encontrada no presente estudo são evidenciadas no mesmo par cromossômico relatado para *T.*

*bidens* e confirmado através da técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH), que também marcou o par cromossômicos acrocêntricos 4 (SANTOS *et al.*, 2002). MARTINS *et al.* (2010) utilizando sondas 18S de rDNA no cariótipo de *T. saurophila* também verificou a marcação neste mesmo par. No presente estudo foi possível a observação de bandas transversais em *T. bidens* e *T. saurophila* através do fluorocromo base-específico (CMA<sub>3</sub>), sendo estas bandas relatadas pela primeira vez para estas espécies. O padrão de bandas obtidas permitiu individualizar os pares cromossômicos auxiliando na identificação precisa de seus homólogos.

A formação de clados distintos entre *T. bidens*, *T. saurophila* e todas as outras amostras analisadas por meio do marcador COI confirmaram a identificação correta das espécies analisadas neste estudo. BAKER *et al.* (2003) realizou análises filogenéticas pelo gene nuclear RAG2 e também evidenciou um agrupamento em clados diferentes entre *Tonatia* e *Lophostoma*. PORTER *et al.* (2003) baseados em sequências de DNA mitocondrial 12S e 16S e do gene nuclear RAG2 reconheceram *T. bidens* como espécie distinta de *T. saurophila*, segundo estes autores, as duas espécies são geneticamente distantes, pois os valores de dissimilaridade entre elas são altos. Esses dados corroboram com nossos resultados, pois a dissimilaridade encontrada para *T. bidens* e *T. saurophila* também foi alta (15,8%).

Concluimos que os espécimes de *Tonatia bidens* e *Tonatia saurophila* encontrados no Cerrado de Mato Grosso apresentam caracteres morfológicos externos e cranianos que permitem distingui-los. Além disso, a constituição cariotípica para *T. bidens* ( $2n = 26$  e  $NF = 38$ ), evidenciada pela primeira vez, poderá auxiliar na identificação dessa espécie, pois *T. saurophila* possui constituição cariotípica diferente ( $2n = 16$  e  $NF = 20$ ). Por fim, devido aos erros taxonômicos em espécimes deste gênero (*T. saurophila* como *T. bidens*), sugerimos que o cariótipo relatado na literatura para *T. bidens* seja reconhecido como sendo de *T. saurophila*, visto que as análises moleculares com o gene COI também mostraram uma alta

dissimilaridade entre estas espécies separando-as em clados distintos, confirmando a correta identificação dos espécimes utilizados neste trabalho.

---

## Referências Bibliográficas

---

- ALJANABI, S. M. & MARTINEZ, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Res.** **25**(22):4692-4693.
- BAKER, R. J. 1967. Karyotypes of bats of the family Phyllostomidae and their taxonomic implications. **Southwestern Naturalist** **12**:407-428.
- BAKER, R. J. 1970. The role of karyotypes in phylogenetic studies of bats. *In*: Slaughter, B. H. & Walton, D. W. eds. **About Bats**. Southern Methodist Univ. Press, Dallas, p. 303-312.
- BAKER, R. J. 1979. Karyology. *In*: BAKER, R. J.; JONES-JR, J. K. & CARTER, D.C. eds. **Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae, Part III**. Special publications of the Museum of Texas Tech University, pp. 107-155.
- BAKER, R. J. & BICKHAM, J. W. 1980. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. **Systematic Zoology** **29**(3):239-253.
- BAKER, R. J., GENOWAYS, H. H. & SEYFARTH, P. A. 1981. Results of the Alcoa Foundation-Suriname Expeditions. VI.: Additional Chromosomal Data for Bats (Mammalia, Chiroptera) from Suriname. **Carnegie Museum of Natural History** **50**:333-344.
- BAKER, R. J.; HOOFFER, S. R.; PORTER, C. A. & VAN DEN BUSSCHE, R. A. 2003. Diversification among New World leaf-nosed bats: an evolutionary hypothesis and classification inferred from digenomic congruence of DNA sequence. **Occasional Papers**, Museum of Texas Tech University **230**:1-32.
- BAKER, R. J. & HSU, T. C. 1970. Further studies in the sex chromosome systems of American leaf-nosed bats (Chiroptera: Phyllostomatidae). **Cytogenetics** **9**:131-138.
- BAKER, R. J. & JORDAN, R. G. 1970. Chromosomal studies of some Neotropical bats of the families Emballonuridae, Noctilionidae, Natalidae, and Vespertilionidae. **Caryologia** **23**:595-604.
- BARQUEZ, R. M. & DÍAZ, M. M. 2001. Bats of the Argentine Yungas: a systematic and distributional analysis. **Acta Zool. Mex.** **82**:29-81.
- BERNARD, E.; TAVARES, V. C. & SAMPAIO, E. 2011. Compilação atualizada das espécies de morcegos (Chiroptera) para a Amazônia Brasileira. **Biota Neotropica** **11**(1):1-12.
- BRITO, D. V. & BOCCHIGLIERI, A. 2012. Comunidade de morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Refúgio de Vida Silvestre Mata do Junco, Sergipe, nordeste do Brasil. **Biota Neotropica** **12**(3):1-9.
- CATZEFLIS, F. 2010. Liste des Mammifères de Guyane française. **Arvicola** **19**(2):39-44.
- CESARI, A.; PAVAN, A. C. D.; OLIVEIRA, M. V. B.; GARBINO, G. S. T.; AQUINO, C. C.; PEREIRA, L. G.; MARTINS, S. S.; ALVES, T. F.; BARROS, J. G.; AIRES, C. C.; MARTINS, F. M. & NASCIMENTO, F. O. 2010. Richness of bats in the Floresta Nacional Tapirapé-Aquiri, state of Para, Brazil. *In*: Horáček, I. & Benda, P. eds. **15 The international bat research conference**. Prague, p. 111.
- CLARE, E.; LIM, B. K.; ENGSTROM, M. D. EGER, J. L. & HEBERT, P. D. N. 2007. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. **Molecular Ecology Notes** **7**: 184-190.
- CLARE, E. L.; LIM, B. K.; FENTON, M. B. & HEBERT, P. D. N. 2011. Neotropical Bats: Estimating Species Diversity with DNA Barcodes. **PLoS One** **6**(7):e22648.
- CLARKE, F. M. & DOWNIE, J. R. 2001. A bat (Chiroptera) survey of Mora rainforest in Trinidad's Victoria-Mayaro Forest Reserve. **Biodiversity and Conservation** **10**:725-736.
- DIAS, D. & PERACCHI, A. L. 2008. Quirópteros da Reserva Biológica do Tinguá, estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (Mammalia: Chiroptera). **Revista Brasileira de Zoologia** **25**(2):333-369.

- DIAS, D.; PERACCHI, A. L. & SILVA, S. S. P. 2002. Quirópteros do Parque Estadual da Pedra Branca, Rio de Janeiro, Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista bras. Zool.** **19**(Supl. 2):113-140.
- DIAS, D.; PEREIRA, S. N.; MAAS, A. C. S.; MARTINS, M. A.; BOLZAN, D. P. & PERACCHI, A. L. 2010. Quirópteros das regiões Centro-Sul e Médio-Paraíba do estado do Rio de Janeiro (Mammalia, Chiroptera). **Chiroptera Neotropical** **16**(1): 579-585.
- DIAS, P. A.; SANTOS, C. L. C.; RODRIGUES, F. S.; ROSA, L. C.; LOBATO, K. S. & REBÊLO, J. M. M. 2009. Espécies de moscas ectoparasitas (Diptera, Hippoboscoidea) de morcegos (Mammalia, Chiroptera) no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Entomologia** **53**(1): 128-133.
- ESBÉRARD, C. E. L. & BERGALLO, H. G. 2004. Aspectos sobre a biologia de *Tonatia bidens* (Spix) no estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **21**(2):253-259.
- ESBÉRARD, C. E. L.; NUNES, M. S. & HAMMOND, A. D. 2000. Round-eared-bat (*Tonatia bidens*) in Captivity (Chiroptera: Phyllostomidae). **Chiroptera Neotropical** **6**(1-2):125-126.
- FARIA, D. M.; SOARES-SANTOS, B. & SAMPAIO, E. 2006. Bats from the Atlantic rainforest of southern Bahia, Brazil. **Biota Neotropica** **6** (2):1-13.
- FARIA, K. C. & MORIELLE-VERSUTE, E. 2006. Genetic relationships between Brazilian species of Molossidae and Phyllostomidae (Chiroptera, Mammalia). **Genetica** **126**:215–225.
- FEIJÓ, J. A. & LANGGUTH, A. 2011. Lista de Quirópteros da Paraíba, Brasil com 25 novos registros. **Chiroptera Neotropical** **17**(2):1055-1062.
- FEMA – Fundação Estadual do Meio ambiente – MT. 2003. Diagnóstico Ambiental Parque Estadual Serra Azul. Disponível em: <www.femamt.gov.br>. Acesso em: 10 mai. 2014.
- GARDNER, A. L. 1977. Chromosomal variation in *Vampyressa* and a review of chromosomal evolution in the Phyllostomidae (Chiroptera). **Systematic Biology** **26**(3):300-318.
- GARDNER, A. L. 2007. Mammals of South America: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats. **The University of Chicago Press**, Chicago and London, p. 669.
- GENOWAYS, H. H. & BAKER, R. J. 1978. Bats are Beautiful. **Carnegie Magazine** **52**:22-27.
- GIACOMONI, E. H.; BITENCOURT, F. TRIERVEILLER, F. SANA, D. & FREITAS, T. R. 1998. Marcação cromossômica com fluorocromos em quirópteros da região da Serra da Mesa – GO. **Salão de Iniciação Científica (10.: 1998: Porto Alegre)**. Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS.
- GOMES, A. J. B.; NAGAMACHI, C. Y.; RODRIGUES, L. R. R.; FARIAS, S. G.; RISSINO, J. D. & PIECZARKA, J. C. 2012. Karyotypic variation in *Rhinophylla pumilio* Peters, 1865 and comparative analysis with representatives of two subfamilies of Phyllostomidae (Chiroptera). **Comparative Cytogenetic** **6**(2):213-225.
- GOODWIN, G. G. 1942. A summary of recognizable species of *Tonatia*, with descriptions of two new species. **Journal of Mammalogy** **23**(2):204-209.
- GREGORIN, R.; GONÇALVES, E.; AIRES, C. C. & CARMIGNOTTO, A. P. 2011. Morcegos (Mammalia: Chiroptera) da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins: composição específica e considerações taxonômicas. **Biota Neotropica** **11**(1):299-311.
- GUERRA, M. 1988. **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 143p.
- HALL, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series** **41**:95-98.
- HANDLEY-JR, C. O. 1978. Mammals of the Smithsonian Venezuelan project. **Brigham Young University Science Bulletin-Biological Series** **20**(5): 1-91.

- HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. B. & DEWAARD, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences** 270(1512):313-321.
- HONEYCUTT, R. L.; BAKER, R. J. & GENOWAYS, H. H. 1980. Results of the Alcoa Foundation-Suriname Expeditions III. Chromosomal data for bats from Suriname (Mammalia: Chiroptera). **Annals of the Carnegie Museum of Natural History** 49:237-250.
- HOWELL W. N.; BLACK D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Cellular and Molecular Life Sciences** 36:1014-1015.
- KASAHARA, S. 2009. **Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 160p.
- LEE-JR, T. E.; HOOFFER, S. R. & BUSSCHE, R. A. V. D. 2002. Molecular phylogenetics and taxonomic revision of the genus *Tonatia* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Journal of Mammalogy** 83(1):49-57.
- LEITE-SILVA, C.; SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. 2003. Karyotypic characterization of the bat species *Molossus ater*, *M. molossus* and *Molossops planirostris* (Chiroptera, Molossidae) using FISH and banding techniques. **Hereditas** 138: 94-100.
- LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas** 52(2):201-220.
- MARTINS, A. C. M.; BERNARD, E.; GREGORIN, R. & SILVA, W. A. S. 2011. Filling data gaps on the diversity and distribution of Amazonian bats (Chiroptera): The case of Amapá, easternmost Brazil. **Zoologia** 28(2):177-185.
- MARTINS, C.; CABRAL-DE-MELLO, D. C.; VALENTE, G. T.; MAZZUCHELLI, J. & OLIVEIRA, S. G. 2010. Cytogenetic Mapping and Contribution to the Knowledge of Animal Genomes. **Advances in genetics research** 4:1-81.
- MARTUSCELLI, P. 1995. Avian predation by the Round-eared Bat (*Tonatia bidens*, Phyllostomidae) in the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology** 11(3):461-464.
- MCDONOUGH, M. M.; FERGUSON, A. W.; AMMERMAN, L. K.; GRANJA-VIZCAINO, C.; BURNEO, S. F. & BAKER, R. J. 2011. Molecular verification of bat species Collected in Ecuador: results of a Country-wide survey. **Museum of Texas Tech University** 301:1-28.
- MORATELLI, R.; DIAS, D. & BONVICINO, C. R. 2010. Estrutura e análise zoogeográfica de uma taxocenose de morcegos no norte do Estado do Amazonas, Brasil. **Chiroptera Neotropical** 16(1):661-671.
- MORIELLE-VERSUTE, E.; VARELLA-GARCIA, M. & TADDEI, V. A. 1996. Karyotypic patterns of seven species of molossid bats (Molossidae, Chiroptera). **Cytogenetics and Cell Genetics** 72:26-33.
- NESI, N.; NAKOUNE, E.; CRUAUD, C. & HASSANIN, A. 2011. DNA barcoding of African fruit bats (Mammalia, Pteropodidae). The mitochondrial genome does not provide a reliable discrimination between *Epomophorus gambianus* and *Micropteropus pusillus*. **Comptes Rendus Biologies** 334:544-554.
- NOGUEIRA, M. R. 1998. Aspectos sistemáticos e bionômicos dos quirópteros da Região de Jaíba, Norte de Minas Gerais. **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, p. 168.
- NOGUEIRA, M. R.; POL, A. & PERACCHI, A. L. 1999. New records of bats from Brazil with a list of additional species for the chiropteran fauna of the state of Acre, western Amazon basin. **Mammalia-Paris** 63(3):363-367.

- NORONHA, A. C. S.; MOTA, A.; MORAES, G. J. & COUTINHO, L. L. 2003. Caracterização molecular de populações de *Euseius citrifolius* Denmark & Muma e *Euseius concordis* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) utilizando o seqüenciamento das regiões ITS1 e ITS2. **Neotropical Entomology** **32**(4):591-596.
- PACA, R. C.; ACOSTA, L. H. & AGUANTA, F. S. 2012. Primer registro de *Tonatia bidens* (Spix, 1823) (Chiroptera: Phyllostomidae), en Bolivia. **Chiroptera Neotropical** **18**(1):1063-1066.
- PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. C.; MITTERMEIER, R. A. & PATTON, J. L. 2012. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology** (6), p. 76.
- PASSOS, F. C. & GRACIOLLI, G. 2004. Observação da dieta de *Artibeus lituratus* (Olfers) (Chiroptera, Phyllostomidae) em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **21**(3):487-489.
- PATTON, J. C. & BAKER, R. J. 1978. Chromosomal homology and evolution of Phyllostomatoid bats. **Systematic Zoology** **27**:449-462.
- PERACCHI, A. L.; LIMA, I. P.; REIS, N. R.; NOGUEIRA, M. R.; ORTÊNCIO-FILHO, H. 2011a. Ordem Chiroptera. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. **Mamíferos do Brasil**. Londrina, 2º ed., p. 155-234.
- PERACCHI, A. L.; NOGUEIRA, M. R. & LIMA, I. P. 2011b. Novos achegos à lista dos quirópteros do município de Linhares, estado do Espírito Santo, sudeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Chiroptera Neotropical** **17**(1):842-852.
- PORTER, C. A.; HOOFFER, S. R.; VAN DEN BUSSCHE, R. A.; LEE-JR, T. E. & BAKER, R. J. 2003. Systematics of round-eared bats (*Tonatia* and *Lophostoma*) based on nuclear and mitochondrial DNA sequences. **Journal of mammalogy** **84**(3):791-808.
- PRESLEY, S. J.; WILLIG, M. R.; WUNDERLE-JR, J. M. & SALDANHA, L. N. 2008. Effects of reduced-impact logging and forest physiognomy on bat populations of lowland Amazonian forest. **Journal of Applied Ecology** **45**:14-25.
- REIS, N. R.; FREGONEZI, M. N.; PERACCHI, A. L. & SHIBATTA, O. A. 2013. **Morcegos do Brasil – Guia de Campo**. Technical Books, p. 252.
- SAAVEDRA-RODRÍGUEZ, C. A. & ROJAS-DÍAZ, V. 2011 Chiroptera, mid-Calima River Basin, Pacific Slope of the Western Andes, Valle del Cauca, Colombia. **CheckList** **7**(2):166-172.
- SANGER, F., NICKLEN, S., & COULSON, A. R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **74**(12):5463-5467.
- SANTOS, F. G. A.; CALOURO, A. M.; SOUZA, S. F.; LAGUE, B. M.; MARCIENTE, R.; FAUSTINO, C. L.; SANTOS, G. J. L. & CUNHA, A. O. 2012. Ectoparasitismo em uma assembléia de morcegos em um fragmento florestal no estado do Acre, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica** **6**(3):211-218.
- SANTOS, N. & SOUZA, M. J. 1998. Use of fluorochromes chromomycin A3 and DAPI to study constitutive heterochromatin and NORs in four species of bats (Phyllostomidae). **Caryologia** **51**(3-4):265-278.
- SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. 2001. Comparative karyology of Brazilian vampire bats *Desmodus rotundus* and *Diphylla ecaudata* (Phyllostomidae, Chiroptera): banding patterns, base-specific fluorochromes and FISH of ribosomal genes. **Hereditas** **134**:189-194.
- SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. 2002. Localization of rRNA genes in Phyllostomidae bats reveals silent NORs in *Artibeus cinereus*. **Hereditas** **136**: 137-143.

- SCHWEIZER, D. 1980. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenetics and Cell Genetics** **27**:190-193.
- SILVA, A. M.; MARQUES-AGUIAR, S. A.; BARROS, R. M. S.; NAGAMACHI, C. Y. & PIECZARKA, J. C. 2005. Comparative cytogenetic analysis in the species *Uroderma magnirostrum* and *U. bilobatum* (cytotype 2n = 42) (Phyllostomidae, Stenodermatinae) in the Brazilian Amazon. **Genetics and Molecular Biology** **28**(2):248-253.
- SIMMONS, N. B. 2005. Order Chiroptera. In: Wilson, D. E. & Reeder, D. M. eds. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 3 ed., p. 312-529.
- SMITH, P. 2009. Spix's round-eared bat: *Tonatia bidens* (Spix, 1823). **FAUNA Paraguay handbook of the mammals of Paraguay, 38**. Disponível em: <[www.faanaparaguay.com/tonatiabidens.html](http://www.faanaparaguay.com/tonatiabidens.html)>. Acesso em: 15 mai. 2014.
- SOUSA, R. F. 2011. Biologia, ecologia e aspectos citogenéticos de morcegos (Chiroptera, Mammalia) em remanescentes florestais de Cerrado no Leste Matogrossense. **Dissertação de Mestrado** - Universidade do Estado de Mato Grosso.
- SUMNER, A. T. 1973. A simple technique for demonstrating centromérica heterochromatin. **Experimental Cell Research** **75**:304-306.
- TAMURA K.; STECHER G.; PETERSON D.; FILIPSKI A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis versão 6.0. **Biologia Molecular e Evolução** **30**:2725-2729.
- TAVARES, V. C., GREGORIN, R. & PERACCHI, A. L. 2008. Diversidade de morcegos no Brasil: lista atualizada com comentários sobre distribuição e taxonomia. In: PACHECO, S. M.; MARQUES, R. V. & ESBÉRARD, C. E. L. orgs. **Morcegos no Brasil: biologia, sistemática, ecologia e conservação**. Armazém Digital, Porto Alegre, p. 25-58.
- TOLEDO, L. A. 1973. Estudos citogenéticos em morcegos brasileiros (Mammalia: Chiroptera). **Tese de Doutorado** – USP, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.
- VARELLA-GARCIA, M.; MORIELLE-VERSUTE, E. & TADDEI, V. A. 1989. A survey of cytogenetic data on Brazilian bats. **Revista Brasileira Genética** **12**(4):761-793.
- VARELLA-GARCIA, M. & TADDEI, V. A. 1989. Citogenética de quirópteros: métodos e aplicações. **Revista Brasileira de Zoologia** **6**(2):297-323.
- VIZOTTO, L. D. & TADDEI, V. A. 1973. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. **Boletim de Ciências** **1**:1-72.
- WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R. & HEBERT, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science** **360**(1462):1847-1857.
- WILLIAMS, S. L. & GENOWAYS, H. H. 2007. Subfamily Phyllostominae Gray, 1825. **Mammals of South America** **1**:255-300.
- WILLIAMS, S. L.; WILLIG, M. R. & REID, F. A. 1995. Review of the *Tonatia bidens* complex (Mammalia: Chiroptera), with descriptions of two new subspecies. **Journal of Mammalogy**, **76**(2):612-626.

---

## Capítulo II

---

**Caracteres morfológicos, citogenéticos e moleculares de *Dermanura gnoma* Handley,  
1987 (Chiroptera, Phyllostomidae).**

Jaqueline Ribeiro Tavares<sup>1</sup>; Tatiane Pires de Sousa<sup>1</sup>; Paulo Cesar Venere<sup>1,2</sup> & Karina de  
Cassia Faria<sup>1,3</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade do Estado de Mato Grosso, UNEMAT – *Campus* de Nova Xavantina.
2. Instituto de Biociências – Departamento de Biologia e Zoologia, Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT – *Campus* de Cuiabá.
3. Faculdade de Ciências Agrárias, biológicas e Sociais Aplicadas, Universidade do Estado de Mato Grosso, UNEMAT – *Campus* de Nova Xavantina, Caixa Postal 08, 78690-000, Nova Xavantina, MT, Brasil. (karinafaria@unemat.br)

---

## Resumo

---

O gênero *Dermanura* é representado pelos pequenos morcegos frugívoros da subfamília Stenodermatinae e inclui quatro espécies com ocorrência no Brasil. *Dermanura gnoma* Handley (1987) é amplamente distribuído nas regiões brasileiras exceto a região Sul, mas dados cariotípicos ainda não foram relatados. Esta espécie é caracterizada pela presença do terceiro molar inferior e pelo padrão de coloração amarelada da orelha, base da folha nasal e trago. Dois espécimes de *D. gnoma* capturados no município de Nova Xavantina – MT, no Parque do Bacaba foram analisados citogeneticamente e medidas morfológicas e cranianas foram obtidas de 12 espécimes capturados no Cerrado matogrossense de Nova Xavantina. Além das medidas morfológicas, foram realizadas análises citogenéticas por meio da coloração convencional com *Giemsa*, bandamento C e CMA<sub>3</sub> e análises moleculares por meio do marcador citocromo c oxidase subunidade I (COI). As análises cromossômicas revelaram que *Dermanura gnoma* apresenta número diplóide igual a 30 ( $2n = 30$ ) e número fundamental igual a 56 (NF = 56). As análises por meio do marcador COI confirmaram a identificação correta das espécies aqui analisadas, formando dois clados distintos entre *D. gnoma* e *D. cinerea* com um índice de dissimilaridade alto entre elas (6,9%), confirmando a distância genética existente entre elas.

**Palavras-chave:** Morfometria, bandamentos cromossômicos, cariótipo, COI.

---

## Abstract

---

The *Dermanura* genus is represented by small frugivore bats from the Stenodermatinae subfamily, and includes four species which occur in Brazil. *Dermanura gnoma* Handley (1987) is widely distributed in all Brazilian regions, except for the Southern region, but karyotypic data have not been reported. This species is characterized by the presence of the third mandibular molar and by the yellow coloration of the ear, tragus and noseleaf basis. Two specimens of *D. gnoma* captured in the municipality of Nova Xavantina – MT, in the Bacaba Park, were cytogenetically analyzed, and morphological and cranial measures were taken from 12 specimens captured in the Nova Xavantina Cerrado. Besides taking the morphological measures, we conducted cytogenetic analyses using conventional coloration with Giemsa, C banding and CMA3, and performed molecular analyses using the cytochrome c oxidase I marker (COI). Chromosomic analyses revealed that *Dermanura gnoma* presents a diploid number of 30 ( $2n = 30$ ) and fundamental number of 56 (NF = 56). The COI marker analyses confirmed the correct identification of the studied species, and formed two clades distinguishing *D. gnoma* and *D. cinerea* with a high dissimilarity index between species (6.9%), which confirms the genetic distance between them.

**Keywords:** Morphometry, chromosome banding, karyotype, COI.

---

## Introdução

---

Os morcegos, constituintes da ordem Chiroptera, compõem o segundo mais numeroso grupo de mamíferos da Região Neotropical (AGUIAR & ZORTÉA, 2008). Estes animais, estando distribuídos em 18 famílias, 202 gêneros e 1120 espécies (SIMMONS, 2005), contribuem com o aumento da riqueza e diversidade da mastofauna de vários ecossistemas (CRUZ *et al.*, 2007).

A família Phyllostomidae é considerada a maior família brasileira e a mais diversificada dos morcegos neotropicais, abrangendo sete subfamílias, com cerca de 160 espécies reconhecidas em 57 gêneros (SIMMONS, 2005; GARDNER, 2008; PERACCHI *et al.*, 2011). Os morcegos filostomídeos apresentam uma diversidade de especializações alimentares ainda não encontrada entre os demais mamíferos, podendo ser frugívoros, carnívoros, insetívoros, nectarívoros, onívoros, hematófagos, piscívoros ou polinívoros (GIANNINI & KALKO, 2004; PASSOS & GRACIOLLI, 2004).

Stenodermatinae é a subfamília mais numerosa para Phyllostomidae, com 67 espécies descritas. Estes morcegos são essencialmente frugívoros e apresentam focinho curto e listras claras faciais na maioria dos gêneros (SIMMONS, 2005; ZORTÉA, 2007; PERACCHI *et al.*, 2011), com espécies variando muito em relação ao peso (10 a 70 g) e tamanho do antebraço (35 a 75 mm) (REDONDO, 2007). Alguns gêneros desta subfamília apresentam complexidade quanto ao seu relacionamento filogenético, como é o caso de *Artibeus* Leach, 1821 em que vários questionamentos têm sido levantados (VAN DEN BUSSCHE *et al.*, 1993; MARCHESIN, 2006; HOOFFER *et al.*, 2008). OWEN (1991) dividiu este gênero em três táxons com base em caracteres morfológicos *Artibeus* (espécies de grande porte), *Dermanura* (espécies pequenas) e *Koopmania* (para *Artibeus concolor*). No entanto, VAN DEN BUSSCHE *et al.* (1998) através de análises do gene mitocondrial citocromo-b e sequências de DNA satélite verificaram que o

gênero *Koopmania* apresentava um suporte filogenético inconsistente, e sugeriu *Artibeus* e *Dermanura* como grupos irmãos.

*Artibeus* e *Dermanura* são diferenciados também quanto à fórmula dentária: 30-32 em *Artibeus* e 28-30 em *Dermanura* (HANDLEY-JR., 1987; MARQUES-AGUIAR, 1994), dados cariotípicos:  $2n = 30/31$  em *Artibeus* e  $2n = 30$  em *Dermanura* (BAKER, 1973; BAKER *et al.*, 1979; BAKER *et al.*, 1981; SANTOS *et al.*, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2003) e, dados de sítios de restrição (VAN DEN BUSSCHE, 1993).

O gênero *Dermanura* Gervais, 1856 inclui alguns dos morcegos frugívoros mais comuns da região Neotropical (SOLARI *et al.*, 2009). Segundo PERACCHI *et al.* (2011), quatro espécies do gênero *Dermanura* ocorrem no Brasil, *D. anderseni* (Osgood, 1916), *D. bogotensis* (K. Andersen, 1906), *D. cinerea* (Gervais, 1856) e *D. gnoma* (Handley, 1987). *Dermanura gnoma* apresenta como localidade tipo El Manaco, 59 km sudeste de El Dorado, Bolívar, Venezuela, sendo coletado principalmente em florestas úmidas ou Cerrado (HANDLEY-JR., 1987). No Brasil há registros desta espécie para todas as regiões exceto a região Sul, ocorrendo em ambientes florestais e também no Cerrado (GONÇALVES & GREGORIN, 2004; PERACCHI *et al.*, 2011). É a menor espécie do gênero, diferindo das demais espécies pela presença do terceiro molar inferior, pelagem dorsal castanho-clara com ventre mais claro e coloração amarelada das orelhas, trago e base da folha nasal (CAPUSSO, 2007). Embora haja registros desta espécie em várias regiões, análises citogenéticas ainda não foram realizadas (MARQUES-AGUIAR, 2007).

A identificação dessas espécies em campo pode ser dificultada devido à sobreposição de algumas medidas morfológicas externas utilizadas, por exemplo, tamanho do antebraço, ocasionando erros taxonômicos e falta de credibilidade quanto à distribuição das espécies (MARQUES-AGUIAR, 1994), já que a morfologia tem sido considerada a base predominante para caracterizar e reconhecer as espécies dentro de *Dermanura* (SOLARI *et al.*, 2009).

Com o intuito de auxiliar na identificação precisa das espécies, muitas vezes limitada a utilização apenas de dados morfológicos e morfométricos, diversas abordagens integrando dados citogenéticos, morfológicos e moleculares estão sendo utilizadas, tornando as informações obtidas mais robustas (FARIA, 2003; MORATELLI & MORIELLE-VERSUTE, 2007).

Por meio das técnicas de citogenética de mamíferos e outros vertebrados é possível realizar a identificação precisa de cada cromossomo e a detecção de regiões específicas como de heterocromatina constitutiva (YONENAGA-YASSUDA, 2004). Estudos cromossômicos realizados em espécies do gênero *Artibeus* demonstraram uma constituição cariotípica  $2n = 30(F) / 31(M)$  e  $NF = 56$ , com blocos de heterocromatina constitutiva sendo visualizadas nas regiões pericentroméricas de todos os autossomos e na região terminal de alguns pares de cromossomos (PINTO *et al.*, 2012). Estudos cromossômicos para o gênero *Dermanura* revelou um conjunto cromossômico com número diplóide 30 ( $2n = 30$ ) e número de braços autossômicos 56 ( $NF = 56$ ) (SANTOS & SOUZA, 1998; NORONHA, 2010) sendo evidenciada uma NOR múltipla em *D. cinerea* (pares 10 e 13) (SANTOS *et al.*, 2002).

A utilização de fluorocromos GC-específico ( $CMA_3$ ) produz padrões de bandas R, que marcam nos cromossomos regiões ricas em citosina e guanina (SUMNER, 1990), possibilitando compreender as relações cromossômicas que se estabeleceram em cada cariótipo e diferenciar os segmentos heterocromáticos aparentemente homogêneos por *Giemsa* e banda-C (GUERRA, 1988; SANTOS & SOUZA, 1998; KASAHARA, 2009). Estudos cromossômicos utilizando fluorocromos base-específico em morcegos ainda são poucos (SANTOS & SOUZA, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; LEITE-SILVA *et al.*, 2003; BARROS *et al.*, 2009; SOUSA, 2011; GOMES *et al.*, 2012).

Um método desenvolvido para auxiliar na identificação das espécies e utilizado em complemento aos aspectos morfológicos e citogenéticos para diferentes grupos de organismos é a caracterização molecular. Segundo ORTIZ (2010), métodos rápidos e padronizados se

fazem necessários devido à grande biodiversidade e eminente perigo de perda da fauna silvestre. Nesse sentido, HEBERT *et al.* (2003) propôs um sistema universal de identificação por código de barras utilizando segmentos do DNA mitocondrial (DNAmt), o DNA barcode. Nessa abordagem, uma sequência parcial do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) pode servir como um código de barras de DNA para a identificação de espécies animais, integrando dados ecológicos, genéticos e morfológicos das espécies e fornecendo análises robustas para os dados obtidos (HEBERT *et al.*, 2003; MILLER, 2007).

Estudos com COI em morcegos ainda são recentes (CLARE *et al.*, 2007; NESI *et al.*, 2011). CLARE *et al.* (2011) analisando 163 espécies de morcegos, incluindo representantes de todas as nove famílias da América Central e América do Sul, verificaram por meio de sequências COI que *Artibeus lituratus* e *A. intermedius* apresentam níveis de variação intraespecífica alta (0,69% e 0,79%, respectivamente), embora formem um único cluster monofilético, com muitos haplótipos comuns.

Devido às dificuldades para a identificação das espécies do gênero *Dermanura*, devido à sobreposição das medidas morfológicas externas, este trabalho objetivou analisar a morfologia externa e craniana da espécie *Dermanura gnoma*, bem como identificar a morfologia cromossômica dessa espécie, contribuindo com o conhecimento citogenético e molecular através da utilização do gene mitocondrial COI para *Dermanura gnoma* ocorrentes no Cerrado.

---

## Material e Métodos

---

### 1. Capturas e espécies

Para a obtenção dos dados de morfometria e citogenética foram utilizados espécimes de *D. gnoma* coletados entre setembro de 2011 e junho de 2013. Os exemplares foram capturados nos municípios de Nova Xavantina (14°42'28,8"S, 52°21'03,9"W), Barra do Garças (15°45'-15°53'S e 52°07'-52°17'W) e Nova Nazaré (13°39'02" S, 051°29'57" O). Após serem sacrificados para a extração do crânio e obtenção de material genético, os espécimes foram depositados como material testemunho na coleção científica do Laboratório de Genética da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* de Nova Xavantina (Apêndice 2).

A captura dos morcegos foi realizada com a utilização de redes de neblina de 9 m x 3 m. Os morcegos capturados foram acondicionados em sacos de pano individuais para identificação e tomada de medidas morfológicas (peso e comprimento do antebraço), sexo e condição reprodutiva também foram verificados. A identificação dos espécimes foi realizada através de bibliografias especializadas (VIZOTTO & TADDEI, 1973; GARDNER, 2007; REIS *et al.*, 2013).

Dois exemplares de *D. gnoma* (RM 296 e RM 340) utilizados para obtenção de material citogenético foram coletados em uma área de cerrado sentido restrito no Parque Municipal do Bacaba (14°42'28,8" S, 52°21'03,9" W), em Nova Xavantina, Mato Grosso, na mesorregião nordeste mato-grossense e transição entre o bioma Cerrado e a Floresta Amazônica (MARIMON *et al.*, 2006). O Parque apresenta uma área de aproximadamente 500 ha, sendo a fitofisionomia dominante o cerrado *stricto sensu*, possuindo também em sua composição pequenos fragmentos naturais de cerradão e mata de galeria (MARIMON *et al.*, 2001; MARIMON-JUNIOR & HARIDASAN, 2005; ABAD & MARIMON, 2008). A região apresenta

relevo plano a suave-ondulado, com altitudes entre 250 a 300 m (MARIMON *et al.*, 1998; ABAD & MARIMON, 2008). O clima é do tipo Aw, de acordo com a classificação de Köppen, com temperaturas médias mensais mínimas e máximas de 10 °C e 37,4 °C, respectivamente e precipitação em torno de 1.520 mm (MARIMON, 2005; ABAD & MARIMON, 2008; MARIMON *et al.*, 2010).

## **2. Medidas morfológicas externas e cranianas**

Para a análise morfológica externa e craniana, foram medidos 12 indivíduos da espécie *D. gnoma* conservados em álcool 70% (Apêndice 3). Os crânios foram extraídos pela abertura bucal através do rebatimento da pele e limpos com pinça e estilete. Todos os crânios foram clareados com uma solução contendo 20 ml de água oxigenada a 10 volumes, 20 ml de água oxigenada a 30 volumes e cinco gramas de bicarbonato de sódio, sob lâmpada incandescente por duas horas. Por fim, os crânios foram deixados em local ventilado para secagem completa, numerados e acondicionados em local apropriado.

Os indivíduos analisados eram todos adultos, condição comprovada através da verificação do nível de ossificação das metáfises dos antebraços, pelo desgaste dentário ou pela condição reprodutiva. Para cada indivíduo foram realizadas cinco medidas morfológicas externas e 17 medidas crânio-dentárias, com paquímetro manual Digimess resolução de 0,05 mm, de acordo com VIZOTTO & TADDEI (1973). Após realizar as medidas, foi feito o cálculo da média e do desvio padrão, com o intuito de mostrar as diferenças entre as medidas corporais e cranianas da espécie.

As medidas morfológicas externas realizadas foram: comprimento do antebraço, comprimento total do corpo, comprimento da orelha, comprimento do pé e comprimento do calcâneo. As medidas cranianas realizadas foram: comprimento total do crânio (Ct); comprimento côndilo-basal (Cb); comprimento côndilo-canino (Cc); comprimento basal (B);

comprimento palatal (Cpt); comprimento da mandíbula (Cm); comprimento da série de dentes superiores (C-M<sup>2</sup><sub>3S</sub>); comprimento da série de dentes inferiores (C-M<sup>2</sup><sub>3r</sub>); largura externa dos cingula-caninos (Lc); largura externa dos molares superiores (Lm); largura pós-orbital (Lp); largura zigomática (Lz); largura da caixa craniana (Lcx); largura mastóidea (Lmt); largura interorbital (Li); largura palatal (Lpt) e altura do occipital (Ao) (Anexo 2).

### **3. Preparações cromossômicas**

O material citogenético foi obtido a partir da extração direta da medula óssea, de acordo com MORIELLE-VERSUTE *et al.* (1996), com modificações. O procedimento envolve injeção subcutânea da solução de fermento glicosado, injeção intraperitoneal de colchicina a 0,5%, extração com solução salina de Hanks, hipotonização das células com KCl 0,075M e fixação com metanol-ácido acético 3:1 (Anexo 3).

### **4. Bandamentos cromossômicos**

A morfologia cromossômica foi visualizada com coloração convencional com *Giemsa* (GUERRA, 1988). O bandamento C, para evidenciação de blocos de heterocromatina constitutiva seguiu o procedimento descrito em SUMNER (1973), com modificações. Para a evidenciação de regiões ricas em C e G foi realizada a coloração com o fluorocromo base-específico CMA<sub>3</sub>, seguindo SCHWEIZER (1980), com adaptações (Anexo 4).

### **5. Documentação e nomenclatura cromossômica**

A documentação cromossômica foi realizada em microscópio Olympus BX51 e os cariótipos foram montados, com o auxílio do programa Adobe Photoshop 7.0. Os cromossomos foram analisados, medidos e classificados considerando a posição do

centrômero em quatro classes distintas: metacêntrico, submetacêntrico, subtelocêntrico e acrocêntrico (Apêndice 1), seguindo a classificação de LEVAN *et al.* (1964) (Anexo 5).

## **6. Extração e amplificação de DNA**

O DNA genômico foi obtido a partir de pequenos fragmentos de tecido usando o protocolo ALJANABI & MARTINEZ (1997) (Anexo 6). As regiões para o gene COI foram amplificadas por reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando os primers FishF2 5'TCG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC3' e FishR2 5'ACT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA3' (WARD *et al.*, 2005). O PCR continha 9,08 µl de água miliQ autoclavada; 1,25 µl de tampão enzimático 10 x; 0,325 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 0,25 µl de cada primer; 0,20 µl de dNTPs (0,05 mM); 0,10 µl de Taq polimerase (5 U/ µl) e 1,0 µl de DNA genômico. O regime térmico foi realizado no termociclador Ependorff, com temperatura de desnaturação de 94 °C por 5 min, seguidos por 30 ciclos de 94 °C por 45 s, 50 °C por 1 min, 72 °C por 1 min e 72 °C por 5 min para extensão final. Os produtos de PCR foram aplicados em gel de agarose 1,5% solubilizado em tampão TBE 0,5X e visualizados em luz ultravioleta. O produto de PCR do gene COI foi sequenciado seguindo a técnica de SANGER *et al.* (1977) e será disponibilizado para futuras comparações através do National Center for Biotechnology Information (Genbank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

## **7. Análise dos dados moleculares**

Os dados moleculares de DNA barcode se baseou na sequência parcial de 670pb do gene COI. As sequências foram alinhadas através da ferramenta Clustal W e editadas usando o software Bioedit (HALL, 1999) para analisar a qualidade do sequenciamento do DNA mitocondrial. No programa Mega 6.0 (TAMURA *et al.*, 2013), as sequências do gene COI foram analisadas utilizando o método Neighbour-joining (NJ), pelo modelo K2P com suporte

de 1000 replicações de bootstrap para verificar as relações entre as espécies. A distância genética entre as amostras também foram calculadas usando o modelo K2P, obtendo a distância média intraespecífica e interespecífica entre os clados obtidos. As amostras obtidas foram comparadas com sequências de espécimes do Cerrado *Dermanura cinerea* (RM 171 e RM 216). *Artibeus planirostris* (RM 188 e RM 189) e *Artibeus lituratus* (RM 118), este material testemunho encontra-se tombado na coleção científica do Laboratório de Genética da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* de Nova Xavantina.

---

## Resultados

---

### 1. Análises morfológicas externas e cranianas

As medidas externas e cranianas de *Dermanura gnoma* (Tabela 1) revelaram que os espécimes apresentam medidas padrões para esta espécie, de acordo com o proposto na literatura.

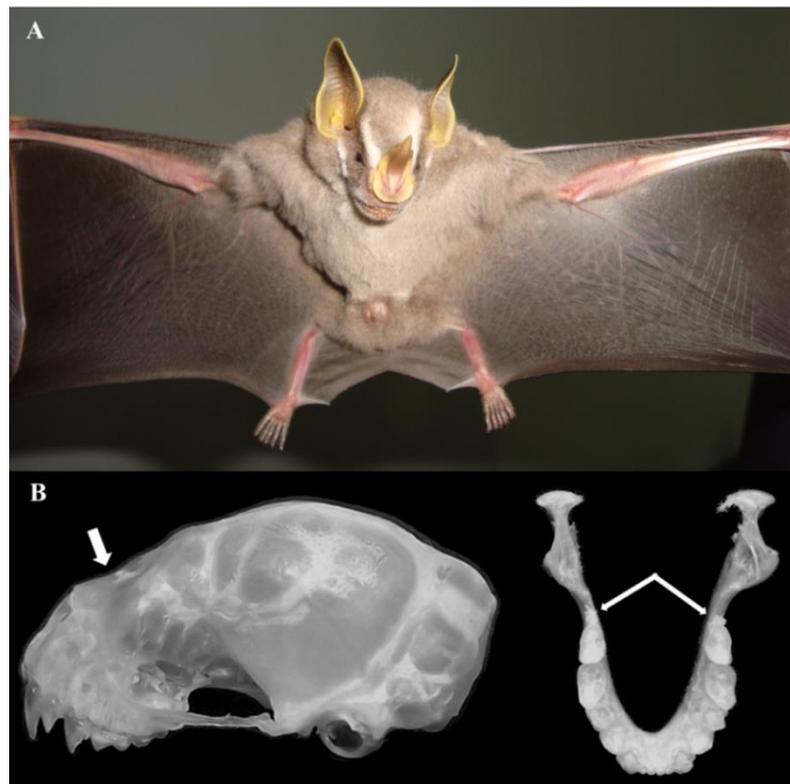
**Tabela 1.** Média  $\pm$  desvio padrão das medidas morfológicas externas e das medidas cranianas obtidas dos espécimes de *Dermanura gnoma* (sem a separação por sexo), com valores mínimos e máximos obtidos de cada medida. Valores das medidas são dados em mm.

Medidas	<i>Dermanura gnoma</i>			
	Média	Valor Mínimo	Valor Máximo	$\pm$ Desvio padrão
<b>Medidas Morfológicas externas</b>				
Comprimento do Antebraço	38,76	35,9	40,3	1,427
Comprimento total do corpo	46,64	38,2	50,8	4,417
Comprimento da orelha	13,34	11,8	15,1	1,201
Comprimento do pé	4,64	4,0	5,1	0,388
Comprimento do calcâneo	4,87	4,3	6,1	0,634
<b>Medidas cranianas</b>				
Comprimento total do crânio	18,97	18,1	19,8	0,584
Comprimento côndilo-basal	17,37	16,6	19,1	0,902
Comprimento côndilo-canino	16,68	15,0	18,8	1,065
Comprimento basal	14,52	14,0	14,8	0,298
Comprimento palatal	7,97	7,1	8,7	0,473
Comprimento mandíbula	11,63	11,3	12,0	0,252
Comprimento da série de dentes superiores	5,93	5,8	6,2	0,163
Comprimento da série de dentes inferiores	6,133	5,8	6,6	0,238
Largura externa dos cingula-caninos	5,1	5,0	5,3	0,116
Largura externa dos molares superiores	7,65	7,4	8,0	0,195
Largura pós-orbital	7,56	7,2	8,0	0,315
Largura zigomática	10,65	9,9	11,5	0,582

Continuação Tabela 1

Largura da caixa craniana	8,67	8,1	9,5	0,437
Largura mastóidea	9,83	9,4	10,7	0,396
Largura interorbital	5,63	5,1	6,2	0,337
Largura palatal	4,33	3,8	4,9	0,367
Altura do occipital	6,03	5,5	6,3	0,252

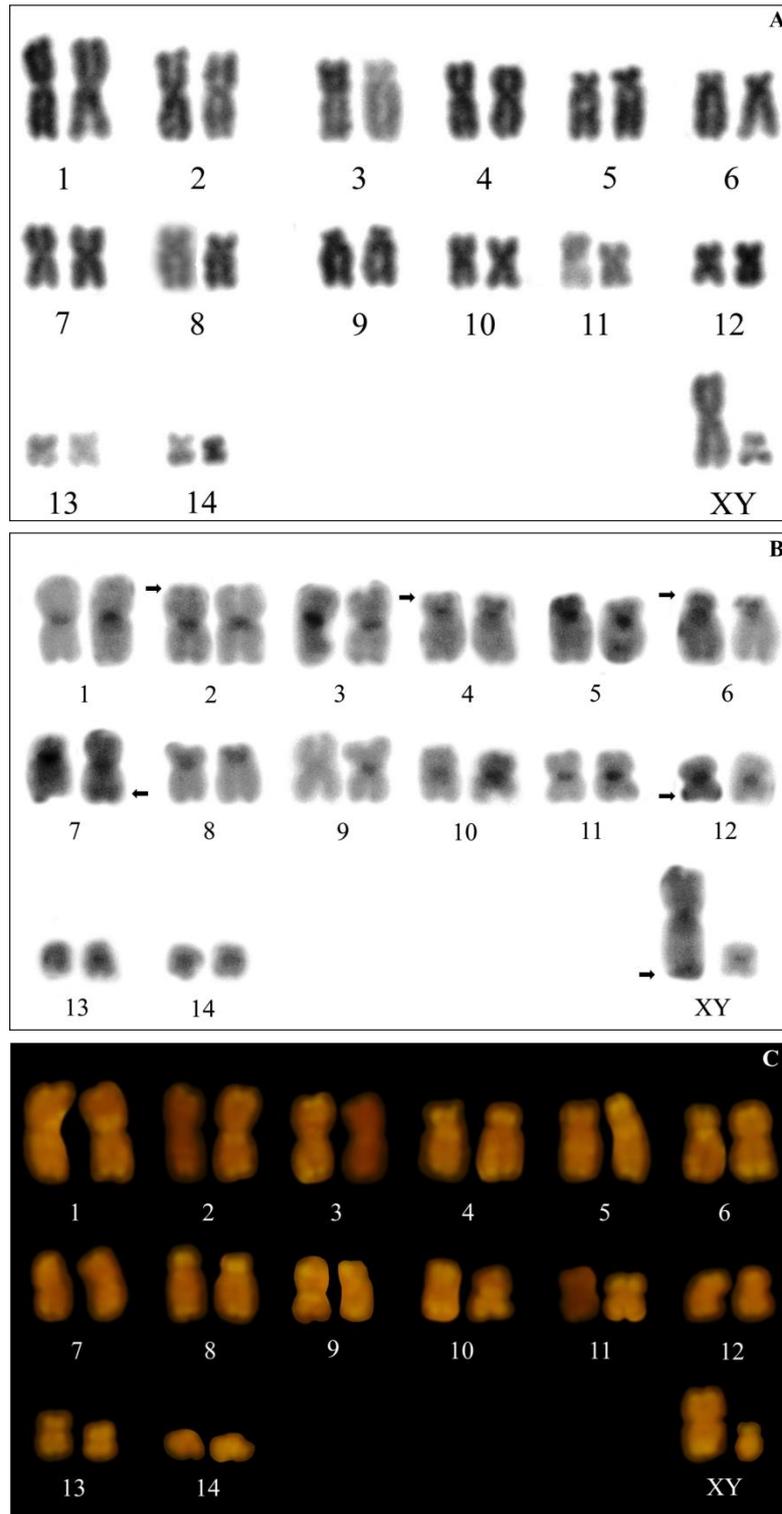
Os espécimes de *Dermanura gnoma* foram identificados pela combinação exclusiva dos seguintes caracteres: tamanho pequeno, coloração da pelagem dorsal castanho-claro e ventral levemente mais clara, bordas das orelhas, trago e base da folha nasal amarela, listras faciais evidentes e presença de um terceiro molar inferior extremamente reduzido (Figura 1).



**Figura 6.** A) *Dermanura gnoma* (RM 296). B) À esquerda crânio do espécime RM 333 (seta indica concavidade acentuada na região supra-orbital); à direita mandíbula do espécime (setas indicam a presença do 3º molar inferior extremamente reduzido).

## 2. Análises citogenéticas

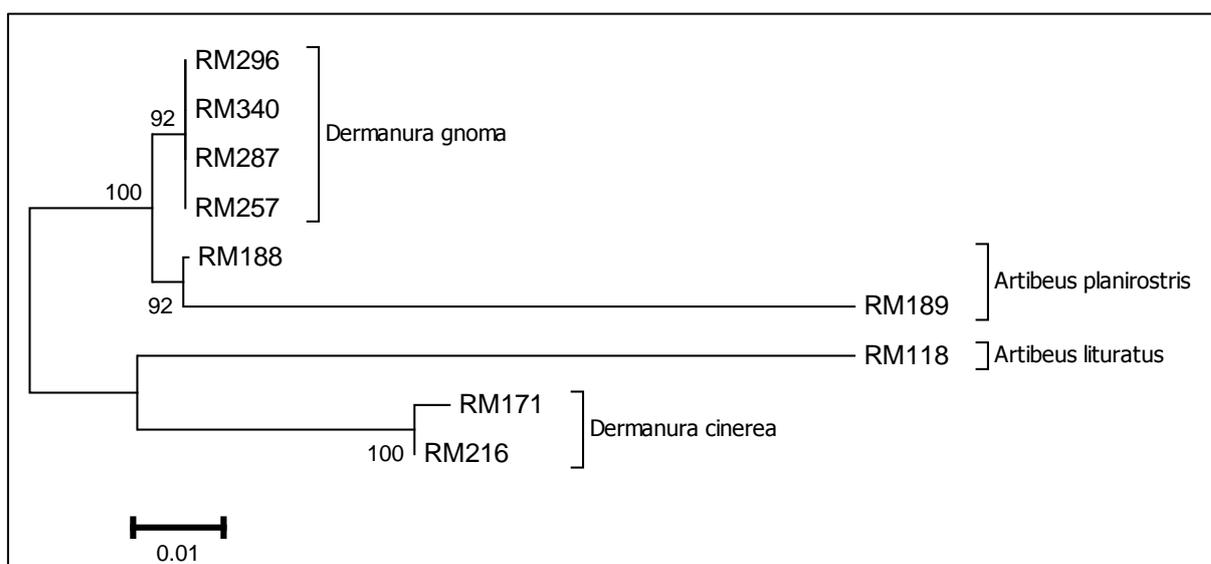
*Dermanura gnoma* apresentou  $2n = 30$  e  $NF = 56$ . O seu conjunto de autossomos apresenta oito pares de cromossomos metacêntricos (1, 2, 3, 7, 10, 12, 13 e 14), três pares de cromossomos submetacêntricos (4, 8 e 11) e três pares de cromossomos subtelocêntricos (5, 6 e 9). O cromossomo X é um metacêntrico grande e o cromossomo Y é um subtelocêntrico pequeno. O bandamento C identificou as regiões de heterocromatina constitutiva nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos e pequenos blocos de heterocromatina foram observados na região telomérica nos braços curtos dos pares cromossômicos 2, 4 e 6 e nos braços longos dos pares cromossômicos 7, 11 e no cromossomo sexual X. A coloração com fluorocromo base-específico CMA<sub>3</sub> identificou as bandas transversais correspondentes às regiões ricas em CG<sup>+</sup> em todos os pares de cromossomos (Figura 2).



**Figura 7.** Cariótipo de *Dermanura gnoma*. a) Coloração convencional com *Giemsa*; b) Bandamento C (setas indicam blocos adicionais de heterocromatina constitutiva nas regiões terminais dos cromossomos); c) Coloração com cromomicina CMA<sub>3</sub>. (♂, 2n = 30 e NF = 56).

### 3. Análises moleculares

Os dados moleculares de DNA barcode obtido das sequências mitocondriais do gene COI para *D. gnoma* foram comparados com espécimes do Cerrado de *D. cinerea*, *A. planirostris* e *A. lituratus*, formando quatro grupos distintos como visualizados no dendograma de NJ (Figura 3). As distâncias genéticas interespecíficas baseadas na distância K2P mostrou uma alta dissimilaridade entre as espécies analisadas (Tabela 2).



**Figura 8.** Dendrograma do vizinho mais próximo (NJ) baseado na distância K2P, com espécimes do Cerrado *D. gnoma*, *D. cinerea*, *A. planirostris* e *A. lituratus*, mostrando a separação dos clados entre as espécies analisadas.

**Tabela 2.** Similaridades interespecíficas baseada na distância K2P, para verificar a distância genética entre as espécies analisadas (%).

	<i>Dermanura gnoma</i>	<i>Dermanura cinerea</i>	<i>Artibeus planirostris</i>	<i>Artibeus lituratus</i>
<i>Dermanura gnoma</i>	—			
<i>Dermanura cinerea</i>	6,1	—		
<i>Artibeus planirostris</i>	4,4	10,1	—	
<i>Artibeus lituratus</i>	10,9	11,2	14,3	—

---

## Discussão

---

As medidas morfológicas obtidas neste trabalho estão de acordo com o apresentado na literatura para *D. gnoma* e nossos resultados concordam com as medidas obtidas por HANDLEY-JR., (1987) ao descrever esta espécie, exceto no comprimento da orelha, menor em nosso trabalho (13,34 vs. 16,9). O valor do desvio padrão para esta medida também foi alto (1,20 vs. 0,62), o que pode ser explicado pela tomada desta medida morfológica ter sido realizada após a extração do crânio.

CAPUSSO (2007) ao comparar medidas morfológicas e cranianas de espécimes do gênero *Dermanura* também encontrou os mesmos valores para *D. gnoma*. Segundo este autor quatro medidas cranianas são significativas para diferenciar *D. gnoma* de *D. cinerea* (comprimento da mandíbula, largura externa dos cingula-caninos, largura externa dos molares superiores e largura mastóidea), sendo os valores encontrados para *D. cinerea* maiores que os valores obtidos para *D. gnoma*. Essas quatro medidas foram comparadas com dados de *D. cinerea* disponibilizado na literatura (CAPUSSO, 2007; FIALHO, 2009; SCULTORI *et al.*, 2009), e esse mesmo padrão também foi encontrado (Tabela 3).

**Tabela 3.** Comparação das quatro medidas cranianas usualmente utilizadas para distinguir a espécie *Dermanura gnoma* de *Dermanura cinerea* (medidas obtidas da literatura).

Medidas Cranianas	<i>D. gnoma</i>		<i>D. cinerea</i>	
	Neste trabalho	CAPUSSO (2007)	FIALHO (2009)	SCULTORI (2009)
Comprimento da mandíbula	11,63	12,21	12,18	13,13
Largura externa dos cingula-caninos	5,1	5,55	5,03	5,82
Largura externa dos molares superiores	7,65	8,45	8,2	8,92
Largura mastóidea	9,83	9,93	10,08	10,1

Os espécimes analisados neste trabalho apresentaram caracteres usualmente utilizados na identificação de *D. gnoma*, sendo caracteres de distinção: listras faciais brancas, proeminentes e bem definidas; borda da orelha, trago e folha nasal bem amarela; presença do terceiro molar inferior (Figura 1). GONÇALVES & GREGORIN (2004), também encontraram esse mesmo padrão dos caracteres utilizados para identificação de *D. gnoma*, exceto pelo padrão de listras encontrados por estes autores (listras incipientes). A média das medidas morfológicas e cranianas de *D. gnoma* para o Cerrado está de acordo com o padrão estabelecido para esta espécie (HANDLEY-JR., 1987; GONÇALVES & GREGORIN, 2004; CAPUSSO, 2007).

A análise cromossômica convencional de *Dermanura gnoma* possibilitou identificar sua constituição cariotípica como  $2n = 30$  e  $NF = 56$ , pela primeira vez registrada para esta espécie. Segundo SANTOS *et al.* (2002) *D. cinerea* também apresenta essa mesma constituição cromossômica, mas a morfologia do conjunto autossômico dessas espécies são diferentes. Observamos que os pares cromossômicos de *D. gnoma* se diferem morfológicamente de *D. cinerea*: os pares metacêntricos (7), submetacêntricos (4, 11) e subtelocêntricos (5 e 9) de *D. gnoma* correspondem aos pares cromossômicos metacêntricos (5 e 11), submetacêntricos (3, 7 e 9) e subtelocêntricos (6) de *D. cinerea*, os demais cromossomos destas espécies se assemelham morfológicamente.

A heterocromatina constitutiva foi observada na região pericentromérica de todos os cromossomos de *D. gnoma*, padrão de distribuição semelhante ao encontrado em morcegos da família Phyllostomidae (BAKER *et al.*, 1982; VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989; VARELLA-GARCIA & TADDEI, 1989; SANTOS & SOUZA, 1998; SILVA *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2009; PINTO *et al.*, 2012), e adicionalmente na região telomérica dos pares cromossômicos 2, 4, 6, 7, 11 e X, característica já relatada para morcegos do gênero *Artibeus* e *Uroderma* da subfamília Stenodermatinae, (SANTOS & SOUZA, 1998; SILVA *et al.*, 2005; FIALHO, 2009; PINTO *et al.*,

2012). Através das bandas transversais obtidas nos cromossomos de *D. gnoma* por meio da (CMA<sub>3</sub>) os pares cromossômicos foram individualizados auxiliando na identificação precisa de seus homólogos.

A separação das espécies do gênero *Artibeus* em linhagens distintas foi realizada através de estudos morfológicos, sugerindo uma separação destas espécies em dois gêneros *Artibeus* (espécies maiores) e *Dermanura* (espécies menores) (VAN DEN BUSSCHE, 1993). Em nossos estudos, foi verificada a formação de quatro clados distintos, ocorrendo principalmente à separação entre *Artibeus* e *Dermanura*. REDONDO *et al.* (2008) baseados em análises de sequências do gene mitocondrial COI, Citocromo-b e do gene nuclear RAG2 também evidenciou essa formação de diferentes clados entre *Artibeus* e *Dermanura*. LIM *et al.* (2004) baseado no gene citocromo-b, verificaram que as sequências de espécimes de *A. lituratus*, *A. planirostris*, *D. gnoma* e *D. cinerea* eram divergentes, com os valores estimados pelo método Kimura-2 parâmetros maiores que 5%. Quando observado os valores de dissimilaridade obtidos em nosso trabalho entre *Dermanura gnoma* e as outras espécies analisadas, verificamos que esses valores foram altos (tabela 2). SOLARI *et al.* (2009), analisando espécies de morcegos através do citocromo-b para verificar a diversidade de espécies e as relações interespecíficas do gênero *Dermanura*, também encontrou uma dissimilaridade interespecífica semelhante (> 5%), corroborando com os nossos resultados.

Concluimos que *Dermanura gnoma* apresentou as medidas dentro do padrão das características morfológicas usualmente utilizadas em sua identificação (padrão de coloração e presença do terceiro molar). A constituição cariotípica, evidenciada pela primeira vez, poderá auxiliar em sua identificação, pois embora *D. gnoma* tenha a mesmo número de cromossomos que *D. cinerea* ( $2n = 30$  e  $NF = 56$ ), a morfologia cromossômica dessas espécies são diferentes. Por fim, as análises moleculares utilizadas como um auxílio na

identificação dos espécimes servirá como um complemento à taxonomia, visto que a morfologia até recentemente era a base para a identificação de espécies deste gênero.

---

## Referências Bibliográficas

---

- ABAD, J. C. S. & MARIMON, B. S. 2008. Caracterização e diagnóstico ambiental do Parque Municipal do Bacaba (Nova Xavantina, MT). Pp. 23-56. In: J.E. Santos, & C. Galbiati (orgs.). **Gestão e educação ambiental: água, biodiversidade e cultura**. São Carlos-SP.
- AGUIAR, L. M. S. & ZORTÉA, M. 2008. **A diversidade de morcegos conhecida para o Cerrado**. IX simpósio nacional Cerrado, II simpósio internacional savanas tropicais. Brasília, DF.
- ALJANABI, S. M. & MARTINEZ, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Res.** **25**(22):4692-4693.
- BAKER, R. J.; BASS, R. A. & JOHNSON, A. 1979. Evolutionary implications of chromosomal homology in four genera of Stenodermine bats (Phyllostomidae: Chiroptera). *Evolution* **33**(1):220-226.
- BAKER, R. J.; HAIDUK, M. W.; ROBBINS, L. W.; CADENA, A. & KOOP, B. F. 1982. Estudos cromossômicos de morcegos da América do Sul e suas implicações sistemáticas. **Biologia de Mamíferos na América do Sul** **4**:303-327.
- BARROS, H.M.D.R.; SOTERO-CAIO, C.G.; SANTOS, N. & SOUZA, M.J. 2009. **Comparative cytogenetic analysis between Lonchorhina aurita and Trachops cirrhosus (Chiroptera, Phyllostomidae)**. *Genetics and Molecular Biology*. **32** (4): 748-752.
- CAPUSSO, G. L. 2007. Análise morfométrica comparativa e biogeografia dos pequenos *Artibeus* brasileiros Leach, 1821 (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae). *Dissertação Mestrado – Unesp – Campus de São José do Rio Preto, Pós-graduação em Biologia Animal*, p. 51.
- CLARE, E.; LIM, B. K.; ENGSTROM, M. D. EGER, J. L. & HEBERT, P. D. N. 2007. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. **Molecular Ecology Notes** **7**: 184-190.
- CLARE, E. L.; LIM, B. K.; FENTON, M. B. & HEBERT, P. D. N. 2011. Neotropical Bats: Estimating Species Diversity with DNA Barcodes. **PLoS One** **6**(7):e22648.
- CRUZ, L. D.; MARTÍNEZ, C. & FERNANDES, F. R. 2007. Comunidades de morcegos em habitats de uma Mata Amazônica remanescente na Ilha de São Luís, Maranhão. *Acta Amazônica* **37**(4): 613-620.
- FARIA, K. C. 2003. Análise citogenética comparativa em espécies de morcegos dos gêneros *Molossus* (Molossidae), *Artibeus*, *Platyrrhinus*, *Sturnira*, *Glossophaga*, *Phyllostomus* e *Carollia* (Phyllostomidae) – Chiroptera (Mammalia). **Dissertação de Mestrado**, São José do Rio Preto.
- FIALHO, F. S. F. 2009. Análise morfométrica, morfológica e citogenética de morcegos do gênero *Artibeus* Leach, 1821 (Chiroptera, Phyllostomidae). *Dissertação de Mestrado – UNB*.
- GARDNER, A. L. 2007. **Family Phyllostomidae Gray, 1825**. Gardner, A. L. ed. *Mammals of South America, volume 1: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats*. Vol. 1. University of Chicago Press.
- GIANNINI, N. P. & KALKO, E. K. V. 2004. Trophic structure in a large assemblage of phyllostomid bats in Panama. / **Oikos** **105**: 209-220.
- GOMES, A. J. B.; NAGAMACHI, C. Y.; RODRIGUES, L. R. R.; FARIAS, S. G.; RISSINO, J. D. & PIECZARKA, J. C. 2012. **Karyotypic variation in *Rhinophylla pumilio* Peters, 1865 and comparative analysis with representatives of two subfamilies of Phyllostomidae (Chiroptera)**. *Comparative Cytogenetics*. **6**(2): 213–225.

- GONÇALVES, E. & R. GREGORIN. 2004. Quirópteros da Estação Ecológica Serra das Araras, Mato Grosso, Brasil, com o primeiro registro de *Artibeus gnomus* e *A. anderseni* para o Cerrado. **Lundiana**, Belo Horizonte, **5**: 143-149.
- GUERRA, M. 1988. **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 143p.
- HALL, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*, 41: 95-98.
- HANDLEY-JR, C. O. 1987. New species of mammals from northern South America: fruit-eating bats, genus *Artibeus* Leach. *In*: PATTERSON, B. D. & TIMM, R. M. eds. **Studies in Neotropical Mammalogy: essays in honor of Philip Hershkovitz**. Fieldiana: Zoology 39:1-506.
- HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. B. & DEWAARD, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **270**(1512):313-321.
- KASAHARA, S. 2009. **Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados**. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 160p.
- LEITE-SILVA, C.; SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. 2003. Karyotypic characterization of the bat species *Molossus ater*, *M. molossus* and *Molossops planirostris* (Chiroptera, Molossidae) using FISH and banding techniques. **Hereditas** **138**: 94-100.
- LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas** **52**(2):201-220.
- MARIMON, B. S. 2005. Dinâmica de uma floresta monodominante de *Brosimum rubescens* Taub. e comparação com uma floresta mista em Nova Xavantina-MT. **Tese de Doutorado** – Universidade de Brasília, Brasília. 262 p.
- MARIMON, B. S.; FELFILI, J. M.; LIMA, E. D. S.; Gonçalves, W. M. & Marimon-Júnior, B. H. 2010. Environmental determinants for natural regeneration of gallery forest at the Cerrado / Amazonia boundaries in Brazil. **Acta Amazonica** **40**(1):107-118.
- MARIMON, B. S.; FELFILI, J. M.; LIMA, E. S. & RODRIGUES, A. J. 2001. Distribuições de circunferências e alturas em três porções da mata de galeria do Córrego do Bacaba, Nova Xavantina-MT. **Revista Árvore** **25**: 335-343.
- MARIMON, B. S.; LIMA, E. S.; DUARTE, T. G.; CHIEREGATTO, L. C. & RATTER, J. A. 2006. Observations on the vegetation of northeastern Mato Grosso, Brazil. An analysis of the Cerrado-Amazonian Forest ecotone. **Edinburgh Journal of Botany** **63**(23):323-341.
- MARIMON, B. S.; VARELLA, R. F. & MARIMON-JÚNIOR, B. H. 1998. Fitossociologia de uma área de cerrado de encosta em Nova Xavantina, Mato Grosso. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer** **3**: 82-101.
- MARIMON-JÚNIOR, B. H. & HARIDASAN, M. 2005. Comparação da vegetação arbórea e características edáficas de um cerradão e um cerrado *sensu stricto* em áreas adjacentes sobre solo distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. **Acta Botânica Brasílica** **19**(4):913-926.
- MARQUES-AGUIAR, S. A., 1994 A systematic review of the large species of *Artibeus* Leach, 1821 (Mammalia: Chiroptera), with some phylogenetic inferences. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, ser. Zool.** **10**(1):3-83.
- MARQUES-AGUIAR, S. A. 2007. Genus *Artibeus* Leach, 1821. **Mammals of South America**, v. 1, p. 301-321.
- MILLER, S. E. 2007. DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. **Proceedings of the National Academy of Science** **104**(12):4775-4776.

- MORATELLI, R. & MORIELLE-VERSUTE, E. 2007. Métodos e aplicações da citogenética na taxonomia de morcegos brasileiros. *In*: REIS, N. L.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. **Morcegos do Brasil**. Londrina, p. 197-217.
- MORIELLE-VERSUTE, E.; VARELLA-GARCIA M. & TADDEI V. A. 1996. Karyotypic patterns of seven species of molossid bats (Molossidae, Chiroptera). **Cytogenetics and Cell Genetics** **72**:26-33.
- NESI, N.; NAKOUNE, E.; CRUAUD, C. & HASSANIN, A. 2011. DNA barcoding of African fruit bats (Mammalia, Pteropodidae). The mitochondrial genome does not provide a reliable discrimination between *Epomophorus gambianus* and *Micropteropus pusillus*. **Comptes Rendus Biologies** **334**:544-554.
- NORONHA, R. C. R.; NAGAMACHI, C. Y.; O'BRIEN P. C. M.; FERGUSON-SMITH, M. A. & PIECZARKA, J. C. 2010. Meiotic analysis of XX/XY and neo-XX/XY sex chromosomes in Phyllostomidae by cross-species chromosome painting revealing a common chromosome 15-XY rearrangement in Stenodermatinae. **Chromosome Research** **18**:667-676.
- ORTIZ, M. F. 2010. Validação do *DNA barcoding* como identificador de espécies: um estudo de ampla amostragem com o gênero *Pseudoplatystoma* (Siluriformes; Pimelodidae) na Amazônia. **Dissertação de Mestrado** - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Programa de Pós-graduação em genética, conservação e biologia evolutiva.
- PASSOS, F. C. & GRACIOLLI, G. 2004. Observação da dieta de *Artibeus lituratus* (Olfers) (Chiroptera, Phyllostomidae) em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **21**(3):487-489.
- PERACCHI, A. L.; LIMA, I. P.; REIS, N. R.; NOGUEIRA, M. R.; ORTÊNCIO-FILHO, H. 2011. Ordem Chiroptera. *In*: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A. & LIMA, I. P. eds. **Mamíferos do Brasil**. Londrina, 2º ed., p. 155-234.
- PINTO, M. M. P. L.; CALIXTO, M. S.; SOUZA, M. J.; ARAÚJO, A. P. T.; LANGGUTH, A. & SANTOS, N. 2012. Cytotaxonomy of the subgenus *Artibeus* (Phyllostomidae, Chiroptera) by characterization of species-specific markers. **Comparative Cytogenetics** **6**(1):17-28.
- REIS, N. R.; FREGONEZI, M. N.; PERACCHI, A. L. & SHIBATTA, O. A. 2013. **Morcegos do Brasil – Guia de Campo**. Technical Books, p. 252.
- RODRIGUES, L. R. R.; BARROS, R. M. S.; MARQUES-AGUIAR, S. ASSIS, M. F. L. PIECZARKA, J. C. & NAGAMACHI, C. Y. 2003. Comparative cytogenetics of two phyllostomids bats. A new hypothesis to the origin of the rearranged X chromosome from *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae). *Caryologia* **56**(4):413-419.
- SANGER, F., NICKLEN, S., & COULSON, A. R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **74**(12):5463-5467.
- SANTOS, N. & SOUZA, M.J. 1998. Use of fluorochromes chromomycin A<sub>3</sub> and DAPI to study constitutive heterochromatin and NORs in four species of bats (Phyllostomidae). **Caryologia** **51**(3-4):265-278.
- SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. 2002. Localization of rRNA genes in Phyllostomidae bats reveals silent NORs in *Artibeus cinereus*. **Hereditas** **136**:137-143.
- SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. 2001. Comparative karyology of Brazilian vampire bats *Desmodus rotundus* and *Diphylla ecaudata* (Phyllostomidae, Chiroptera): banding patterns, base-specific fluorochromes and FISH of ribosomal genes. **Hereditas** **134**:189-194.
- SCHWEIZER, D. 1980. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenetics and Cell Genetics** **27**:190-193.

- SCULTORI, C.; DIAS, D. & PERACCHI, A. L. 2009. Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae, *Artibeus cinereus*: first record in the state of Paraná, Southern Brazil. *Check List* 5(2):325-329.
- SILVA, A. M.; MARQUES-AGUIAR, S. A.; BARROS, R. M. S.; NAGAMACHI, C. Y. & PIECZARKA, J. C. 2005. **Comparative cytogenetic analysis in the species *Uroderma magnirostrum* and *U. bilobatum* (cytotype 2n = 42) (Phyllostomidae, Stenodermatinae) in the Brazilian Amazon.** Genetics and Molecular Biology. 28(2): 248-253.
- SIMMONS, N. B. 2005. Order Chiroptera. In: Wilson, D. E. & Reeder, D. M. eds. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.** Baltimore: Johns Hopkins University Press, 3 ed., p. 312-529.
- SOLARI, S.; HOOFFER, S. R.; LARSEN, P. A.; BROWN, A. D.; BULL, R. J.; GUERRERO, J. A.; ORTEGA, J.; CARRERA, J. P.; BRADLEY, R. D. & BAKER, R. J. 2009. Operational criteria for genetically defined species: analysis of the diversification of the small fruit-eating bats, *Dermanura* (Phyllostomidae: Stenodermatinae). **Acta Chiropterologica** 11(2):279-288.
- SOUSA, R. F. 2011. Biologia, ecologia e aspectos citogenéticos de morcegos (Chiroptera, Mammalia) em remanescentes florestais de Cerrado no Leste Matogrossense. **Dissertação de Mestrado** - Universidade do Estado de Mato Grosso.
- SUMNER, A. T. 1973. A simple technique for demonstrating centromérica heterochromatin. **Experimental Cell Research** 75:304-306.
- SUMNER A. T. 1990. *Chromosome banding.* Unwin Hyman, London, p. 434.
- TAMURA K.; STECHER G.; PETERSON D.; FILIPSKI A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis versão 6.0. **Biologia Molecular e Evolução** 30:2725-2729.
- VARELLA-GARCIA, M.; MORIELLE-VERSUTE, E. & TADDEI, V. A. 1989. A survey of cytogenetic data on Brazilian bats. **Revista Brasileira Genética** 12(4):761-793.
- VARELLA-GARCIA, M. & TADDEI, V. A. 1989. Citogenética de quirópteros: métodos e aplicações. **Revista Brasileira de Zoologia** 6(2):297-323.
- VIZOTTO, L. D. & TADDEI, V. A. 1973. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. **Boletim de Ciências** 1:1-72.
- WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R. & HEBERT, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360: 1847-1857.
- YONENAGA-YASSUDA, Y. 2004. Contribuição da FISH à citogenética de mamíferos e répteis pp. 89-114. In M. Guerra (org.). **FISH – conceitos e aplicações na citogenética.** Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto.
- ZORTÉA, M. 2007. Subfamília Stenodermatinae pp. 107-128. In N.L. REIS, A.L. PERACCHI, W.A. PEDRO & I.P. LIMA (eds.). **Morcegos do Brasil.** Londrina.

---

## Conclusão Geral

---

A utilização de diferentes dados para auxiliar a identificação correta das espécies é de grande importância. Estudos morfológicos, citogenéticos e moleculares com morcegos no Cerrado ainda são escassos. Obtemos dados morfológicos, citogenéticos e moleculares de três espécies de morcegos do Cerrado, esses dados ao serem analisados em conjunto confirmaram que os exemplares pertenciam às espécies *Tonatia bidens*, *Tonatia saurophila* e *Dermanura gnoma*.

A constituição cariotípica de *T. bidens* ( $2n = 26$  e  $NF = 38$ ), foi evidenciada pela primeira vez para esta espécie e o cariótipo de *T. saurophila* ( $2n = 16$  e  $NF = 20$ ), por nós encontrados, se assemelha ao descrito na literatura para *T. bidens*, neste sentido sugerimos que o cariótipo relatado na literatura para *T. bidens* seja reconhecido como sendo de *T. saurophila*. Nossas análises morfológicas e citogenéticas foram confirmadas por dados moleculares, onde *T. bidens* e *T. saurophila* formaram dois clados distintos, apresentando alta dissimilaridade (15,8%).

A análise de caracteres morfológicos e cranianos de *Dermanura gnoma* nos mostrou que os espécimes do Cerrado também apresentam medidas e características padrão desta espécie quando analisadas, através da literatura, com formas de outra localidade. *Dermanura gnoma*, teve seu cariótipo descrito pela primeira vez, sua constituição cariotípica ( $2n = 30$  e  $NF = 56$ ), foi semelhante à outra espécie deste gênero (*D. cinerea*), diferindo apenas na morfologia cromossômica. As análises moleculares utilizadas em nosso trabalho confirmaram a identificação dos espécimes, os quais apresentou alta dissimilaridade entre as espécies analisadas.

---

## **Agradecimentos**

---

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de mestrado ao primeiro autor.

---

## Anexos

---

### **Anexo 1.** Normas para publicação de artigos na Revista Iheringia – Série Zoologia.

#### **Escopo e política**

O periódico Iheringia, Série Zoologia, editado pelo Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, destina-se a publicar trabalhos completos originais em Zoologia, com ênfase em taxonomia e sistemática, morfologia, história natural e ecologia de comunidades ou populações de espécies da fauna Neotropical recente. Notas científicas não serão aceitas para publicação. Em princípio, não serão aceitas listas faunísticas, sem contribuição taxonômica, ou que não seja o resultado de estudos de ecologia ou história natural de comunidades, bem como chaves para identificação de grupos de táxons definidos por limites políticos. Para evitar transtornos aos autores, em caso de dúvidas quanto à adequação ao escopo da revista, recomendamos que a Comissão Editorial seja previamente consultada. Também não serão aceitos artigos com enfoque principal em Agronomia, Veterinária, Zootecnia ou outras áreas que envolvam zoologia aplicada. Manuscritos submetidos fora das normas da revista serão devolvidos aos autores antes de serem avaliados pela Comissão Editorial e Corpo de Consultores.

#### **Forma e preparação de manuscritos**

1. Submeter o manuscrito eletronicamente através do site: <http://submission.scielo.br/index.php/isz>
2. Os manuscritos serão analisados por, no mínimo, dois consultores. A aprovação do trabalho, pela Comissão Editorial, será baseada no conteúdo científico, respaldado pelos pareceres dos consultores e no atendimento às normas. Alterações substanciais poderão ser solicitadas aos autores, mediante a devolução dos arquivos originais acompanhados das sugestões.
3. O teor científico do trabalho é de responsabilidade dos autores, assim como a correção gramatical.
4. O manuscrito, redigido em português, inglês ou espanhol, deve ser configurado em papel A4, em fonte “Times New Roman” com no máximo 30 páginas numeradas (incluindo as figuras) e o espaçamento duplo entre linhas. Manuscritos maiores poderão ser negociados com a Comissão Editorial.
5. Os trabalhos devem conter os tópicos: título; nomes dos autores (nome e sobrenome por extenso e demais preferencialmente abreviados); endereço completo dos autores, com e-mail para contato; abstract e keywords (máximo 5) em inglês; resumo e palavras-chave (máximo 5) em português ou espanhol; introdução; material e métodos; resultados; discussão; agradecimentos e referências bibliográficas. As palavras-chave não deverão sobrepor com aquelas presentes no título.
6. Não usar notas de rodapé.
7. Para os nomes genéricos e específicos usar itálico e, ao serem citados pela primeira vez no texto, incluir o nome do autor e o ano em que foram descritos. Expressões latinas também devem estar grafadas em itálico.
8. Citar as instituições depositárias dos espécimes que fundamentaram a pesquisa, preferencialmente com tradição e infraestrutura para manter coleções científicas e com políticas de curadoria definidas.

9. Citações de referências bibliográficas no texto devem ser feitas em Versalete (caixa alta reduzida) usando alguma das seguintes formas: Bertchinger & Thomé (1987), (Bryant, 1915; Bertchinger & Thomé, 1987), Holme et al. (1988).

10. Dispor as referências bibliográficas em ordem alfabética e cronológica, com os autores em Versalete (caixa alta reduzida). Apresentar a relação completa de autores (não abreviar a citação dos autores com "et al.") e o nome dos periódicos por extenso. Alinhar à margem esquerda com deslocamento de 0,6 cm. Não serão aceitas citações de resumos e trabalhos não publicados.

Exemplos:

Bertchinger, R. B. E. & Thomé, J. W. 1987. Contribuição à caracterização de *Phyllocaulis soleiformis* (Orbigny, 1835) (Gastropoda, Veronicellidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 4(3):215-223.

Bryant, J. P. 1915. Woody plant-mammals interactions. In: ROSENTHAL, G. A. & BEREMBAUM, M. R. eds. *Herbivores: their interactions with secondary plants metabolites*. San Diego, Academic. v.2, p.344-365..

Holme, N. A.; Barnes, M. H. G.; Iwerson, C. W. R.; Lutken, B. M. & McIntyre, A. D. 1988. *Methods for the study of marine mammals*. Oxford, Blackwell Scientific. 527p.

Platnick, N. I. 2002. The world spider catalog, version 3.0. American Museum of Natural History. Disponível em: <<http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog81-87/index.html>>. Acesso em: 10.05.2002.

11. As ilustrações (desenhos, fotografias, gráficos e mapas) são tratadas como figuras, numeradas com algarismos arábicos sequenciais e dispostas adotando o critério de rigorosa economia de espaço e considerando a área útil da página (16,5 x 24 cm) e da coluna (8 x 24 cm). A Comissão Editorial reserva-se o direito de efetuar alterações na montagem das pranchas ou solicitar nova disposição aos autores. As legendas devem ser autoexplicativas. Ilustrações a cores implicam em custos a cargo dos autores. As figuras devem ser encaminhadas apenas em meio digital de alta qualidade (ver item 16).

12. As tabelas devem permitir um ajuste para uma (8 cm) ou duas colunas (16,5 cm) de largura, ser numeradas com algarismos romanos e apresentar título conciso e autoexplicativo.

13. Figuras e tabelas não devem ser inseridas, somente indicadas no corpo do texto.

14. A listagem do material examinado deve dispor as localidades de Norte a Sul e de Oeste a Leste e as siglas das instituições compostas preferencialmente de até 4 letras, segundo o modelo abaixo:

BRASIL, Goiás: Jataí (Fazenda Aceiro), 3 ♂, 15.XI.1915, C. Bueno col. (MZSP); Paraná: Curitiba, ♀, 10.XII.1925, F. Silveira col. (MNRJ); Rio Grande do Sul: São Francisco de Paula (Fazenda Kraeff, Mata com Araucária, 28o30'S 52o29'W, 915m), 5 ♂, 17.XI.1943, S. Carvalho col. (MCNZ 2147).

15. Recomenda-se que os autores consultem um artigo recentemente publicado na *Iheringia Série Zoologia* para verificar os detalhes de formatação.

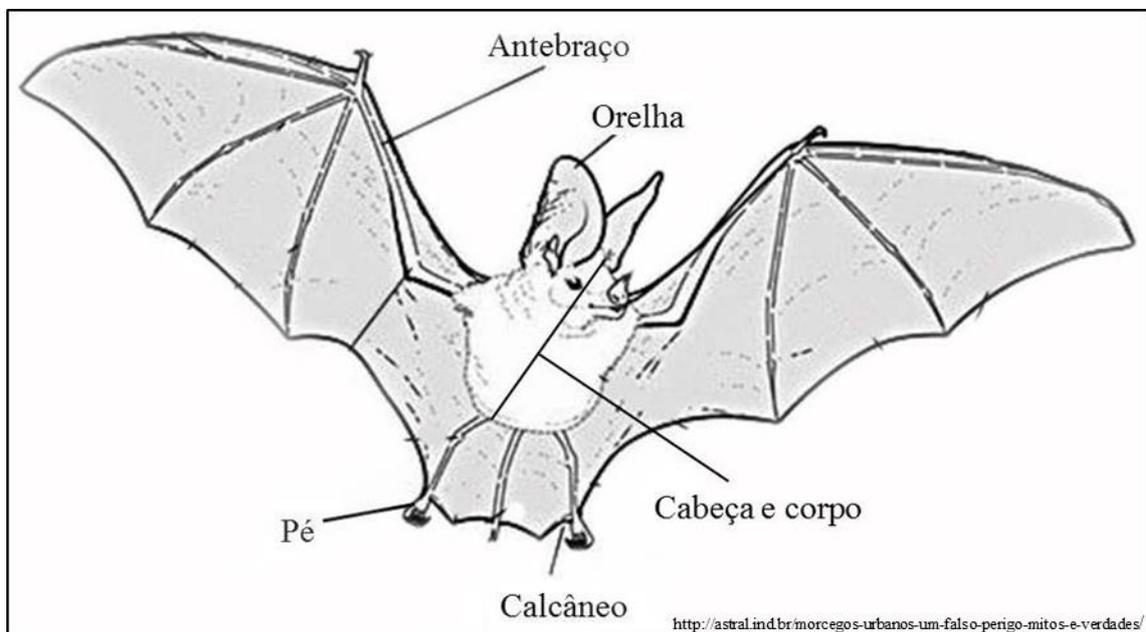
16. Enviar o arquivo de texto em Microsoft Word (\*.doc) ou em formato "Rich Text" (\*.rtf). Para as imagens utilizar arquivos Bitmap TIFF (\*.tif) e resolução mínima de 300 dpi (fotos) ou 600 dpi (desenhos em linhas). Enviar as imagens nos arquivos digitais independentes (não inseridas em arquivos do MS Word, MS Power Point e outros), nomeados de forma autoexplicativa (e. g. figura01.tif). Gráficos e tabelas devem ser inseridos em arquivos separados (Microsoft Excel para gráficos e Microsoft Word ou Excel para tabelas). Para arquivos vetoriais utilizar formato Corel Draw (\*.cdr).

17. Para cada autor será fornecido um exemplar da revista. Os artigos também estarão na página do Scientific Electronic Library Online, SciELO/Brasil, disponível em [www.scielo.br/isz](http://www.scielo.br/isz).

**Anexo 2.** Medidas morfológicas externas e cranianas realizadas nos espécimes de morcegos, conforme VIZOTTO & TADDEI (1973).

**Dimensão das medidas externas:**

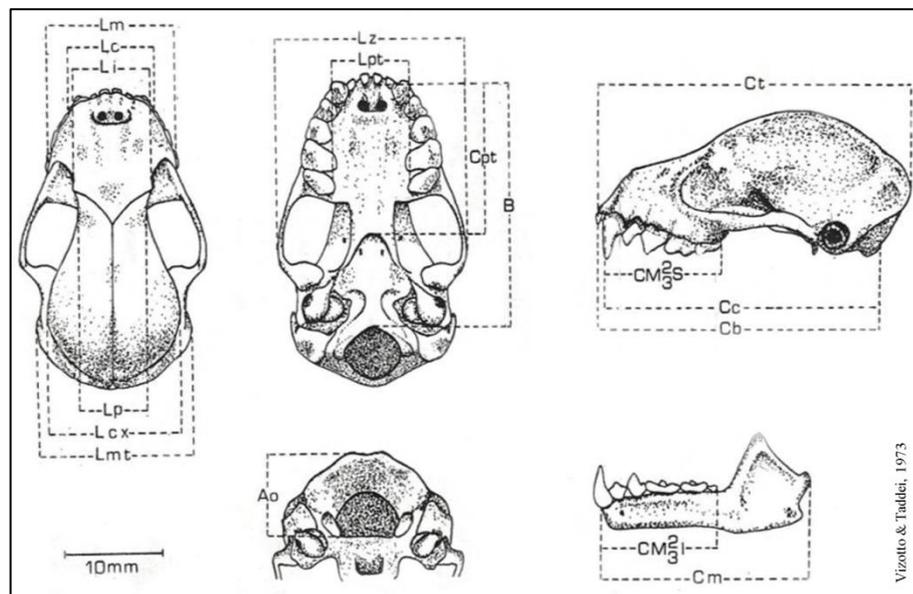
- ✓ Comprimento total (Cabeça e corpo): do extremo anterior do rostro à região anal, disposto o animal em decúbito dorsal, com a abóboda palatina paralela ao substrato.
- ✓ Antebraço: do cotovelo à extremidade proximal dos metacarpos, com o braço, antebraço e dedos dobrados, de modo a tomar a forma de um z.
- ✓ Pé: do ponto ventral de implantação da unha do artelho médio ao extremo posterior (origem do calcâneo), quando o pé forma um ângulo reto com a tibia.
- ✓ Calcâneo: do ponto ventral de união superior com a tibia ao extremo distal.
- ✓ Altura da orelha: do ponto mais profundo do entalhe sobre a margem externa ao extremo distal.



### **Dimensões das medidas cranianas:**

- ✓ Comprimento total do crânio (Ct): da borda alveolar anterior dos incisivos centrais superiores ao extremo posterior do occipital.
- ✓ Comprimento cômulo-basal (Cb): da borda alveolar anterior de um dos incisivos centrais superiores ao ponto distal do cômulo occipital correspondente.
- ✓ Comprimento cômulo-canino (Cc): da borda alveolar anterior do canino ao ponto distal do cômulo occipital correspondente.
- ✓ Comprimento basal (B): da borda alveolar posterior de um dos incisivos centrais à borda anterior do *foramen magnum*.
- ✓ Comprimento palatal (Cpt): da borda alveolar posterior de um dos incisivos centrais ao ponto mais anterior da chanfradura palatina, ao nível das coanas.
- ✓ Comprimento da série de dentes superiores (C-M<sup>2</sup><sub>3</sub>S): da borda alveolar anterior do canino superior à borda alveolar posterior do último molar da mesma série.
- ✓ Comprimento da série de dentes inferiores (C-M<sup>2</sup><sub>3</sub>I): da borda alveolar anterior do canino inferior à borda alveolar posterior do último molar da mesma série.
- ✓ Comprimento da mandíbula (Cm): da borda anterior dos incisivos centrais ao ponto distal do processo condilóide (articular).
- ✓ Largura externa dos cingula-caninos (Lc): entre os pontos extremos externos dos cingula dos caninos superiores.
- ✓ Largura externa dos molares superiores (Lm): entre os pontos extremos das bordas alveolares externas dos molares superiores.
- ✓ Largura interorbital (Li): entre os pontos mais próximos das constrições orbitais.
- ✓ Largura posorbitária (Lp): entre os pontos mais próximos obtidos na constrição posorbitária.
- ✓ Largura zigomática (Lz): entre os pontos extremos laterais dos arcos zigomáticos.

- ✓ Largura da caixa craniana (Lcx): entre os pontos extremos das paredes da caixa craniana, geralmente, na região esquamosal do temporal.
- ✓ Largura mastóidea (Lmt): entre os pontos extremos dos processos mastóideos.
- ✓ Largura palatal (Lpt): entre os pontos mais próximos das bordas alveolares internas dos últimos molares ( $M_2$  ou  $M_3$ ).
- ✓ Altura do occipital (Ao): da borda anterior do *foramen magnum* ao ponto de união das cristas lambdóideas e sagital.



**Anexo 3.** Extração direta da medula óssea adaptado de Morielle-Versute *et al.*, 1996.

Injetar subcutânea e dorsalmente 0,2 ml da suspensão de fermento glicosado para cada 25g de peso corporal do animal. Essa solução induz a ocorrência de mitoses nas células precursoras de linfócitos. Após  $\pm 12$  horas injetar intra-peritonealmente 0,2 ml de colquicina 0,5% para cada 25g de peso corporal. Aguardar de 20 minutos. A colquicina impede a formação do fuso mitótico nas células, bloqueando o processo de divisão celular.

Decorridos o tempo da injeção de colquicina, sacrificar o animal e remover os ossos longos e com a ajuda de uma seringa e solução salina de Hanks ( $\pm 8$  ml) recolher a medula óssea em um tubo de centrífuga. As massas celulares que existem são desfeitas por sucessivas aspirações com a própria seringa, sem agulha.

Centrifugar a suspensão por 5 minutos a 900 rpm. Descartar o sobrenadante deixando  $\pm 1$  ml de medula no tubo e adicionar de 5 a 8 ml de hipotônica KCl 0,075 M, ressuspender devagar e deixar em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. É importante deixar sempre a mesma quantidade de solução no tubo de centrífuga que se utilizou para retirar a medula em todos os demais processos.

Centrifugar por 5 minutos a 900 rpm, desprezar o sobrenadante, agitar levemente, para ressuspender e colocar de 5 a 8 ml de fixador metanol-acético 3:1. Aguardar 15 minutos. Centrifugar e desprezar o sobrenadante. Repetir essa operação mais duas vezes ressuspendendo o último precipitado (em  $\pm 2$  ml) de fixador e guardar em tubos de eppendorf no freezer ( $\pm 2$  ml).

#### **Anexo 4. Bandamentos cromossômicos.**

##### **Coloração convencional com *Giemsa* adaptado de Guerra, 1988.**

Após pingar a lâmina esperar secar e colocar em solução de *Giemsa* a 5% (47,5 ml de água destilada e 2,5 ml de solução de *Giemsa* mãe) por cinco minutos, lavar a lâmina em água corrente para retirar o excesso da *Giemsa*, deixar secar em temperatura ambiente e analisar.

##### **Bandamento C adaptado de Sumner, 1973.**

- ✓ Utilizar lâminas recém-preparadas.
- ✓ Tratar o material preparado com HCl 0,2N à temperatura ambiente por 15 minutos;
- ✓ Lavar a lâmina em água corrente e deixar secar naturalmente;
- ✓ Colocar em solução salina de 2x SSC a 60 °C por 15 minutos;
- ✓ Lavar a lâmina em água corrente e deixar secar naturalmente;
- ✓ Colocar em solução de hidróxido de bário ( $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) 5%, recém preparada e filtrada, a 42 °C, durante 90 segundos;
- ✓ Para interromper a ação da solução do bário submergir rapidamente a lâmina em solução de HCl 0,2N, lavar em água corrente e deixar secar naturalmente;
- ✓ Colocar a lâmina em solução salina 2xSSC a 60 °C durante 45 minutos;
- ✓ Lavar a lâmina em água corrente e deixar secar naturalmente;
- ✓ Corar com 40 µL do meio com Iodeto de Propídio;
- ✓ Deixar em câmara escura e refrigerada por 24 horas e analisar as lâminas.

##### **Coloração Ag-NOR adaptado de Howell & Black, 1980.**

- ✓ Utilizar lâminas recém-preparadas.
- ✓ Preparar a seguinte solução: 2 gotas de gelatina, 2 gotas de água destilada e 4 gotas de nitrato de prata.
- ✓ Colocar a solução acima sobre a lâmina seca e cobrir com uma lamínula. Levar ao banho-maria a 60 °C e começar a observar a lâmina a partir de 1 minuto, até obter uma coloração marrom.
- ✓ Lavar em água corrente até a lamínula desgrudar, corar com *Giemsa* a 5% por  $\pm 20$  segundos, enxaguar em água corrente, deixar secar naturalmente e analisar.

**Coloração com fluorocromo base-específico CMA<sub>3</sub> adaptado de Schweizer, 1980.**

- ✓ Utilizar lâminas novas
- ✓ Colocar as lâminas em cubetas e deixá-las imersas em tampão Mcllvaine + MgCl<sub>2</sub> à temperatura ambiente ( $\pm 25$  °C) por 10 minutos;
- ✓ Retirar a lâmina e agitá-la brevemente, secando a face oposta à do material. Colocar 50 $\mu$ L de CMA<sub>3</sub> (0,5 mg/ml). Cobrir com uma lamínula e deixar o conjunto em caixa escura por 30 minutos, em temperatura ambiente.
- ✓ Retirar a lamínula em tampão Mcllvaine (pH = 7,0) lavando a lâmina vagarosamente nessa solução. Deixar a lâmina nesse tampão enquanto se prepara a solução Metil-green/Hepes;
- ✓ Incubar as lâminas em solução de Metil-green/Hepes por 15 minutos;
- ✓ Lavar as lâminas em solução de Hepes/NaCl;
- ✓ Secar as lâminas, pingar  $\pm 2$  gotas da solução de glicerol com propilgalato e montar as lâminas permanentes com lamínula;
- ✓ Deixar a lâminas guardada em caixa escura e na geladeira por no mínimo 2 dias antes de analisar e fotografar em microscopia de epifluorescência.

**Anexo 5.** Classificação cromossômica definida através das medidas obtidas pela razão entre os braços do cromossomo “AR” (índice gerado pela divisão entre o tamanho do braço maior (p) pelo braço menor (q) do cromossomo) e valores dos índices de AR utilizados para a nomenclatura dos cromossomos de acordo com o estabelecido por LEVAN *et al.* (1964).

$$AR = \frac{\text{comprimento (q)}}{\text{comprimento (p)}}$$

**Cromossomo metacêntrico:** o centrômero está localizado na sua parte central ou quase central, dividindo os braços do cromossomo em partes iguais ou aproximadamente iguais, o AR deve estar entre o intervalo 1 e 1,7.

**Cromossomo submetacêntrico:** o centrômero está deslocado para a parte superior, dividindo o cromossomo em dois braços de tamanhos diferentes, o AR deve estar entre o intervalo 1,7 e 3,0.

**Cromossomo subteloicêntrico:** o centrômero está localizado próximo da sua extremidade, formando dois braços com tamanhos bem diferentes, um muito grande e outro muito pequeno, o AR deve estar entre o intervalo 3 e 7,0.

**Cromossomo acrocêntrico:** o centrômero encontra-se localizado em uma das suas extremidades, sendo que praticamente não existe o braço menor, o AR deve ser maior que 7,0.

**Anexo 6.** Extração de DNA (Aljanabi & Martinez, 1997).

- ✓ Extrair o DNA genômico através da pela fragmentação dos tecidos, deixar secar por completo em estufa a 37 °C por  $\pm$  2 horas;
- ✓ Adicionar 440  $\mu$ L de tampão de extração e 5  $\mu$ L de proteinase K (10 mg/ $\mu$ L). Passar no vórtex para homogeneizar e levar ao banho-maria a 55 °C por 1-3 horas;
- ✓ Adicionar 300  $\mu$ L de NaCl (5M) inverter os tubos e passar no vórtex por 30 segundos. Centrifugar a 10.000 rpm por 10 minutos a 25 °C;
- ✓ Remover 500  $\mu$ L do sobrenadante para outro tubo e adicionar 500  $\mu$ L de isopropanol 100% gelado, inverter os tubos para precipitação do DNA. Centrifugar por 10 minutos a 10.000 rpm;
- ✓ Descartar o isopropanol e adicionar 300  $\mu$ L de etanol 70% gelado. Centrifugar por 10 minutos a 10.000 rpm (repetir 3 vezes este passo);
- ✓ Descartar o etanol e secar por 30 minutos a 37 °C ou deixar os tubos abertos em cima de um guardanapo dentro de uma gaveta de um dia para o outro;
- ✓ Adicionar 50  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O miliQ autoclavada e 3  $\mu$ L de RNase, ressuspender o material e colocar no banho a 37 °C por 30 minutos;
- ✓ Correr no gel de agarose a 0,5% para verificar a integridade do DNA e se possui a presença de RNA na amostra de DNA;
- ✓ Não havendo a presença de RNA, seguir para a quantificação de DNA em bioespectrofotômetro.

## Apêndices

**Apêndice 1.** Índice das medidas cromossômicas obtidas pela razão entre os braços do cromossomo “AR” e sua respectiva nomenclatura.

Metacêntrico (M), submetacêntrico (SM), subtelocêntrico (ST) e acrocêntrico (A).

Cromossomos	<i>Tonatia bidens</i>					<i>Tonatia saurophila</i>					<i>Dermanura gnoma</i>				
	M	SM	ST	A	AR	M	SM	ST	A	AR	M	SM	ST	A	AR
Par 1			X		3,5	X				1,0	X				1,0
Par 2				X	> 7,0				X	> 7,0	X				1,03
Par 3				X	> 7,0				X	> 7,0	X				1,4
Par 4		X			3,0				X	> 7,0		X			2,8
Par 5				X	> 7,0		X			2,1			X		3,20
Par 6	X				1,05				X	> 7,0			X		3,15
Par 7				X	> 7,0	X				1,7	X				1,0
Par 8		X			2,0							X			2,88
Par 9	X				1,0								X		3,33
Par 10			X		5,6						X				1,58
Par 11	X				1,25							X			1,8
Par 12				X	> 7,0						X				1,7
Par 13											X				1,0
Par 14											X				1,0
Sexual (X)		X			1,8		X			2,63	X				1,06
Sexual (Y)													X		3,1

**Apêndice 2.** Local de captura dos espécimes de *Dermanura gnoma*.

<b>Data de Coleta</b>	<b>RM</b>	<b>Procedência</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Município</b>	<b>Sexo</b>	<b>Peso (g)</b>
07/09/2011	221	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	F	11,5
07/05/2012	233	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	F	10
13/05/2012	235	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	F	10
11/08/2012	244	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	M	10
28/09/2012	257	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	M	14
11/12/2012	287	Parque Estadual da Serra Azul (PESA)	15°51'19,5" S, 52°15'14,4" W	Barra do Garças/MT	F	11
05/02/2013	296	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	M	
05/03/2013	315	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	F	12,2
15/03/2013	327	Rio das Mortes	13°39'02" S, e 051°29'57" W	Nova Nazaré/MT	M	12
20/04/2013	333	Parque do Bacaba	14°42'28,8" S, e 52°21'03,9" W	Nova Xavantina/MT	M	12,5
28/04/2013	340	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	M	10,8
26/06/2013	349	Parque do Bacaba	14°42' S, e 52°21' W	Nova Xavantina/MT	F	11,5

**Apêndice 3.** Medidas morfológicas externas e medidas cranianas obtidas dos espécimes de *Dermanura gnoma*. Dados: F (fêmea), M (macho). C. (comprimento), L. (largura).

Medidas	RM 221	RM 233	RM 235	RM 244	RM 257	RM 287	RM 296	RM 315	RM 327	RM 333	RM 340	RM 349
<b>Medidas morfológicas externas</b>												
C. do Antebraço	35,9	40,0	39,9	36,9	39,1	39,3	38,1	39,2	40,3	38,5	39,1	38,8
C. total do corpo	50,8	45,0	46,2	48,7	48,5	49,3	49,4	49,5	47,3	38,8	48	38,2
C. da orelha	14,9	12,2	13,2	12,2	12,2	12,7	13,2	13,8	11,8	15,1	14,5	14,3
C. do pé	5	4,4	4,9	4,3	4,7	4,0	5,0	4,1	4,6	4,9	4,7	5,1
C. do calcâneo	4,3	5,2	6,1	4,7	4,3	4,8	4,4	5,6	5,0	4,4	5,3	4,3
<b>Medidas cranianas</b>												
C. total do crânio	19,8	18,1	19,5	18,4	19,3	19,2	19,0	18,3	18,7	19,6	19,2	18,6
C. côndilo-basal	19,1	17,9	18,9	16,8	16,6	17,1	17,0	16,7	17,1	17,4	17,3	16,6
C. palatal	7,6	8,3	8,7	8,0	7,7	7,8	8,1	8,3	7,1	8,2	7,8	8,0
C. basal	14,7	14,0	14,7	14,4	14,5	14,8	14,7	14,3	14,6	14,8	14,7	14,0
C. mandíbula	11,5	11,6	11,7	11,3	11,3	12,0	11,7	11,7	11,3	11,7	11,9	11,9
C. da série de dentes superiores	6,2	5,8	6,1	5,8	5,9	5,8	6,0	5,9	5,8	6,2	5,8	5,8

Continuação Apêndice 3

C. côndilo-canino	18,8	17,3	16,8	16,3	17,0	16,7	16,3	16,1	16,6	16,9	16,4	15,0
C. da série de dentes inferiores	6,6	6,1	6,4	5,8	6,1	6,0	6,1	6,0	6,0	6,2	6,2	6,1
L. externa dos cingula-caninos	5,3	5,0	5,1	5,0	5,2	5,0	5,3	5,0	5,1	5,1	5,0	5,1
L. externa dos molares superiores	8,0	7,5	7,5	7,4	7,7	7,8	7,5	7,7	7,5	7,8	7,6	7,8
L. pós-orbital	8,0	7,5	7,7	7,2	8,0	7,8	7,5	7,3	7,2	7,9	7,4	7,2
L. zigomática	11,1	10,3	10,4	9,9	11,1	10,8	9,9	9,9	10,7	11,5	11,2	11,0
Largura da caixa craniana	9,5	8,1	8,3	8,3	9,0	8,5	8,5	8,9	8,8	8,8	8,9	8,4
Largura mastóidea	10,7	9,8	9,6	9,5	10,0	9,4	9,6	9,8	9,9	9,8	9,8	10,1
Largura interorbital	6,2	5,8	5,8	5,8	5,4	5,8	5,4	5,1	5,8	5,6	5,5	5,3
Largura palatal	4,5	3,8	4,0	4,4	4,2	4,3	4,0	4,9	4,1	4,9	4,3	4,5
Altura do occipital	6,3	6,1	5,9	6,1	6,1	5,5	6,1	5,8	6,1	5,9	6,3	6,1