



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - IB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL
MESTRADO

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA, MORFOLÓGICA E
CITOGENÉTICA DE MORCEGOS DO GÊNERO *ARTIBEUS*
LEACH, 1821 (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE).**

Flávia Sibeles Foltran Fialho

**Orientador: Dr. César Koppe Grisolia
Co-Orientadora: Dra. Ludmilla Moura de Souza Aguiar**

**Brasília – DF
Maio
2009**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - IB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL
MESTRADO

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA, MORFOLÓGICA E
CITOGENÉTICA DE MORCEGOS DO GÊNERO *ARTIBEUS*
LEACH, 1821 (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE).**

Flávia Sibebe Foltran Fialho

Orientador: Dr. César Koppe Grisolia
Co-Orientadora: Dra. Ludmilla Moura de Souza Aguiar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Brasília – DF
Maio
2009

''Tem sido uma amarga penitência para mim digerir a conclusão que 'essa corrida é para os fortes'' e que eu provavelmente farei pouco mais do que me contentar em admirar os avanços que outros obtiveram na ciência.'''

(Charles Darwin)

DEDICATÓRIA

Ao meu pai, por ser a grande motivação do mesmo. Entre poucas pessoas que acreditaram que esse sonho pudesse realizar-se, ele mostrou-me que também sou capaz de conseguir tudo aquilo que eu desejo. Basta lutar, se esforçar e acreditar que é capaz. Obrigada pai, por acreditar na sua filha, quando muitas vezes, nem eu mesma acreditei. Dedico este trabalho a você!

AGRADECIMENTOS

Durante toda minha formação acadêmica, apareceram muitos anjos no meu caminho, assim não me senti sozinha e a caminhada foi muito mais fácil. Essas pessoas de alguma forma me ajudaram, ou com conselhos, broncas, ensinamentos, com a amizade sincera na hora do meu desespero. Havia momentos, que eu achava que não existia nenhuma solução, mas sempre apareceram esses anjos e me ajudaram a resolver. Então, gostaria de dizer que esse trabalho não é só meu e nem de meus orientadores, e sim de todas essas pessoas que contribuíram de alguma forma, para que ele pudesse ser concluído.

Em primeiro lugar, à Deus, minha força divina, luz suprema que ilumina meus caminhos, mostrando-me muitas vezes, uma forma fácil de resolver todos os meus problemas.

Quero agradecer também ao meu pai, por todo apoio, carinho, força e entusiasmo, por ele ser a pessoa que ele é, minha fonte de energia e inspiração.

Quero agradecer aos meus irmãos Gugu e Paula, pelo amor, apoio e força nos momentos difíceis, por eles serem tão batalhadores e ensinar-me o que eu preciso fazer para sempre ser uma pessoa melhor, meus irmãos são meu orgulho, fonte de admiração. Obrigada!

Ao Ro, por ele mostrar-me, às vezes de forma dura, que é preciso acordar, que eu preciso enfrentar meus medos e entrar na caverna sozinha, como uma guerreira. Ele ensinou-me que posso ser uma pessoa melhor, que a vida não manda nada de graça a ninguém, que é preciso correr, brigar e lutar com dignidade e caráter. Que a vida pode ser boa, pra quem quer coisas boas, que a felicidade somos nós que fazemos. E por fim, ensinou a coisa mais importante do mundo, que o amor sincero e verdadeiro é possível, mesmo estando distantes, seja qual for o motivo.

Aos meus orientadores professor César e Ludmilla, obrigada pela oportunidade que me deram de aprender, pelo apoio, confiança, paciência, amizade. Vocês foram os

principais responsáveis por este trabalho ter sido concluído e eu agradeço imensamente por isso.

A todos os professores, que me ensinaram, orientaram e colaboraram de alguma forma no aprimoramento deste trabalho.

Ao professor Jader, por permitir o acesso aos espécimes da Coleção e pelas orientações importantes para a realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de Mastozoologia da UnB, em especial ao Samuel, pela preocupação, amizade, apoio, dicas e pelo carinho nas horas mais complicadas e ao Leonardo, Raquel e Clarisse, pelo apoio e amizade.

À professora Leila Pessoa da UFRJ, por ter iniciado em mim o desejo em estudar os morcegos, por ter me ensinado as técnicas de citogenética, pela confiança e amizade.

Aos Colegas do laboratório de genética, Vânia, Ieler, Bélin, Dudu, Ana Luiza, Dani, Eliza, Ornil, professora Nazaré, Silviene, Zulmira, por todo apoio e força a todo o momento, pelas dicas importantes que muitas vezes eram a essência para os experimentos darem certo.

A professora Íris Ferrari e Nilza, pelas orientações aos experimentos de citogenética, e por todo apoio.

Ao Luiz do Departamento de Artes, pelas ilustrações científicas.

Ao meu amigo Hernani, por todas as dicas, apoio nas coletas, noites sem dormir no meio do nada, obrigada amigo, por tudo.

Ao André Protzek, pelo apoio nas coletas e por ter cedido alguns exemplares para as minhas análises.

Ao meu querido amigo André Freitas (Baku), pelas dicas importantes para este trabalho, pelos conselhos, amizade e ao grande apoio nos momentos complicados.

Ao Onildo Marini, por ter me dado à oportunidade e apoio, pela paciência, orientações e amizade.

Aos meus colegas de mestrado, Ricardo, Dudu, Rafael Ajuz, Roberto La Cava, Luiza (Lu) e Rafael Maia (desculpa se eu esquecer de alguém), que ingressaram comigo, obrigada pelo conhecimento compartilhado e a amizade.

Aos milhões e maravilhosos amigos, Regina, Robertinha, Gui, Rafinha, Rafael Santana, Roberto Cabral, Cla, Fred, Fernandinha, Luciane (Luluka), Edgar, Fernando Campelo, Thiaguinho, Afonsinho, JB Lima, Carlinha, Jacqueline Duran, Carlinha (Xuxu), Zuca, George, Mari Fava, Joana e Julião, simplesmente por existirem e fazerem parte da minha vida.

Ao E. Petter, pelos momentos de apoio e alegria, que me ajudaram a sair de um buraco fundo. Pelo seu carinho, atenção e as palavras certas na hora exata; Obrigada!

ÍNDICE

	Páginas
DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE ABREVIATURA	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO I – MORFOLOGIA E MORFOMETRIA	23
Introdução	23
Material e Métodos	26
<i>Análise dos caracteres cranianos e morfológicos</i>	26
<i>Medidas Morfológicas</i>	26
<i>Medidas cranianas</i>	27
<i>Análises estatísticas</i>	30
Resultados	30
<i>Análise descritiva para as variáveis morfológicas</i>	30
<i>Análise descritiva para as variáveis cranianas</i>	34
<i>Análise discriminante</i>	36
<i>a) Variáveis morfológicas</i>	39
<i>b) Variáveis cranianas</i>	42
<i>c) As variáveis morfológicas e cranianas mais importantes</i>	46
Discussão Geral e Conclusões	53
CAPÍTULO II – ANÁLISE CITOGENÉTICA DE <i>Artibeus lituratus</i>	58
Introdução	58
Marcadores Cromossômicos: Técnicas de Bandeamento	61
Heterocromatina – Bandeamento – C	63
Regiões Organizadoras de Nucléolos – RONS	66
Objetivos	69
Material e Métodos	69

<i>Análises Citogenéticas</i>	69
<i>Espécie</i>	69
<i>Coletas</i>	69
<i>Protocolo de Citogenética de Morcegos</i>	70
Resultados	72
<i>Coletas</i>	73
<i>Análises citogenéticas</i>	74
<i>dos padrões de Banda-G</i>	77
<i>dos padrões de Banda-C</i>	77
Discussão	82
Conclusão	87
Referências Bibliográficas	88
Anexos	99
<i>Lista das espécies de morcegos: capturas e utilizados nas análises morfológicas, suas localidades, identificação do espécime e sexo.</i>	
<i>Licença de coleta IBAMA</i>	102

LISTA DE ABREVEATURAS

2n – Número Diplóide

DNA – Ácido desoxirribonucleico.

DNAr - Ácido desoxirribonucleico ribossômico.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

FAL - Fazenda Água Limpa

HC – Heterocromatina constitutiva.

HCL – Ácido clorídrico.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

KOH – Hidróxido de Potássio.

NF – Número Fundamental

PBS – Solução salina tamponada.

pH – potencial hidrogeniônico.

RNA - Ácido ribonucléico.

RONs – Região Organizadoras de nucléolos.

SPSS – Statistical Package for the Social Sciences.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Tabela 1. Relação dos Valores da Média, do mínimo e do máximo das variáveis medidas e expressas em milímetros para as espécies do gênero *Artibeus*.

Tabela 2 - Tabela 2: Média, mínimo, máximo expresso em milímetros e o tamanho válido observado dos principais caracteres cranianos para a análise discriminante.

Tabela 3 - Média, mínimo, máximo expresso em milímetros e o tamanho válido observado dos principais caracteres cranianos para a análise discriminante.

Tabela 4 – Matriz de correlação entre **as variáveis morfológicas** e as funções discriminantes.

Tabela 5 – Matriz de correlação entre as **variáveis cranianas** selecionadas.

Tabela 6 – Matriz de correlação entre as **variáveis cranianas** e as funções discriminantes

Tabela 7 – Matriz de correlação entre as **variáveis morfológicas e cranianas** e as funções discriminantes

Tabela 8 – Matriz de correlação entre as **variáveis morfológicas e cranianas** selecionadas

Tabela 9 – Coeficientes das funções de classificação

CAPÍTULO II

Tabela 1: Número de indivíduos por espécies coletadas e suas respectivas localidades.

Tabela 2 – Padrão de HC no complemento cromossômico da espécie *Artibeus lituratus*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: Figura 1: TM (comprimento do terceiro metacarpo); QUAM (comprimento do quarto metacarpo); QUIM (comprimento do quinto metacarpo); LMC (comprimento máximo do crânio); LCB (comprimento do côndilo basal); ALC (altura da caixa craniana); ANC (largura da caixa craniana); AZ (largura do arco zigomático); APO (largura pós-orbital); Cc (largura dos caninos); AMT (largura do mastóideo); LP (comprimento do palato); AMX (largura do maxilar); M1M1 (largura do palato a altura do 1º molar); M2M2 (largura do palato a altura do 2º molar); LHMAX (comprimento da fileira dental do maxilar); LHMO (comprimento da fileira dos pré-molares e molares superiores); LMAN (comprimento da mandíbula); LHMAN (comprimento da fileira dental da mandíbula); ACO (altura da coronóide); ACM (largura entre os côndilos mandibulares) e AMAN (altura da mandíbula).

Figura 2 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas** selecionadas para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X). Os centróides estão representados por +.

Figura 3 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas** selecionadas (primeira e terceira função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X).

Figura 4 – Análise discriminante das **variáveis cranianas** selecionadas (primeira e segunda função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X). Os centróides estão representados por +.

Figura 5 – Análise discriminante das **variáveis cranianas** selecionadas (primeira e terceira função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X).

Figura 6 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas e cranianas** selecionadas (primeira e segunda função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X). Os centróides estão representados por +.

Figura 7 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas e cranianas** selecionadas (primeira e terceira função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X).

CAPÍTULO II

Figura 1: Esquema hipotético de provável origem do cromossomo X na subfamília Stenodermatinae. Fonte: Rodrigues et. al., (2003).

Figura 2: Metáfase de *Artibeus lituratus* (macho) coloração com convencional GIEMSA (foto A). Cariótipo de *Artibeus lituratus* (macho) $2n = 31$ e $FN = 56$, (foto B).

Figura 3: Metáfase de *Artibeus lituratus* (fêmea) coloração com convencional GIEMSA (foto A). Cariótipo de *Artibeus lituratus* (fêmea) $2n = 30$ e $FN = 56$, (foto B).

Figura 4: Metáfase de *Artibeus lituratus* (macho) banda G (foto A). Cariótipo de *Artibeus lituratus* (macho) $2n = 31$ e $FN = 56$, (foto B).

Figura 5: Metáfase de *Artibeus lituratus* (fêmea) banda G (foto A). Cariótipo de *Artibeus lituratus* (fêmea) $2n = 30$ e $FN = 56$, (foto B).

Figura 6: Metáfase de *Artibeus lituratus* (fêmea) com banda C (foto A). Cariótipo de *Artibeus lituratus* (fêmea) $2n = 30$ e $FN = 56$ com banda C (foto B).

Figura 7: Metáfase de *Artibeus lituratus* (macho) com banda C (foto A). Cariótipo de *Artibeus lituratus* (macho) $2n = 31$ e $FN = 56$ com banda C (foto B).

Resumo

O gênero *Artibeus* Leach (1821) tem sua distribuição restrita à região Neotropical, ocorrendo desde o México, passando por toda a América Central até a América do Sul. Os *Artibeus* são divididos em quatro subgêneros: *Artibeus*, *Dermanura*, *Enchistenes* e *Koopmania*. E os grandes *Artibeus* (subgênero *Artibeus*) possuem oito espécies das quais cinco possuem registros no Brasil. A sistemática do gênero *Artibeus* é um grande problema, tem sido estudada por muitas pessoas o que gera grandes controvérsias. As informações são imprecisas, principalmente sobre a distribuição geográfica, ocasionada muitas vezes por identificações equivocadas por informações disponíveis na literatura, especialmente antes de uma revisão feita na década de 1989. O presente trabalho teve como objetivo a caracterização de quatro espécies do gênero *Artibeus*. Nas análises morfológicas 117 indivíduos de *Artibeus* foram medidos e identificados como: *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris*, *Artibeus obscurus* e *Artibeus cinereus*. Foram feitas 12 medidas morfológicas e 19 cranianas. Os resultados das medidas foram submetidos a análises estatísticas (análise discriminante) com o objetivo de selecionar os melhores caracteres que separam as quatro espécies. Três funções discriminantes foram calculadas pelo método *stepwise*. Das 12 variáveis morfológicas, obtive-se uma separação confiável dos quatro grupos baseado na combinação de oito caracteres. A primeira função discriminante seleciona como caracteres importantes para a discriminação das quatro espécies o comprimento do antebraço, terceiro metacarpo e presença de lista rostral como sendo os principais caracteres morfológicos para a discriminação das espécies. Já para os caracteres cranianos as principais variáveis que discriminam as espécies são o comprimento máximo do crânio, comprimento da mandíbula e comprimento da fileira dental da mandíbula. No capítulo dois foi analisado citogeneticamente a espécie *Artibeus lituratus*. Foram analisados 19 indivíduos, 13 machos e 6 fêmeas. As técnicas citogenética utilizada para as análises foram a de coloração convencional, Banda-G e Banda C. A espécie apresentou $2n = 30, XX$ e $31 XY^1Y^2$. E $NF = 56$, compreendendo cromossomos metacêntricos e submetacêntrico, variando entre 9-11 pares, o X submetacêntrico e o número de subtlocêntricos variando entre 3-5 pares de cromossomos. Os cromossomos sexuais Y^1Y^2 são acrocêntricos. Onde também demonstrou que a espécie possui determinado polimorfismo cariotípico. Este trabalho foi importante, pois contribuirá com a caracterização das espécies do Centro-Oeste e permitirá uma visualização tanto de estruturas conservativas, como as características individuais das espécies aqui analisadas.

Palavras-chaves: Chiroptera, *Artibeus*, morfometria, morfologia e citogenética.

Abstract

The genus *Artibeus* Leach (1821) has its distribution restricted to the Neotropics, occurring since Mexico, through all Central America until South America. The genus *Artibeus* is divided in four subgenus: *Artibeus*, *Dermanura*, *Enchistenes* and *Koopmania*. The bigger *Artibeus* (subgenus *Artibeus*) posses eight species, from which five have been registered in Brazil. The systematic of the genus *Artibeus* is a great problem, having been studied by several researchers, all which generates a great discussion. The information - mostly about the geographic distribution - is imprecise, several times caused by wrong identifications, specially before one revision made in the. In the present study, 117 individuals distributed in four species were analyzed and were identified as: *A. lituratus*, *Artibeus planirostris*, *Artibeus obscurus* and *Artibeus cinereus*. 12 morphological and 19 cranial measures were taken. The results of the measures were statistically analyzed (discriminant analysis) with the objective to select the best characters which separate the four species. Three discriminant functions were calculated by the *stepwise* method. From the 12 morphological variables, a trustable separation of the four groups based in the combination of eight characters was obtained. The first discriminant function obviously separates *A. lituratus* from *A. cinereus*, placing the other two groups (*A. planirostris* and *A. obscurus*). The second function discriminates the same group from the others. The same proceeding was made for the cranial characters and then for the morphological and cranial ones. The results from this proceeding show that the chosen variables are important for a best separation of the species. In chapter two, the species *Artibeus lituratus* was cytogenetically analyzed. 19 individuals, 13 males and 6 females were analyzed. The cytogenetic techniques used for the analysis were conventional coloration, G-Band and C-Band. The species presented $2n = 30$, XX 31 XY¹Y² and FN = 56, including metacentric and submetacentric chromosomes, varying between 9-11 pair bases, the X presented a submetacentric morphology; the number of subtelocentric chromosomes varies between 3-5 pair bases. The sexual Y¹Y² are acrocentric. This study is important, because it will contribute the characterization of the species from the Brazilian Center-West region and will allow visualization in so far as from conservative structures, as well as the individual characteristic of the species here analyzed.

Keywords: Chiroptera, Artibeus, morphometry, morphology and cytogenetic.

INTRODUÇÃO GERAL

A Ordem Chiroptera

Os morcegos são mamíferos placentários pertencentes á ordem Chiroptera, dividida em duas subordens (Megachiroptera e Microchiroptera) e composta por aproximadamente 1.100 espécies (KUNZ & LUMSDEN, 2003). São os únicos mamíferos capazes de voar, pois possuem uma série de adaptações que possibilitam o voo. Contam com várias estruturas que dão suporte aos braços para que possam ser utilizados como asas, como ombros e peito com ossos e musculatura desenvolvidos, algumas juntas da coluna vertebral são fundidas e costelas achatadas, ossos leves e tubulares, e o joelho dirigido para fora e para trás como resultado de rotação da perna para suportar a membrana alar (NOWAK, 1991).

As características que distinguem os morcegos os tornam únicos, em termos evolutivos e ecológicos, quando comparados com animais do mesmo tamanho (como roedores), pois, apesar de pequenos, apresentam longa expectativa de vida – existem registros de até 31 anos para um morcego insetívoro na natureza -, baixa fecundidade, altas taxas de sobrevivência, em média 50% a 80%, um período relativamente longo de dependência da mãe por parte dos filhotes, idade relativamente avançada para atingir a maturidade sexual, e, provavelmente pelas exigências em relação ao voo, apresentam pouca variação morfológica quando adultos (FINDLEY, 1993).

Morcegos são animais essencialmente noturnos; a maioria das espécies começa a forragear no crepúsculo e retorna ao abrigo um pouco antes do nascer do sol, comportamento que favorece proteção contra seus principais predadores (ERKERT, 1982). Seus predadores são principalmente falcões e corujas, mamíferos carnívoros de pequeno porte, e serpentes (FINDLEY, 1993).

Ocupam uma ampla variedade de abrigos, tanto em ambientes naturais, quando em estruturas construídas pelo homem. Mais da metade das espécies de morcegos existentes em todo o mundo usa plantas como abrigo de forma exclusiva ou oportunisticamente. As outras espécies se abrigam em cavernas, fendas, minas, e edificações (KUNZ & LUMSDEN, 2003).

A maioria das espécies de morcegos apresenta apenas um filhote por evento reprodutivo, uma ou duas vezes ao ano. Nas regiões temperadas a monoestria é inevitável, no entanto, na região tropical os morcegos podem apresentar padrões reprodutivos monoéstricos ou poliéstricos. Apresentam períodos de gestação de cerca de dois meses, e de três ou quatro semanas até um ano para que os filhotes fiquem completamente independentes da mãe (FINDLEY, 1993).

A região neotropical apresenta uma alta diversidade de morcegos, com 288 espécies registradas, sendo que uma se encontra extinta, 57 estão ameaçadas, uma está criticamente em perigo, nove em perigo e 47 são vulneráveis (HUTSON *et al.*, 2001). Em termos da fauna de morcegos do Brasil, existem cerca de 150 espécies, quase 50% do total da região Neotropical, sendo que 14 espécies são consideradas ameaçadas, na categoria vulnerável, de acordo com a IUCN (HUTSON *et al.*, 2001). Essa alta diversidade de morcegos é determinada, em grande parte pela variabilidade de habitats alimentares entre os morcegos pertencentes a subordem Microchiroptera, que incluem espécies frugívoras, nectarívoras, carnívoras, piscívoras e/ou insetívoras, podendo ocupar um amplo espectro de nichos ecológicos (FLEMING *et al.*, 1972). Outra razão de sucesso dos Microchiropteros é a utilização de abrigos diurnos; os morcegos formam o único grupo de mamíferos a usar cavernas como refugio permanente. A evolução do voo e ecolocalização foram determinantes para que os Microchiropteros pudessem ser

bem sucedidos na utilização de vários ambientes inviáveis para a maioria de outros vertebrados, como cavernas, fendas, ocos de arvores, construções (KUNZ, 1982).

No Brasil há ocorrência apenas da subordem Microchiroptera, representada por nove famílias (Emballonuridae, Moormoopidae, Noctilionidae, Phyllostomidae, Natalidae, Furipteridae, Thyropteridae, Vespertilionidae e Mollossidae) (AGUIAR & TADDEI 1995, REIS *et al.* 2008). A família Phyllostomidae é 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). Um dos gêneros mais comuns e diversificados dentro dessa família é *Artibeus*, com espécies que possuem tamanhos variados (TADDEI *et al.*, 1998).

Nove espécies do gênero e subgênero *Artibeus* são conhecidas como os grandes *Artibeus*. Cinco possuem registros no Brasil (SIMMONS, 2005): *Artibeus fimbriatus*, *Artibeus jamaicensis*, *Artibeus planirostris*, *Artibeus lituratus* e *Artibeus obscurus*. Das espécies pequenas, ocorrem no Brasil *Artibeus anderseni*, *Artibeus glaucus*, *Artibeus gnomus* e *Artibeus cinereus*, sendo *A. cinereus* a que possui distribuição mais ampla e a mais abundante (TADDEI, *et al.*, 1998).

A sistemática do gênero *Artibeus* é bastante complexa e tem sido motivo de grandes controversas (KRAFT, 1982, 1983; HANDLEY, 1987 & 1989; KOOPMAN, 1993; LIM & WILSON, 1993; LIM, 1997, 2004; TADDEI *et al.*, 1998; MARQUES-AGUIAR, 1994). A dificuldade na identificação das espécies em campo, devido á sobreposição de medidas entre elas, causa muitos erros que se refletem na confiabilidade dos registros, e conseqüentemente na distribuição geográfica das espécies, principalmente aquelas embasadas em informações da literatura (KRAFT, 1982, 1983; HANDLEY, 1987 & 1989; KOOPMAN, 1993; LIM & WILSON, 1993; LIM, 1997, 2004; TADDEI *et al.*, 1998; MARQUES-AGUIAR, 1994).

Por exemplo, HANDLEY (1987) considerou *A. falax*, *A. hercules* e *A. planirostris* como subespécies de *A. jamaicensis*. Contudo, OWEN (1987, 1988), por meio de análises filogenéticas e fenéticas, obteve resultados que sugerem, porém não confirmam, que *A. planirostris* e *A. fraterculus* não são co-específicos com *A. jamaicensis*. HANDLEY (1989) confirmou a posição anterior, referindo-se a *A. planirostris* como um sinônimo júnior e uma variante geográfica de *A. jamaicensis*. KOOPMAN (1993) manteve separados *A. jamaicensis* e *A. planirostris*, ressaltando que a ocorrência de *A. jamaicensis* na Amazônia brasileira só pode ser considerada se uma das espécies (*A. obscurus* ou *A. planirostris*) for tratada como sinônimo de *A. jamaicensis*. Em 1991, HANDLEY passou a tratar *A. planirostris* como subespécie, adotando então as combinações *Artibeus jamaicensis planirostris* e *Artibeus jamaicensis falax*.

KRAFT (1982, 1983) reconheceu e descreveu dois espécimes do material tipo de *Phyllostoma planirostre* Spix (1823), depositados no Munich Zoological Museum. HANDLEY (1991) discutiu exaustivamente a determinação desse material e, finalmente, pôde ser esclarecido que *P. planirostre* é um complexo de pelo menos duas espécies, como haviam suspeitado DOBSON (1878) e ANDERSEN (1908), incluindo *A. planirostris*, o exemplar número (65)-1903-9437 e *Artibeus fimbriatus* Gray, o exemplar número (66)- 1903-9438.

De acordo com HANDLEY (1991) esta situação criada pela amostra de Spix, confundiu os mastozoólogos por mais de cento e cinquenta anos e, em grande parte, foi responsável por ANDERSEN (1908) não ter reconhecido *Artibeus lituratus* como uma espécie distinta e por ter separado, em apenas duas, as grandes espécies sul-americanas de *Artibeus*, ou seja, *Artibeus jamaicensis* e *Artibeus planirostris*.

LIM (1993) comparou cinco espécies de *Artibeus* que ocorrem ao norte da América do Sul (*A. amplus*, *A. jamaicensis*, *A. lituratus*, *A. obscurus*, *A. planirostris*) utilizando 11 caracteres cranianos. Com uso de análise de componentes principais (PCA) ele encontrou que constrição pós-orbital, comprimento do rostró e a largura inter-orbital explicava 70% da variabilidade total e separava bem *A. lituratus*, *A. obscurus* e *A. jamaicensis*. No entanto, observou que constrição pós-orbital, comprimento do rostró e a altura do coronóide separavam somente *A. lituratus* das demais espécies, evidenciando a importância da largura inter-orbital nas análises. Em 1997, Lim respondeu as dúvidas relacionadas com as espécies *A. planirostris* e *A. jamaicensis*, diferenciando morfométricamente as duas espécies.

O grande problema e dificuldade para a identificação das espécies do gênero são as diversas metodologias utilizadas na identificação das espécies. Por exemplo, adotar apenas a medida do antebraço, ou utilizar chaves de identificação que se baseiam em poucos caracteres, sem analisar outras características importantes que realmente separam as espécies do gênero (TADDEI *et al.*, 1998).

Assim, este trabalho tem dois objetivos. O primeiro é analisar a morfologia externa e craniana de quatro espécies do gênero *Artibeus* (*A. lituratus*, *A. planirostris*, *A. obscurus* e *A. cinereus*) visando caracterizar as espécies que ocorrem na região Centro-Oeste do Brasil, mais especificamente no Distrito Federal e entorno comparando com as espécies analisadas em outros trabalhos de morfometria, e verificar quais seriam os melhores caracteres para discriminar essas espécies.

O segundo objetivo é analisar citogeneticamente a espécie *Artibeus lituratus* com ocorrência no Distrito Federal e verificar se há diferenças nos resultados de banda-G e Banda-C obtida em estudos com *Artibeus* das regiões Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil e entre os morcegos de Brasília.

CAPÍTULO I – MORFOLOGIA E MORFOMETRIA

INTRODUÇÃO

O gênero *Artibeus* tem sido estudado por muitos taxonomistas e sistematas (KRAFT, 1982, 1983; HANDLEY, 1987 & 1989; KOOPMAN, 1993; LIM & WILSON, 1993; MARQUES-AGUIAR, 1994; LIM, 1997, 2004 e TADDEI *et al.*, 1998), porém ainda é motivo de muitas controvérsias decorrentes da falta de informações adequadas sobre a distribuição geográfica e sobre as variações cranianas e morfológicas entre os diferentes táxons (TADDEI, *et al.*, 1998).

KOOPMAN (1993) dividiu o gênero *Artibeus* em quatro diferentes subgêneros: *Artibeus*, *Dermanura*, *Enchistenes* e *Koopmania*. Porém, não há consenso sobre o real estado taxonômico destes grupos, que são tratados por outros autores como gêneros distintos (VAN DE BUSSCHE *et al.*, 1998; OWEN 1987, 1991; WETTERER *et al.*, 2000). São aceitas 17 espécies do gênero *Artibeus*: nove do subgênero *Artibeus*, seis do subgênero *Dermanura*, uma do subgênero *Koopmania* e uma do subgênero *Enchistenes* (SIMMONS, 2005). Em nível específico também ocorrem discrepâncias entre diferentes autores. HANDLEY (1987) considera *Artibeus planirostris* como uma subespécie de *Artibeus jamaicensis*, ao contrário de KOOPMAN (1993) que trata como uma espécie distinta.

Com o uso de análise multivariada é possível detectar e descrever padrões estruturais, espaciais e temporais entre espécies, e formular hipóteses baseadas nos numerosos fatores bióticos e abióticos que interferem sobre tais características (VALENTIM, 2000). Com base em análises multivariada de dados morfológicos e cranianos. LIM (1997) concluiu que *A. planirostris* é uma espécie distinta de *A. jamaicensis*, como previamente tratada por HERSHKOVITZ (1949) e HANDLEY

(1987). Em outro estudo da taxonomia de espécies do gênero *Artibeus*, LIM & WILSON (1993) analisaram espécimes vindos do norte da América do Sul e encontraram uma separação significativa entre os grupos de *A. lituratus* e *A. amplus*. Essa separação foi constatada principalmente devido à diferença no tamanho das duas espécies. Embora sejam espécies bem próximas são facilmente distinguíveis uma da outra. O autor encontrou, com o uso de PCA (análise de componentes principais) que as variáveis (construção pós-orbital, comprimento do rostro e a largura inter-orbital) explicariam 70% da variação total das espécies, o que não ocorre com *A. jamaicensis* e *A. obscurus*, cujas medidas se sobrepõem.

MARQUES-AGUIAR (1994) realizou uma extensa revisão das grandes espécies de *Artibeus* e por meio de análise cladística propôs uma hipótese de relacionamento filogenético, verificando que *Artibeus fimbriatus* e *Artibeus obscurus* são os táxons com menor número de caracteres avançados, enquanto *Artibeus lituratus* é a espécie mais distinta, com pelo menos cinco autopomorfias.

TADDEI *et al.* (1998) também analisaram as espécies de *Artibeus* grandes de diversas localidades das regiões Norte, Leste, Centro-Oeste e Sul do Brasil. Utilizando características morfológicas e informações morfométricas, externas, cranianas e realizaram uma análise univariada e verificaram que o comprimento do antebraço e a largura pós-orbitária não discriminavam as espécies *Artibeus obscurus*, *Artibeus jamaicensis* e *Artibeus fimbriatus*. Essas duas variáveis são suficientes para discriminar apenas *Artibeus lituratus*. Por outro lado, o comprimento do crânio e a largura pós-orbitária discriminam *A. lituratus* de *A. fimbriatus*, mas continua havendo sobreposição das espécies *A. obscurus* e *A. jamaicensis*.

ARAÚJO *et al.*, (2005) analisaram a morfologia externa e craniana de quatro espécies de grandes *Artibeus* que ocorrem na Paraíba e Pernambuco. Utilizando análise

discriminante os autores encontraram sobreposição para as medidas de *A. obscurus* e *A. planirostris* e de *A. lituratus* e *A. fimbriatus*. No entanto, os caracteres cranianos analisados permitiram uma diferenciação clara entre as espécies.

No bioma Cerrado ocorrem cinco espécies de *Artibeus* – *A. lituratus*, *A. obscurus*, *A. planirostris*, *A. jamaicensis* e *A. cinereus* (AGUIAR & ZORTÉA, 2008) e até o momento nenhum estudo ainda foi feito para testar se há diferenças morfológicas e morfométricas entre as espécies de floresta já estudadas, com as presentes no Cerrado, e esse estudo pretende fazer essa avaliação.

Portanto, o objetivo desse estudo é analisar a morfologia externa e craniana de quatro espécies do gênero *Artibeus* (*A. lituratus*, *A. planirostris*, *A. obscurus* e *A. cinereus*) visando caracterizar as espécies que ocorrem na região Centro-Oeste do Brasil, mais especificamente no Distrito Federal e entorno comparando com as espécies analisadas em outros trabalhos de morfometria, e verificar quais seriam os melhores caracteres para discriminar essas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Para análise morfométrica foram medidos indivíduos do gênero *Artibeus* depositados na coleção científica de mamíferos da Universidade de Brasília, sob supervisão do Dr. Jader Marinho-Filho. Para análises citogenéticas, foram coletados indivíduos, com redes de neblina abertas em frente a abrigo ou árvore frutífera. Esses indivíduos também foram medidos e as medidas foram incluídas nas análises morfológicas. Todos os indivíduos medidos têm procedência do Distrito Federal e estados do Goiás. Os indivíduos coletados serão depositados na Coleção da UnB.

Análises dos caracteres cranianos e morfológicos

Para cada exemplar foram realizadas doze medidas morfológicas e 22 medidas cranianas, expressas em mm. As medidas morfológicas e cranianas foram realizadas com paquímetro digital “Starrett”, resolução 0,01 mm. Foram considerados apenas espécimes adultos, condição comprovada previamente através da verificação do nível de ossificação das metáfises, do nível de desgaste dos dentes ou então, pela atividade reprodutiva. Os critérios utilizados para a realização das medidas externas e cranianas, bem como as abreviações adotadas para as mesmas, foram os seguintes:

Medidas Morfológicas

Foi medido o comprimento da cabeça e corpo (CC), sendo o paquímetro colocado no extremo anterior do rostro e estendido até a região anal, com o animal em decúbito dorsal, com a abóbada palatina paralela ao substrato. Para medida da cabeça (CB) foi colocado o paquímetro no extremo anterior do rostro ao ponto mais posterior da base craniana. Para a medida do corpo (CP), o paquímetro foi colocado na base posterior do crânio e estendido à região anal. Para a medida da orelha (OR), uma régua foi inserida do ponto mais profundo do entalhe ao ponto mais extremo da borda do pavilhão. Para a medida de antebraço (ANTEBRAÇO), o paquímetro foi posicionado no cotovelo à extremidade proximal dos metacarpos, com o braço, antebraço e dedos dobrados, de modo a tomar a forma de z. Para a medida de tíbia (TB) o paquímetro percorreu a distância dos pontos extremos, pelo lado ventral, quando o pé, a tíbia e coxa são dobrados, de modo a tomar forma de um z. Para a medida do pé (PE), o paquímetro foi colocado no ponto ventral de implantação da unha do artelho médio ao extremo posterior (origem do calcâneo), quando o pé forma um ângulo reto com a tíbia. Foi medida do comprimento da ponta de uma asa (polegar) até a extremidade da outra asa (PA) com o paquímetro sendo estendido da ponta da asa – somatório das medidas do

antebraço com o metacarpo do terceiro dígito (da extremidade distal ao ângulo interno formado com o antebraço, na base do pólex, pelo lado ventral) com as falanges do mesmo dígito (da porção proximal à porção distal de cada falange, sempre dobradas para fins de medida). Por fim, foi verificada a presença ou ausência de listra rostral (LISTRA).

Medidas Cranianas

As medidas cranianas foram: LMC (comprimento máximo do crânio); LCB (comprimento do côndilo basal); ALC (altura da caixa craniana); ANC (largura da caixa craniana); AZ (largura do arco zigomático); APO (largura pós-orbital); Cc (largura dos caninos); AMT (largura do mastóideo); LP (comprimento do palato); AMX (largura do maxilar); M1M1 (largura do palato a altura do 1º molar); M2M2 (largura do palato a altura do 2º molar); LHMAX (comprimento da fileira dental do maxilar); LHMO (comprimento da fileira dos pré-molares e molares superiores); LMAN (comprimento da mandíbula); LHMAN (comprimento da fileira dental da mandíbula); ACO (altura da coronóide); ACM (largura entre os côndilos mandibulares) e AMAN (altura da mandíbula). E estão representadas na figura 1

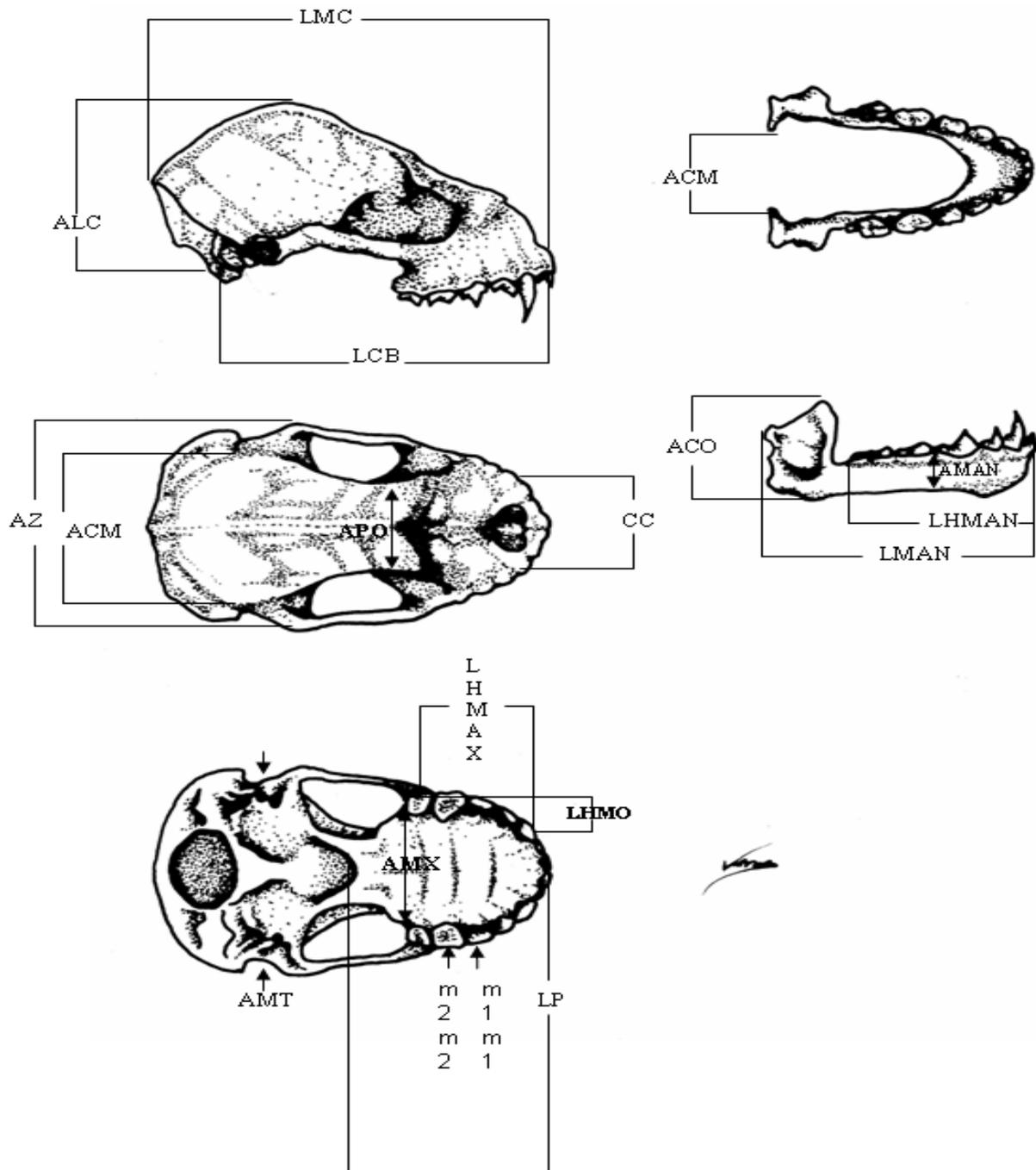


Figura 1: LMC (comprimento máximo do crânio); LCB (comprimento do côndilo basal); ALC (altura da caixa craniana); ANC (largura da caixa craniana); AZ (largura do arco zigomático); APO (largura pós-orbital); Cc (largura dos caninos); AMT (largura do mastóideo); LP (comprimento do palato); AMX (largura do maxilar); M1M1 (largura do palato a altura do 1º molar); M2M2 (largura do palato a altura do 2º molar); LHMAX (comprimento da fileira dental do maxilar); LHMO (comprimento da fileira dos pré-molares e molares superiores); LMAN (comprimento da mandíbula); LHMAN (comprimento da fileira dental da mandíbula); ACO (altura da coronóide); ACM (largura entre os côndilos mandibulares) e AMAN (altura da mandíbula).

Todas essas variáveis foram utilizadas na comparação entre espécies e entre os sexos.

Análises estatísticas

A análise discriminante com o método “stepwise” foi utilizada na caracterização das espécies. Foram empregadas variáveis morfológicas e cranianas, em um total de 113 observações, distribuídas entre as espécies. O método de Wilk’s Lambda foi usado para seleção de entrada das variáveis, onde todas são estatisticamente significativas, ou seja, tem uma separação confiável dos quatro grupos baseado na combinação dessas variáveis. Esta análise tem a propriedade de maximizar as diferenças entre os grupos (estabelecidos *a priori*) e indicar quais caracteres que mais contribuíram para tal discriminação ao longo de cada variável canônica. Os grupos foram previamente definidos como (*Artibeus lituratus* – 1; *Artibeus cinereus* – 2; *Artibeus planirostris* - 3 e *Artibeus obscurus* – 4).

RESULTADOS

Um total de 117 indivíduos, distribuídos em quatro espécies identificadas como *Artibeus lituratus* (43); *Artibeus planirostris* (22); *Artibeus cinereus* (21) e *Artibeus obscurus* (31), foram medidos. (Anexo I).

Análise descritiva para as variáveis morfológicas

Para a caracterização de *Artibeus lituratus* foram analisados 22 espécimes machos e 21 fêmeas. Essa espécie é a maior do grupo, com média de tamanho de corporal de 78,52 mm, comprimento mínimo de 63,49 mm e máximo de 93,45 mm. A média do comprimento do antebraço é de 69,13 mm, com comprimento mínimo de 61,47 mm e máximo de 73,6 mm, conforme apresentado na Tabela 1. A coloração apresenta uma variação grande, indo de marrom-claro acinzentado ao marrom-escuro chocolate. A presença de listras brancas no rosto é a característica mais marcante da

espécie, pois, das 43 espécimes analisadas, apenas 11 não possuíam a listra. Outra característica marcante é a morfologia craniana. A espécie apresenta uma crista cranial evidente e um formato triangular da pós-orbital. A média do comprimento máximo do crânio foi de 31,13 mm e variou entre 27,67 mm e 32,36 mm. Apresenta fórmula dentária: $i\ 2/2\ c\ 1/1\ pm\ 2/2\ m\ 2/3 = 30$.

Para *Artibeus planirostris*, foram analisados 12 espécimes machos e 10 fêmeas. Essa espécie pode ser considerada de tamanho médio, sendo a média do comprimento do corpo 68,41 mm (60,27- 81,24 mm). A média do comprimento do antebraço foi de 59,92 mm (57,88- 63,27 mm). A coloração é basicamente cinza escuro, não apresentando muita variação. A não evidência de listras brancas é uma característica, pois os 22 indivíduos analisados, não a possuíam de forma marcante, ao contrário de em *A. lituratus*. A fórmula dentária é: $i\ 2/2\ c\ 1/1\ pm\ 2/2\ molar\ 3/3 = 32$.

Para *Artibeus obscurus*, foram analisados 13 espécimes machos e 16 fêmeas. Também pode ser considerada de tamanho médio, porém, um pouco maior que *Artibeus planirostris* (comprimento do corpo tem em média 74,36 mm). O comprimento mínimo foi de 72,11 mm e o máximo 83,04 mm. O comprimento do antebraço apresentou média de 58,42 mm. O comprimento mínimo foi de 52,24 mm e o máximo de 62,33 mm. Sua coloração apresenta uma cor mais uniforme e com pêlos no dorso mais escuros e maiores que no ventre, uma característica marcante é a presença de pêlos no antebraço, poucas e pequenas verrugas no queixo. Não possui listras brancas, pois dos 31 indivíduos analisados nenhum possuíam listra. Apresenta fórmula dentária: $i\ 2/2\ c\ 1/1\ pm\ 2/2\ molar\ 3/3 = 32$.

Para *Artibeus cinereus*, foram analisados oito espécimes machos e 13 fêmeas. É uma espécie de tamanho pequeno (comprimento do corpo tem em média 44,12 mm. O mínimo foi de 41,09 mm e o máximo de 49,84 mm). O comprimento do antebraço

apresentou média de 39,98 mm. O comprimento mínimo foi de 37,7 mm e o máximo de 42,58 mm. Sua coloração é homogênea, que vai desde o marrom-claro tanto no ventre quanto no dorso, possui orelhas arredondas com uma coloração que pode variar desde o creme ao marrom, delineada por uma coloração mais clara. Os indivíduos analisados não possuem listras brancas, apenas um indivíduo apresentou listras, mas quase imperceptíveis. Apresenta fórmula dentária: $i\ 2/2\ c\ 1/1\ pm\ 2/2\ molar\ 2/2 = 28$

As variáveis CC (comprimento cabeça-corpo), CB (comprimento da cabeça), CP (comprimento do corpo), OR (comprimento da orelha), ANTEBRAÇO (comprimento do antebraço), TB (comprimento da tíbia), PE (comprimento do pé), PA (comprimento da asa aberta às duas extremidades), LISTRA (presença ou ausência da listra no rosto – dicotômica), TM (comprimento do terceiro metacarpo), QUAM (comprimento do quarto metacarpo) e QUIM (comprimento do quinto metacarpo) foram selecionadas pelo método stepwise e explicar em 68,7% da variabilidade total entre as espécies. Para a análise descritiva foram utilizados os mesmos caracteres selecionados para as análises discriminantes, que estão destacados na Tabela 1.

Artibeus lituratus tem a maior média para o comprimento cabeça-corpo (CC) (78,52 mm) e do comprimento do antebraço (ANTEBRA) com 69,13 mm, do comprimento da tíbia (TB) com 25,62 mm, e do comprimento do terceiro metacarpo (TM) com 23,24 mm.

Artibeus obscurus apresenta a maior média da envergadura o comprimento das duas extremidades das asas (PA) com 149,79 mm. E a maior média para o comprimento do quinto metacarpo (QUIM) com 20,36 mm.

A espécie *A. cinereus* obteve a menor média para o comprimento da envergadura, com o comprimento das duas extremidades das asas (PA) medindo 81,43 mm. Como esperado para a espécie, *A. cinereus* apresentou os menores valores dos

caracteres morfológicos, a menor média do tamanho corpo-cabeça (CC) com 44,12 mm e a menor média para o comprimento da cabeça (CB) com 18,05 mm.

As espécies *A. planirostris* e *A. obscurus* apresentaram três caracteres com valores bem próximos. São eles: comprimento do terceiro metacarpo (TM), comprimento da cabeça (CB) e comprimento do quinto metacarpo (QUIM).

Tabela 1. Relação dos Valores da Média, do mínimo e do máximo das variáveis para as espécies do gênero *Artibeus* (em mm).

Caracteres morfológicos	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Artibeus cinereus</i> **	<i>Artibeus planirostris</i>	<i>Artibeus obscurus</i>
CC	ME = 78,52 (63,49-93,45) 40*	ME = 44,12 (41,09-49,84) 21*	ME = 68,41 (60,27-81,24) 21*	ME = 74,36 (72,11-83,4) 31*
CB	ME = 20,92 (14,62-26,5) 40*	ME = 18,05 (11,62-22,57) 21*	ME = 30,25 (26,22-33,37) 21*	ME = 30,6 (25,36-32,57) 31*
ANTEBRA	ME = 69,13 (61,47-73,6) 40*	ME = 39,98 (37,7-42,58) 21*	ME = 59,92 (57,88-63,27) 21*	ME = 58,42 (56,24-62,33) 31*
TB	ME = 25,62 (19,86-28,87) 40*	ME = 12,42 (8,83-15,47) 21*	ME = 22,8 (17,59-25,37) 21*	ME = 18,9 (15,87-22,99) 31*
PA	ME = 113,3 (67,49-154,41) 40*	ME = 81,43 (67,24-96,36) 21*	ME = 115,91 (102,52-133,1)21*	ME = 149,79 (142,5-154,48)31*
TM	ME = 23,24 (18,99-26,06) 40*	ME = 12,05 (10,13-15,87) 21*	ME = 13,71 (11,56-15,23) 21*	ME = 13,29 (11,39-14,25) 31*
QUIM	ME = 15,61 (12,36-18,56) 40*	ME = 14,91 (11,9-16,71) 21*	ME = 19,73 (16,22-23,54) 21*	ME = 20,36 (18,36-22,39) 31*

ME = média, *= números de indivíduos analisados, ** = a espécie *A. cinereus* não entre como comparação, devido ao seu tamanho, representada apenas como caracterização de suas características morfológicas.

Análise descritiva para as variáveis cranianas

As variáveis LMC (comprimento máximo do crânio), ALC (Altura da caixa craniana), ANC (Largura da caixa craniana), APO (Largura pós-orbital), cc1 (Largura dos caninos), LP (Largura do Palato), AMX (Largura maxilar), M2M2 (Largura do palato a altura do segundo molar), LHMAX (Comprimento da fileira dental do maxilar), LHMO (Comprimento dos pré-molares superiores), LMAN (Comprimento da mandíbula), LHMAN (Comprimento da fileira dental da mandíbula) e ACM (Largura dos côndilos mandibulares) foram selecionadas pelo método *stepwise* (para a análise discriminante) e podem explicar 94,9% da variabilidade total entre as espécies. Para a análise descritiva foram utilizadas as mesmas variáveis selecionadas e apresentadas na tabela 2.

Com exceção da largura pós-orbital (APO), *Artibeus lituratus* obteve as maiores médias para as variáveis selecionadas. Os resultados das médias do comprimento máximo do crânio (LMC) sugerem que este pode ser um caráter que discrimina bem as espécies. *A. lituratus* com média 31,13 mm; *A. Planirostris*, 27,56 mm; *A. obscurus* com 27,9 mm e *A. cinereus* com média da variável LMC de 19,48 mm.

A. cinereus foi à espécie que apresentou menores médias, como esperado. Já *Artibeus planirostris*, obteve à maior média para a variável APO (7,97mm) sendo superior a média de *A. lituratus* (7,46mm).

As espécies *A. planirostris* e *A. obscurus* tiveram seis variáveis com médias muito próximas (LMC, ANC, M2M2, LHMO, LMAN e ACM). *A. planirostris* obteve a maior média para a variável APO (7,97mm). *Artibeus planirostris* e *A. obscurus* obtiveram médias aproximadas para LCM (27,56mm) e (27,9mm) respectivamente. E para a variável ANC com *A. planirostris* (12,92mm) e *A. obscurus* com (12,83mm) entre outras como está representado na tabela 2.

Tabela 2: Média, mínimo, máximo expresso em milímetros e o tamanho válido observado dos principais caracteres cranianos para a análise discriminante.

Caracteres morfológicos	<i>Artibeus lituratus</i>	<i>Artibeus cinereus</i>**	<i>Artibeus planirostris</i>	<i>Artibeus obscurus</i>
LMC	ME = 31,13 (27,67-32,36)40*	ME = 19,48 (18,39-20,16)21*	ME = 27,56 (26,31-30,2)21*	ME = 27,9 (27,13-28,98) 31*
ALC	ME = 14,64 (11,44-17,69)40*	ME = 9,09 (8,12-9,82)21*	ME = 13,66 (12,27-14,98)21*	ME = 12,63 (12,13-13,74) 31*
ANC	ME = 13,48 (12,28-14,98)40*	ME = 8,2 (7,39-8,96)21*	ME = 12,92 (11,36-13,75)21*	ME = 12,83 (12,2-13,84) 31*
APO	ME = 7,46 (5,24-8,98)40*	ME = 5,07 (4,29-5,74)21*	ME = 7,97 (6,33-8,74) 21*	ME = 7,05 (6,27-7,96) 31*
CC1	ME = 8,38 (7,37-9,33)40*	ME = 5,03 (4,36-5,74)21*	ME = 7,43 (6,32-8,54)21*	ME = 6,99 (6,27-7,92)31*
LP	ME = 15,23 (12,4-16,68)40*	ME = 10,08 (9,36-15,87) 21*	ME = 15,12 (13,23-16,69) 1*	ME = 13,82 (13,19-14,81) 31*
M2M2	ME = 2,03 (0,93-3,21)40*	ME = 1,03 (0,86-1,21) 21*	ME = 1,68 (1,17-2,61) 21*	ME = 1,32 (0,95-2,08) 31*
LHMAX	ME = 11,84 (10,28-13,76)40*	ME = 6,29 (5,23-7,41)21*	ME = 11,5 (10,27-12,68)21*	ME = 10,62 (10,27-11,02)31*
LHMO	ME = 9,07 (8,25-9,82)40*	ME = 5,42 (4,39-6,42)21*	ME = 8,39 (7,22-9,56)21*	ME = 8,41 (7,27-8,84)31*
LMAN	ME = 21,11 (18,39-22,62)40*	ME = 12,18 (11,26-12,91)21*	ME = 19,9 (18,36-21,69)21*	ME = 19,01 (18,24-19,95)31*
LHMAN	ME = 12,31 (10,36-13,69)40*	ME = 6,89 (6,11-7,52)21*	ME = 12,24 (11,09-12,95)21*	ME = 11,7 (10,64-12,93)31*
ACM	ME = 9,11 (7,01-11,95)40*	ME = 4,59 (3,64-6,42)21*	ME = 7,22 (6,18-8,99)21*	ME = 7,54 (7,16-8,52)31*

ME= média, *= números de indivíduos analisados, ** = a espécie *A. cinereus* não entre como comparação, devido ao seu tamanho, representada apenas como caracterização de suas características cranianas.

Análise discriminante

A análise discriminante com método de *stepwise* foi realizada com 12 caracteres morfológicos e 21 caracteres cranianos. Das 117 observações, duas medidas da variável CB (comprimento da cabeça) apresentaram valores acima de três desvios-padrão e foram retiradas da análise. O mesmo aconteceu para três observações das variáveis PA (comprimento da asa aberta às duas extremidades) e TM (comprimento do 3º metacarpo). O método utilizado para a seleção das variáveis foi o Wilk's Lambda. Primeiro, os dados são checados com respeito às limitações praticas da realização da análise discriminante.

- Tamanho de amostra desigual e dados perdidos: Trabalhando com um total de 117 casos, distribuídos desigualmente nas espécies em estudo, o tamanho da amostra do menor grupo (21) excede o número de variáveis (12), portanto, não temos problemas especiais com esta limitação. Não há dados perdidos na amostra.
- Normal Multivariada: Algumas variáveis apresentaram determinada distorção na normalidade e/ou assimetria, porém, a análise de discriminante é robusta à falha na normalidade se esta violação é causada por assimetria, portanto, não há razão para esperar distorções no resultado dado à falha na normal multivariada.
- Outliers: Existem algumas observações questionáveis em relação à variável CB (duas observações apresentaram valores acima de três desvios padrão em relação à média), portanto foram retiradas. Foram verificadas três observações questionáveis em relação às variáveis PA e TM (valores acima de dois desvios-padrão). Estas são valores plausíveis levando em consideração o tamanho da amostra, portanto, apenas duas delas foram retiradas, por se tratarem também de outliers multivariados. No total foram excluídas quatro observações (número 12, 23, 27 e 73).
- Homogeneidade da matriz de variância-covariância: Examinando a variância da amostra (através dos desvios-padrão) para as variáveis quantitativas, é revelada apenas uma discrepância exagerada entre os grupos, na variável PA, que apresenta desvio oito vezes maior no primeiro grupo em comparação ao quarto. Com tamanho da amostra entre os grupos não excessivamente diferente (proporção menor que dois), utilizando testes de duas caudas e homogeneidade de variância razoável, a análise discriminante é robusta o suficiente para lidar com as discrepâncias das variâncias.

- Linearidade: é esperada uma relação linear entre as variáveis e as espécies. Uma variável é qualitativa, mas por serem dicotômicas, não é esperada relação curvilínea entre ela e as variáveis.
- Multicolinearidade: O método de seleção de variáveis stepwise protege contra a multicolinearidade testando a tolerância, portanto, nenhuma aferição formal é necessária.

A análise discriminante com método de stepwise é realizada com 12 variáveis a disposição e 113 observações, distribuídas entre as espécies. Foi usado o Wilk's Lambda como método de seleção de entrada de variáveis, resultando na entrada das variáveis abaixo, onde todas são estatisticamente significantes (tem boa explicação do problema), ou seja, temos uma separação confiável dos quatro grupos baseado na combinação dos oito variáveis.

A Estatística é um valor oriundo da abscissa de uma distribuição de probabilidade, neste caso, da distribuição F, com df_1 e df_2 graus de liberdade. Este valor mostra se temos evidência para aceitar a hipótese de trabalho, chamada “hipótese nula”, ou rejeitá-la. O p-valor transforma a estatística em uma probabilidade de acontecer a hipótese nula. Tradicionalmente, trabalhamos com um risco máximo de 5% de errarmos na nossa decisão de rejeitar a hipótese nula, portanto, para valores maiores de 5%, temos evidência que nos levam a aceitá-la, pois a probabilidade desta acontecer é maior que o risco disposto a ser cometido. Neste caso, trabalhamos com a hipótese nula de que a variável em questão não é significativa.

a) Variáveis morfológicas

Os grupos *Artibeus lituratus* (“1”), *Artibeus cinereus* (“2”), *Artibeus planirostris* (“3”) e *Artibeus obscurus* (“4”) foram discriminados com base nos caracteres CC:

comprimento que vai da ponta da cabeça até o final do corpo; CB: comprimento da cabeça; CP: comprimento do corpo; OR: comprimento da orelha; ANTEBRAÇO: comprimento do antebraço; TB: comprimento da tíbia; PE: Comprimento do pé; PA: Comprimento da asa aberta às duas extremidades; LISTRA: presença ou ausência da listra no rosto (dicotômica); TM: comprimento do 3º metacarpo (osso do dedo); QUAM: Comprimento do 4º metacarpo; QUIM: comprimento do 5º metacarpo;

Para a seleção *stepwise* o programa gerou três funções indicando que oito variáveis foram suficientes para a separação confiável dos quatro grupos baseado na combinação de oito caracteres. As variáveis selecionadas foram CC, CB, ANTEBRAÇO, TB, PA, LISTRA, TM e QUIM. Para verificar a significância da análise foi feito o teste qui-quadrado combinado com 24 graus de liberdade (814,896) ($p < 0,001$), mesmo com a remoção da primeira função discriminante, ainda há forte associação entre os grupos e os caracteres ($X^2 - p < 0,001$). Estas duas funções discriminantes apresentaram 68,7% e 29,5%, respectivamente, da variabilidade total entre grupos e apresentam correlação canônica bem próxima, igual a 0,989 e 0,976.

A Figura 2 apresenta a primeira função discriminante que (explica 68,7% da variação entre os caracteres selecionados), separa *Artibeus lituratus* da espécie *Artibeus cinereus*, posicionando os outros dois grupos em um gradiente entre esses dois. A segunda função que (explica 29,5% da variação entre os caracteres selecionados para esta função), discrimina os grupos *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus* dos restantes. Essa separação pode ser observada na figura abaixo.

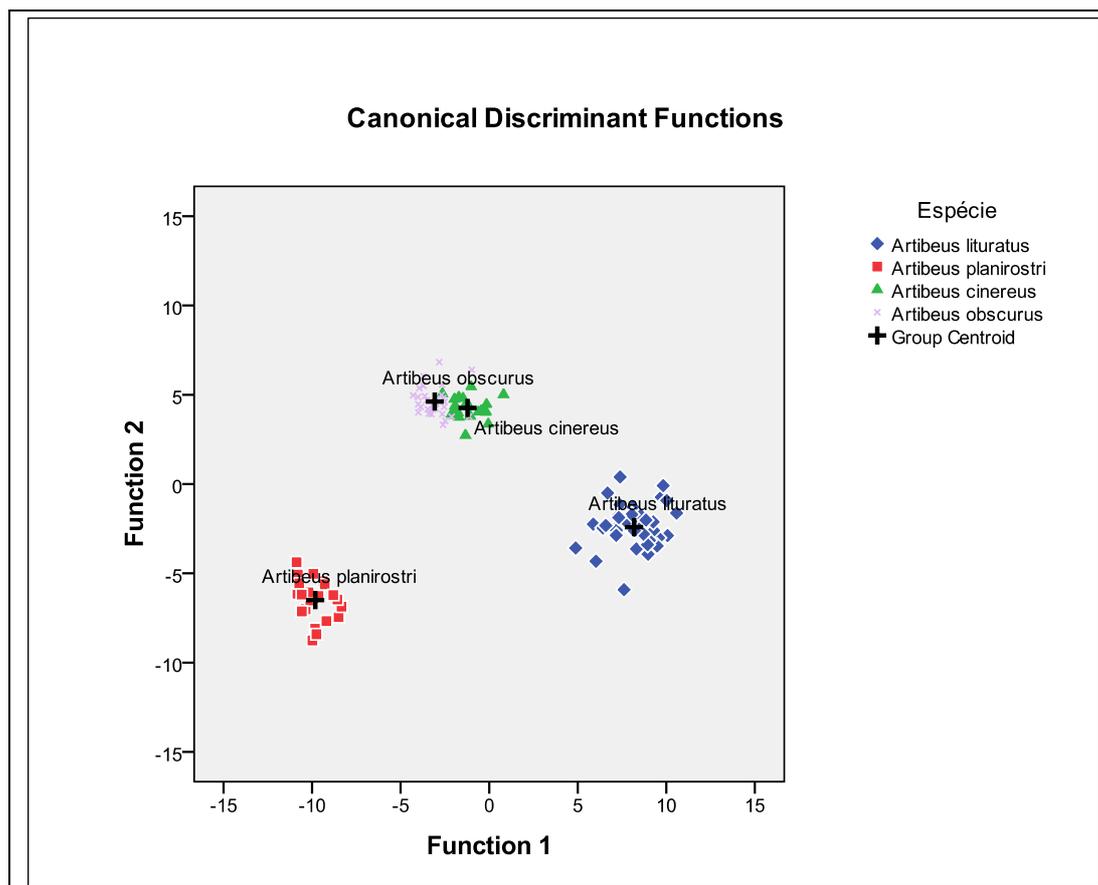


Figura 2 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas** selecionadas para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X). Os centróides estão representados por +.

A matriz de correlação entre as **variáveis morfológicas** e as funções discriminantes, como mostradas na tabela 3, sugere que a melhor variável que distingue as espécies *Artibeus lituratus* e *Artibeus cinereus* (primeira função discriminante) é o comprimento do antebraço, do terceiro metacarpo e presença de listra no rosto. A variável LISTRA apresenta baixa correlação com a primeira função discriminante, portanto, não apresenta forte influência na separação dos grupos. *Artibeus lituratus* apresenta maiores valores para o comprimento do antebraço (média=69,13), do terceiro metacarpo (média=23,24) e maior contagem de morcegos com presença de listra no rosto (contagem=29) comparado com a espécie *Artibeus cinereus*.

Esta matriz de correlação também sugere que a melhor variável que distingue *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus* das espécies *Artibeus lituratus* e *Artibeus*

cinereus (segunda função discriminante) são o comprimento da cabeça (-0,45) e do quinto metacarpo (-0,60), *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus* apresentam menores valores para as duas variáveis.

Tabela 4 – Matriz de correlação entre **as variáveis morfológicas** e as funções discriminantes.

	Function		
	1	2	3
ANTIBRA	,761*	,393	,148
TM	,495*	-,248	,219
LISTRA	,158*	-,124	,104
CB	-,045	,517*	-,109
QUIM	-,060	,387*	,065
PA	,042	,316	,717*
CC	,277	,264	,458*
TB	,366	,144	-,450*

Observa-se que as espécies *Artibeus planirostris* e *Artibeus obscurus* não foram separadas pelas duas primeiras funções discriminantes, por apresentarem um comportamento próximo em relação às **variáveis morfológicas** mais fortemente relacionadas com estas funções. Tem-se que a primeira função fornece a melhor separação entre os grupos (68,7%), enquanto a segunda oferece uma separação diferente da primeira e mais fraca (29,5%) e a terceira função oferece a separação mais fraca. Na figura 13, observa-se que a terceira função discriminante acaba separando estes grupos parcialmente, mas com uma fidedignidade mais fraca, pois, além de ser a última função discriminante, representa apenas 1,8 % da variabilidade entre os grupos.

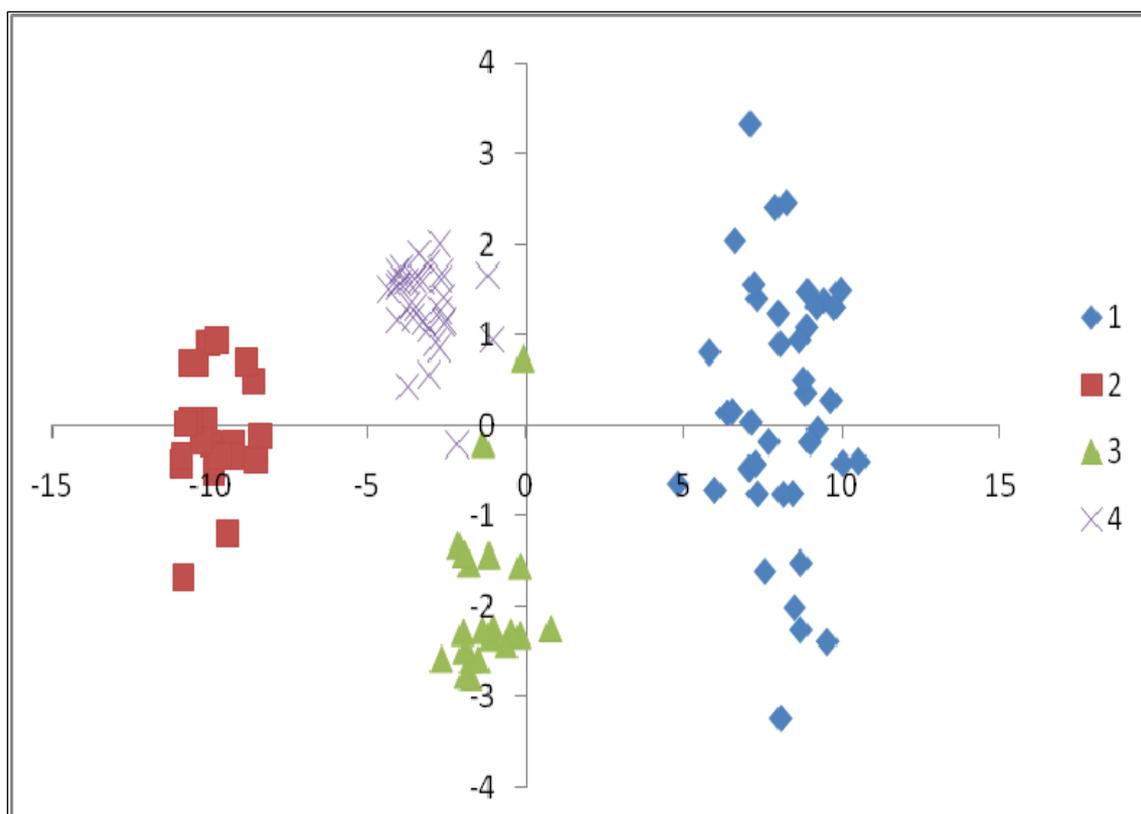


Figura 3 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas** selecionadas (primeira e terceira função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X).

A correlação entre as oito **variáveis morfológicas** presentes nas funções discriminantes, são apresentadas na tabela 4. Entre as 28 correlações apenas duas não se mostraram significativas ($\alpha=0,05$) quando testadas individualmente. A maior correlação significativa foi verificada entre TB e ANTEBRA ($r=0,903$), sugerindo que quando o comprimento do antebraço aumenta o comprimento da tíbia tende a aumentar fortemente, na proporção de mais ou menos 90%.

b) Variáveis cranianas:

As correlações entre as 3 variáveis cranianas presentes nas funções discriminantes estão apresentadas na tabela 5. A correlação mais significativa foi verificada entre as variáveis LMC e LMAN ($r=0,943$) e LMC e ANC ($r=0,929$), sugerindo que quando o comprimento máximo do crânio aumenta, a largura da

mandíbula tende a aumentar fortemente, na proporção de 94,3%. O mesmo ocorre para a largura craniana e comprimento máximo do crânio, tende a aumentar 92,9%.

Tabela 5 – Matriz de correlação entre as **variáveis cranianas** selecionadas.

	LMC	LCB	ALC	ANC	APO	cc1	LP	M2M2	LHMAX	LHMO	LMAN	LHMAN	ACM
LMC	1	,857	,894	,929	,716	,911	,881	,612	,904	,928	,943	,897	,836
LCB	,857	1	,777	,776	,552	,784	,701	,505	,761	,839	,839	,791	,861
ALC	,894	,777	1	,869	,716	,849	,832	,586	,882	,847	,902	,851	,749
ANC	,929	,776	,869	1	,761	,846	,900	,551	,920	,894	,917	,912	,749
APO	,716	,552	,716	,761	1	,697	,780	,449	,796	,735	,758	,769	,515
cc1	,911	,784	,849	,846	,697	1	,857	,623	,860	,859	,888	,827	,780
LP	,881	,701	,832	,900	,780	,857	1	,572	,884	,850	,888	,867	,672
M2M2	,612	,505	,586	,551	,449	,623	,572	1	,593	,596	,561	,515	,498
LHMAX	,904	,761	,882	,920	,796	,860	,884	,593	1	,902	,913	,910	,738
LHMO	,928	,839	,847	,894	,735	,859	,850	,596	,902	1	,927	,891	,818
LMAN	,943	,839	,902	,917	,758	,888	,888	,561	,913	,927	1	,944	,845
LHMAN	,897	,791	,851	,912	,769	,827	,867	,515	,910	,891	,944	1	,779
ACM	,836	,861	,749	,749	,515	,780	,672	,498	,738	,818	,845	,779	1

A tabela 6 apresenta uma matriz de correlação entre as variáveis selecionadas para cada função e suas funções discriminantes. A primeira coluna desta tabela é a correlação entre as variáveis cranianas e a primeira função discriminante; a segunda é a correlação entre as variáveis e a segunda função e a mesma lógica para a terceira coluna. As maiores correlações absolutas entre as variáveis e as funções discriminantes estão indicadas por asterisco.

Tabela 6 – Matriz de correlação entre as **variáveis cranianas** e as funções discriminantes

	Function		
	1	2	3
LMC	,577*	,387	-,457
LMAN	,498*	-,063	-,011
LHMAN	,377*	-,362	-,090
ANC	,366*	-,222	-,268
LHMAX	,349*	-,158	,111
LHMO	,318*	-,038	-,249
LP	,282*	-,117	,279
ALC	,279*	,127	,210
cc1	,297	,316*	,153
ACM	,188	,259*	-,181
LCB	,200	,246	-,431*
APO	,169	-,257	,260*
M2M2	,093	,228	,247*

A figura 4 mostra a primeira função discriminante (que explica 94,9% da variabilidade total entre os grupos) separa as espécies *A. planirostris* das demais espécies. E distinguindo, *A. lituratus*, deixando *A. obscurus* e *A. cinereus* bem próximas. Observa-se na tabela 6 que as variáveis LMC ($r=0,577$); LMAN ($r=0,498$); LHMAN ($r=0,377$); ANC ($r=0,366$); LHMAX ($r=0,349$); LHMO ($r=0,318$); LP ($r=0,282$) e ALC ($r=0,279$) são os caracteres que melhor discriminam as quatro espécies segundo a primeira função.

A segunda função discriminante (que explica 3,5% da variabilidade total entre os grupos) separa levemente as espécies *A. planirostris* e *A. lituratus* de *A. cinereus* e *A. obscurus*.

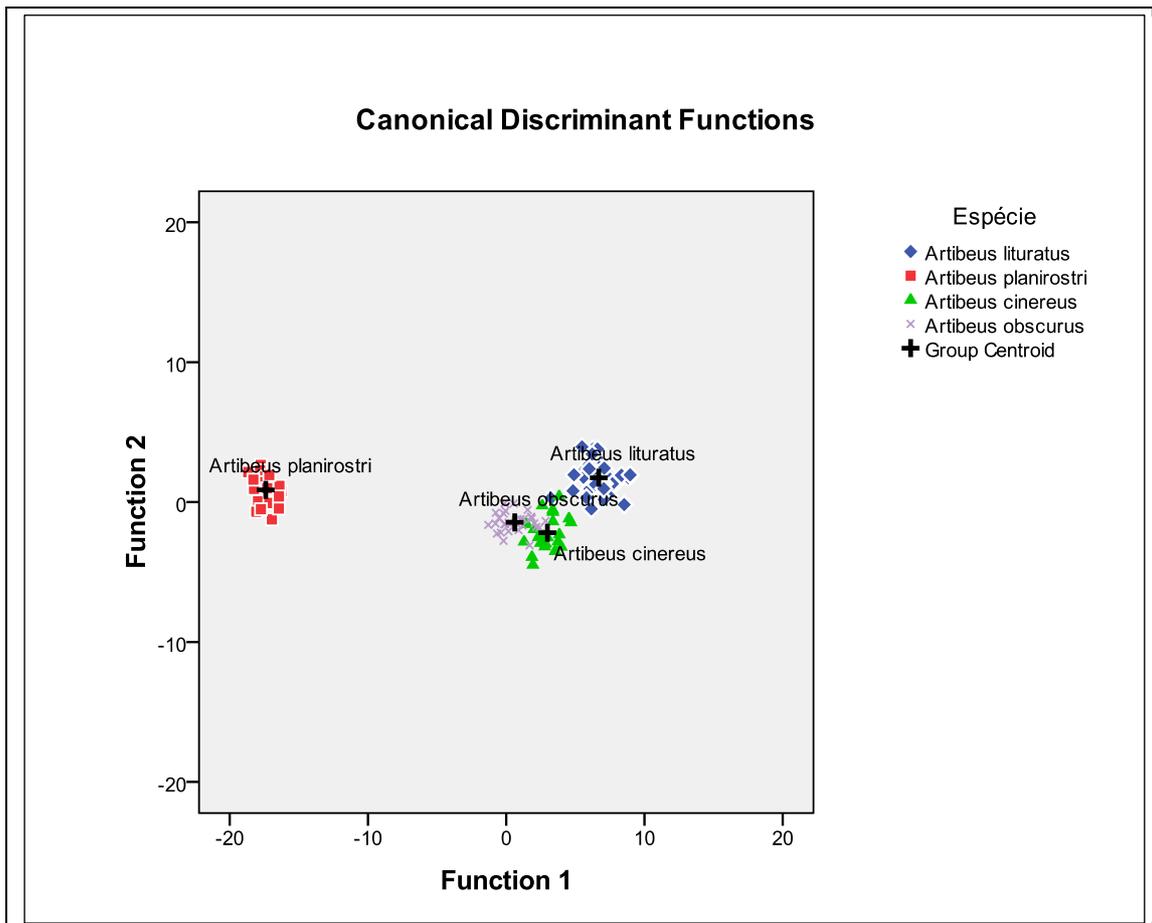


Figura 4 – Análise discriminante das **variáveis cranianas** selecionadas (primeira e segunda função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X). Os centróides estão representados por +.

A figura 5 mostra que a terceira função discriminante (que explica 1,6% da variabilidade total dos grupos) separa parcialmente as quatro espécies com os seguintes caracteres LCB ($r = -0,431$); APO ($r = 0,260$) e M2M2 ($r = 0,247$). Separa bem as *A. planirostris*, *A. lituratus* das demais espécies.

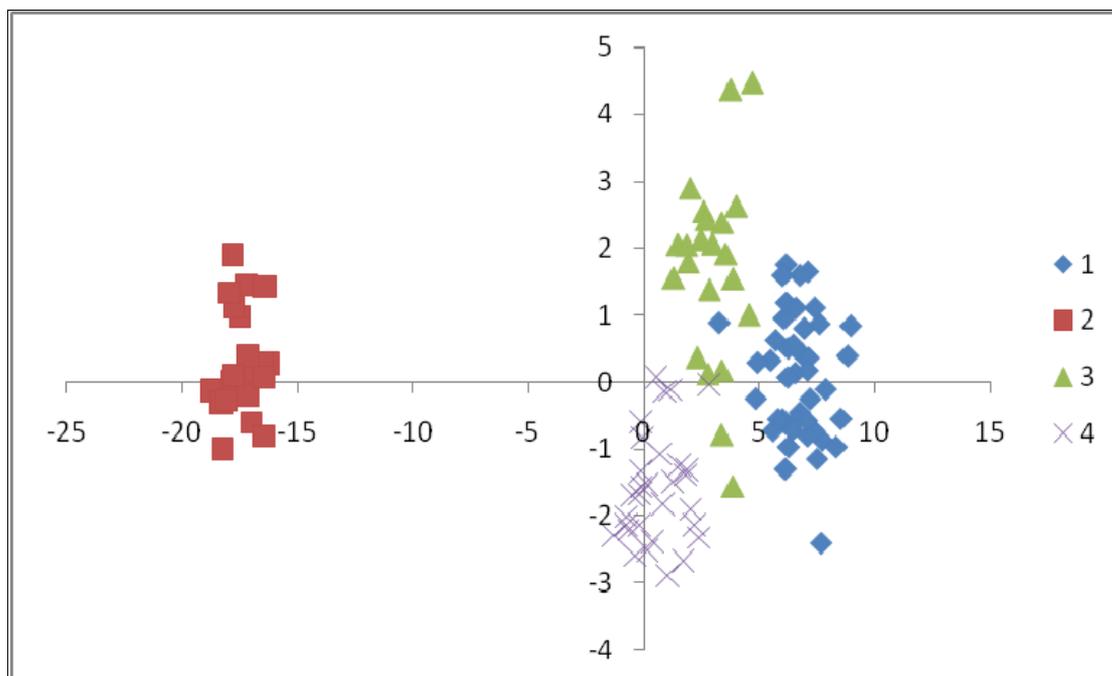


Figura 5 – Análise discriminante das **variáveis cranianas** selecionadas (primeira e terceira função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X).

Segundo as funções de classificação as amostras foram classificadas 100% corretamente, mas como geralmente eles funcionam bem na amostra do qual foram construídos, é desejável saber como eles funcionariam em outra amostra.

c) As variáveis morfológicas e cranianas mais importantes:

Uma análise discriminante *stepwise* foi realizada usando 21 variáveis, dentre as já escolhidas pelo mesmo método na análise de discriminante realizada separadamente para as variáveis morfológicas e cranianas. Estas variáveis selecionadas têm o objetivo de classificar as quatro espécies de morcegos do gênero *Artibeus*: *A. lituratus* (“1”), *A. cinereus* (“2”), *A. planirostris* (“3”) e *A. obscurus* (“4”). São elas: CC: comprimento que vai da ponta da cabeça até o final do corpo; CB: comprimento da cabeça;

ANTEBRAÇO: comprimento do antebraço; TB: comprimento da tíbia; PA: Comprimento da asa aberta às duas extremidades; LISTRA: presença ou ausência da listra no rosto (dicotômica); TM: comprimento do 3º metacarpo (osso do dedo); QUIM: comprimento do 5º metacarpo; LMC: Comprimento máximo do crânio; LCB: Comprimento côndilo basal; ALC: Altura da caixa craniana; ANC: Largura da caixa craniana; APO: Largura pós-orbital; cc1: Largura dos caninos; LP: Largura do palato; M2M2: Largura do palato a altura do segundo molar; LHMAX: Comprimento da fileira dental do maxilar; LHMO: Comprimento dos pré-molares e molares superiores; LMAN: Comprimento da mandíbula e LHMAN: Comprimento da fileira dental da mandíbula.

Das 117 observações originais, não houve presença de dados perdidos. Três observações foram identificadas como *outliers* multivariados e uma observação como *outliers* univariado com desvio-padrão em relação à média maior que três, portanto, estas foram excluídas. Três dos *outliers* são originados do grupo *Artibeus lituratus* e um do grupo *Artibeus planirostris*. Sobraram 113 casos distribuídos entre os grupos (39, 21, 21 e 31, respectivamente). A verificação das suposições de linearidade, normalidade, homogeneidade da matriz de variância-covariância e multicolinearidade não mostraram problemas para a análise multivariada.

Três funções discriminantes foram calculadas pelo método de seleção *stepwise*. Das 21 variáveis à disposição, temos uma separação confiável dos quatro grupos baseado na combinação de 14 variáveis.

Com as três funções discriminantes, temos um qui-quadrado combinado com 42 graus de liberdade (985,873), p-valor < 0,001. Após remover a primeira função discriminante, ainda tivemos forte associação entre os grupos e as variáveis, com qui-quadrado com 26 graus de liberdade (500,084), p-valor < 0,001. Estas duas funções

discriminantes apresentaram 77,1% e 20,7%, respectivamente, da variabilidade total entre grupos e apresentam correlação canônica bem próxima, igual a 0,996 e 0,984, portanto, estas duas foram usadas na análise.

Na figura 6 observa-se que a primeira função discriminante das variáveis morfológicas e cranianas mais importantes (explica 77,1% da variabilidade total dos grupos) separa *Artibeus lituratus* de *Artibeus planirostris*, posicionando os outros dois grupos em algum lugar entre esses dois. A segunda função (que explica 20,7% da variabilidade total dos grupos) discrimina os grupos *Artibeus planirostris* e *Artibeus cinereus* das restantes.

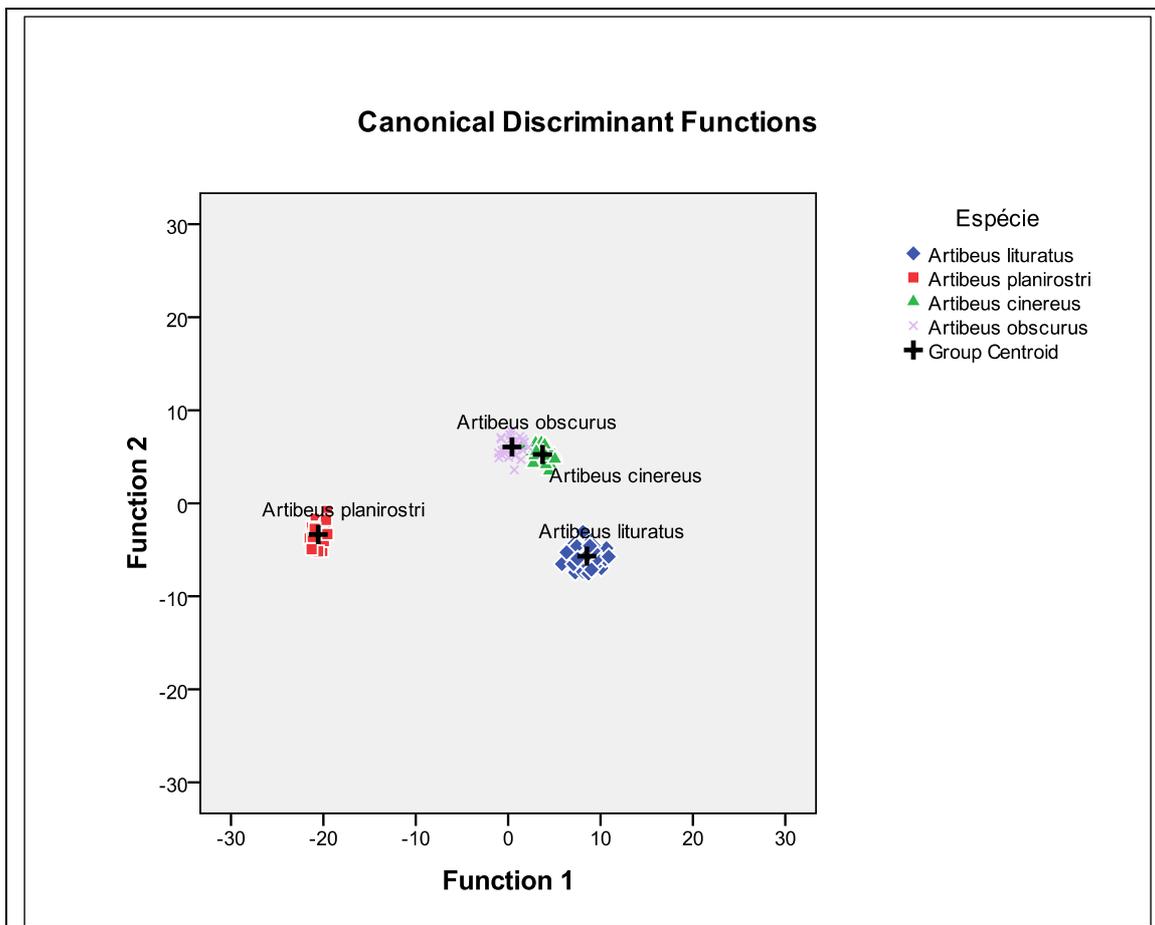


Figura 6 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas e cranianas** selecionadas (primeira e segunda função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostri* (quadrado) e *A. obscurus* (X). Os centróides estão representados por +.

A matriz de correlação entre as variáveis morfológicas e cranianas e as funções discriminantes, como mostrado na tabela 7, sugere que as melhores variáveis que distinguem *Artibeus lituratus* de *Artibeus planirostris* (primeira função discriminante) são o comprimento do antebraço, comprimento máximo do crânio, comprimento da mandíbula, comprimento da primeira fileira dental do maxilar, altura da caixa craniana, largura do palato e tamanho da tíbia. *Artibeus lituratus* apresenta maiores valores para o comprimento do antebraço (média=69,13), do comprimento máximo do crânio (média=31,17), e para o comprimento da mandíbula (média=21,08), tamanho da tíbia (média=25,62) e possui valores muito próximos das medições do *A. cinereus* nas seguintes variáveis: comprimento da primeira fileira dental do maxilar e altura da caixa craniana.

Tabela 7 - Matriz de correlação entre as **variáveis morfológicas e cranianas** e as funções discriminantes.

	Function		
	1	2	3
LMC	,513*	-,084	,448
ANTIBRA	,511*	-,158	,195
LMAN	,416*	,045	,038
LHMAN	,312*	,135	-,003
LHMAX	,291*	,059	-,097
ALC	,254*	-,021	-,104
LP	,243*	,036	-,187
TB	,239*	-,106	-,232
TM	,233	-,467*	,162
CB	,076	,400*	-,030
QUIM	,042	,314*	,066
PA	,083	,201	,474*
LCB	,171	-,035	,355*
APO	,138	,083	-,224*

Esta matriz de correlação também sugere que as melhores variáveis que distinguem *Artibeus cinereus* e *Artibeus obscurus* das espécies *Artibeus lituratus* e *Artibeus cinereus* (segunda função discriminante) são o comprimento da cabeça, do quinto metacarpo e o comprimento do 3º metacarpo.

Observa-se que as espécies *Artibeus cinereus* e *Artibeus obscurus* não foram separadas pelas duas primeiras funções discriminantes por apresentarem um comportamento próximo em relação às variáveis mais fortemente relacionadas com estas funções. Tem-se que a primeira função fornece a melhor separação entre os grupos, enquanto a segunda oferece uma separação diferente da primeira e mais fraca, e a terceira função oferece a separação mais fraca.

Na figura 7, observa-se que a terceira função discriminante acaba separando estas espécies parcialmente das demais, mas com uma fidedignidade mais fraca, pois, além de ser a última função discriminante, representa apenas 2,2 % da variabilidade total entre as espécies.

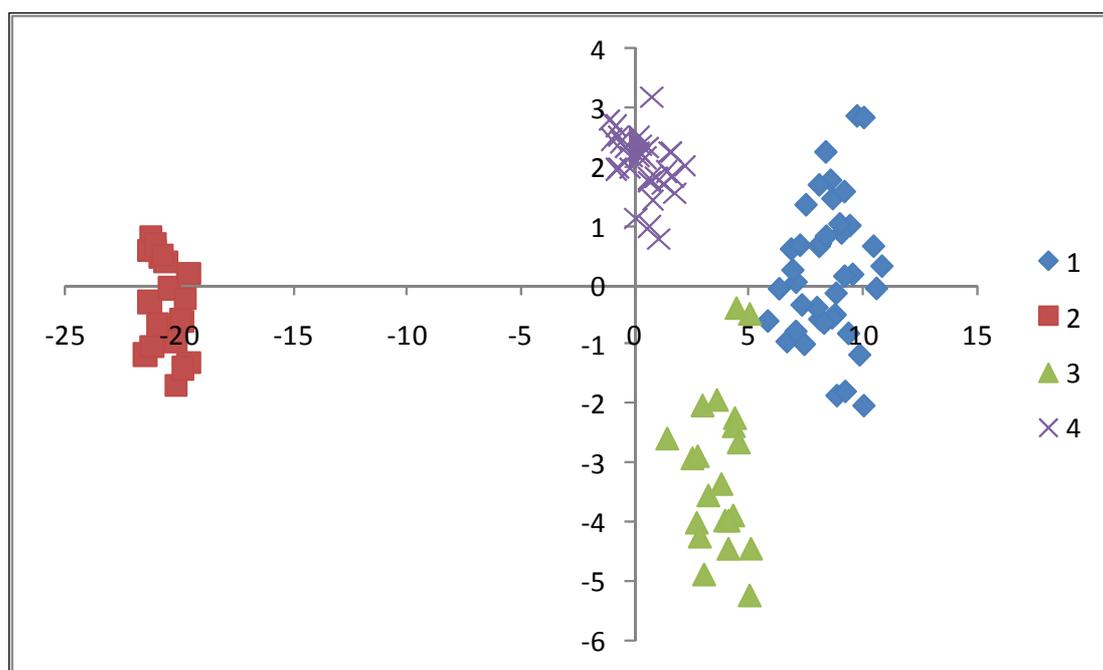


Figura 7 – Análise discriminante das **variáveis morfológicas e cranianas** selecionadas (primeira e terceira função) para *A. lituratus* (losango), *A. cinereus* (triângulo), *A. planirostris* (quadrado) e *A. obscurus* (X).

A correlação entre as 14 variáveis morfológicas e cranianas, presentes nas funções discriminantes é apresentada na tabela 8. A correlação significativa foi verificada entre LMAN e LHMAN ($r=0,943$), sugerindo que quando o comprimento da

mandíbula aumenta, o comprimento da fileira dental da mandíbula tende a aumentar fortemente, na proporção de mais ou menos 94,3%.

Tabela 8 – Matriz de correlação entre as variáveis morfológicas e cranianas selecionadas

	CB	ANTIBRA	TB	PA	TM	QUIM	LMC	LCB	ALC	APO	LP	LHMAX	LMAN	LHMAN
CB	1	,187	,117	,621	-,357	,835	,246	,169	,257	,480	,385	,372	,337	,459
ANTIBRA	,187	1	,903	,389	,781	,106	,968	,839	,910	,705	,879	,902	,931	,870
TB	,117	,903	1	,249	,745	,042	,865	,673	,855	,663	,839	,854	,844	,774
PA	,621	,389	,249	1	-,055	,624	,464	,418	,396	,395	,458	,502	,471	,538
TM	-,357	,781	,745	-,055	1	-,378	,724	,635	,649	,339	,560	,562	,607	,465
QUIM	,835	,106	,042	,624	-,378	1	,159	,074	,140	,378	,297	,286	,238	,335
LMC	,246	,968	,865	,464	,724	,159	1	,864	,895	,702	,888	,910	,944	,895
LCB	,169	,839	,673	,418	,635	,074	,864	1	,763	,546	,713	,758	,840	,794
ALC	,257	,910	,855	,396	,649	,140	,895	,763	1	,734	,858	,892	,908	,863
APO	,480	,705	,663	,395	,339	,378	,702	,546	,734	1	,767	,770	,746	,762
LP	,385	,879	,839	,458	,560	,297	,888	,713	,858	,767	1	,884	,894	,867
LHMAX	,372	,902	,854	,502	,562	,286	,910	,758	,892	,770	,884	1	,914	,905
LMAN	,337	,931	,844	,471	,607	,238	,944	,840	,908	,746	,894	,914	1	,943
LHMAN	,459	,870	,774	,538	,465	,335	,895	,794	,863	,762	,867	,905	,943	1

Na tabela 9 estão às funções de classificação usadas para classificar os casos nas quatro espécies. A estabilidade do procedimento de classificação foi verificada pelo procedimento de validação cruzada, que apontou que nenhum dos casos foi classificado incorretamente.

Tabela 9 – Coeficientes das funções de classificação

	ESPECIE\$			
	1,00	2,00	3,00	4,00
CB	2,710	2,695	5,853	5,801
ANTIBRA	17,017	9,567	15,505	14,892
TB	14,091	8,072	13,191	11,870
PA	-,030	,105	,014	,304
TM	-10,119	-9,268	-16,498	-16,627
QUIM	7,987	9,780	13,555	14,486
LMC	38,154	24,465	32,101	34,274
LCB	12,126	10,685	11,322	12,770
ALC	30,366	20,782	30,730	28,662
APO	34,869	21,853	35,096	31,855
LP	16,011	8,149	13,815	9,100
LHMAX	14,357	6,525	17,167	13,736
LMAN	45,548	25,947	45,290	42,217
LHMAN	26,705	15,698	30,036	27,474
(Constant)	-2695,236	-1054,578	-2487,065	-2323,233

DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

Histórico Taxonômico

A taxonomia e a sistemática do gênero *Artibeus* é extremamente complexa e muitos autores tem discutido a grande variação morfológica do gênero e a dificuldade na identificação dessas espécies em campo (TADDEI, 1998). Uma das maiores dificuldades é a sobreposição das medidas morfológicas usuais definidas por chaves de identificação, que muitas vezes, analisadas por um pesquisador com pouca experiência, acabam levando por uma identificação errônea das espécies. Erros desta natureza acabam refletindo na confiabilidade de registros e conseqüentemente na distribuição das espécies, principalmente as com bases em informações que estão disponíveis na literatura (KRAFT, 1982, 1983; HANDLEY, 1987 e 1989; KOOPMAN, 1993; LIM & WILSON, 1993; LIM, 1997, 2004; TADDEI *et al.*, 1998; MARQUES-AGUIAR, 1994).

A última revisão mais completa foi feita por MARQUES-AGUIAR (1994), onde a autora propôs uma hipótese filogenética das espécies *Artibeus fimbriatus* e *Artibeus obscurus* são os táxons com menor número de caracteres avançados, enquanto *Artibeus lituratus*, é a espécie mais distinta, com pelo menos cinco autopomorfias (caráter derivado e exclusivo do táxon).

Com base na falta de informações mais confiáveis na identificação das espécies do gênero *Artibeus*, este trabalho tentou apresentar informações sobre as características morfológicas de quatro espécies do gênero que ocorrem no DF, com o intuito de facilitar na identificação destas espécies.

Análise descritiva para as variáveis morfológicas e cranianas

Artibeus lituratus é a maior espécie do grupo estudado, principalmente por que tem, em relação às outras espécies, o maior tamanho das medidas de cabeça-corpo, antebraço, tibia e terceiro metacarpo. No entanto, há sobreposição dessas medidas com *A. obscurus* e *A. planirostris*. O comprimento do antebraço foi considerado isoladamente, uma característica que permite separar, relativamente bem, um elevado percentual dos espécimes, com uma faixa de superposição situada sempre ao redor de 10% a 20%. Comparando os dados deste trabalho com os estudados por (TADDEI, *et al.*, 1998), na região sudeste do Brasil, as espécies *A. lituratus*, *A. obscurus* e *A. jamaicensis* possuem comprimento do antebraço menor que os grandes *Artibeus* analisados neste estudo. Para os caracteres cranianos as medidas mostraram que os *Artibeus* de Distrito Federal tendem a serem maiores que o da região sudeste. Porém, LIM (1997), estudou exemplares da Venezuela e Nordeste da Guiana e a espécie *A. planirostris* apresentou o comprimento do crânio bem superior que as espécies do DF.

Artibeus obscurus, por outro lado apresenta maior média de envergadura, e maior média para o comprimento do quinto metacarpo. É menor que *A. planirostris*. Mas sua pelagem marrom escura, quase negra, muito longa particularmente na região dorsal. As listras faciais, na maioria das vezes, são apenas esboçadas ou reduzidas a uma pequena mancha clara próxima ao olho. As orelhas são notadamente escuras. Sendo assim, se diferencia de *A. planirostris* nessas características. (TADDEI, *et al.*, 1998), Usou essas características morfológicas para separar *A. obscurus* de *A. fimbriatus*. Uma outra característica que ele cita o apêndice nasal com as margens inferiores livre do focinho, que constitui uma característica partilhada com a espécie *A. jamaicensis*.

A fórmula dentaria das espécies *A. planirostris* e *A. obscurus* apresenta o mesmo número, porém, pode ocorrer polimorfismo com ausência do terceiro molar

(SIMMONS & VOSS, 1998). Em *A. lituratus* há registros de ocorrência de dentes extranumerários, incluindo um terceiro molar, o que torna esse caráter frágil na identificação da espécie (RUI & DREHMER, 2004).

A taxonomia e a sistemática do gênero *Artibeus* é extremamente complexa e muitos autores tem discutido a grande variação morfológica do gênero e a dificuldade na identificação dessas espécies em campo (TADDEI, 1998). Uma das maiores dificuldades é a sobreposição das medidas morfológicas usuais definidas por chaves de identificação, que muitas vezes, analisadas por um pesquisador com pouca experiência, acabam levando por uma identificação errônea das espécies. Erros desta natureza acabam refletindo na confiabilidade de registros e conseqüentemente na distribuição das espécies, principalmente as com bases em informações que estão disponíveis na literatura (KRAFT, 1982, 1983; HANDLEY, 1987 e 1989; KOOPMAN, 1993; LIM & WILSON, 1993; LIM, 1997, 2004; TADDEI *et al.*, 1998; MARQUES-AGUIAR, 1994).

As espécies *A. planirostris* e *A. obscurus* são as que possuem maior proximidade na morfometria, e *A. lituratus* e *A. cinereus* são os extremos amostrados do gênero. As medidas morfológicas que caracterizam os exemplares desse estudo estão de acordo com as empregadas para identificação correta das espécies (VIZZOTO & TADDEI, 1973) e, portanto, foram suficientes para caracterizar cada uma das espécies utilizadas.

Análise discriminante: Variáveis morfológicas e cranianas

Nesse trabalho foi possível verificar por meio de análise discriminante que as variáveis morfométricas e cranianas separadamente conseguem discriminar as quatro espécies de *Artibeus* avaliadas. Foi verificado que há nos *Artibeus* uma forte relação entre o comprimento máximo do crânio e a largura da mandíbula, e a largura craniana e comprimento máximo do crânio. Quando há aumento de um o outro também aumenta.

Ficou também bastante claro que com o uso das variáveis em conjunto há melhor discriminação das quatro espécies de *Artibeus*. Não há nenhuma evidência de que alguma variável sozinha consiga separar as espécies. A medida de antebraço separa *A. cinereus* de *A. lituratus*, e cada um desses, das outras duas espécies, mas há sempre sobreposição. Fica evidente nesse trabalho que não é muito fácil a identificação de espécies de *Artibeus* grandes e médios em campo.

Concluindo, as informações aqui apresentadas visam contribuir para a descrição das quatro espécies estudadas com ocorrência no Distrito Federal e entorno. É importante ressaltar que o conhecimento da variação das populações em diversas regiões do Brasil oferece melhores subsídios para a identificação das espécies do gênero *Artibeus*, mas ainda é necessária uma etapa de identificação feita com caracteres cranianos, para a separação das espécies intermediárias.

O gênero *Artibeus* possui diversas controvérsias em sua taxonomia e sistemática. Seriam necessários mais estudos em nível molecular e citogenético, de distribuição geográfica e análises de caracteres morfológicos e cranianos, abrangendo todas as regiões de distribuição, tanto no Brasil quanto na América do Sul para uma melhor separação das espécies em campo (LIM, 1997).

(LIM, 1997; LIM & WILSON, 1993; LIM *et al.*, 1999; 2003 e 2004), em seus trabalhos com o gênero, utilizando análises morfométricas conseguiu separar espécies como *A. planirostris* e *A. jamaicensis* que durante muitos anos foram consideradas espécies sinônimas. Os dados encontrados com o autor corroboram com os analisados aqui, apesar de que não foram utilizados os mesmos caracteres cranianos.

Concluindo, as informações aqui apresentadas visam contribuir para a descrição das quatro espécies estudadas com ocorrência no Distrito Federal e entorno. É importante ressaltar que o conhecimento da variação das populações em diversas

regiões do Brasil oferece melhores subsídios para a identificação das espécies do gênero *Artibeus*, mas ainda é necessária uma etapa de identificação feita com caracteres cranianos, para a separação das espécies intermediárias.

O gênero *Artibeus* possui diversas controvérsias em sua taxonomia e sistemática. Seriam necessários mais estudos em nível molecular e citogenético, de distribuição geográfica e análises de caracteres morfológicos e cranianos, abrangendo todas as regiões de distribuição, tanto no Brasil quanto na América do Sul para uma melhor separação das espécies em campo.

O trabalho visa contribuir para a caracterização das quatro espécies de *Artibeus* com ocorrência no DF, mostrando que a identificação das espécies em campo não garante uma identificação correta, mostrando a importância das variáveis cranianas na identificação dos grandes *Artibeus*

CAPÍTULO II – CITOGENÉTICA *Artibeus Lituratus*

INTRODUÇÃO

Os *Artibeus* são divididos em quatro subgêneros: *Artibeus*, *Dermanura*, *Enchistenes* e *Koopmania* (MARQUES-AQUIAR, 1994). O cariótipo da família Phyllostomidae vem sendo estudado desde a década de 60. PATTON & BACKER (1978) propôs que o cariótipo ancestral para a família $2n = 46$ e $NF = 60$. Análises citogenéticas de *Artibeus* tem apresentado resultados que mostram cariótipo $2n = 30$ em fêmeas e $2n = 31$ em machos, os autossomos são apresentados 10 metacêntricos ou submetacêntricos e quatro pares de subtelo-cêntricos (BAKER, 1973; BAKER, 1979; BAKER, et al., 1981; TUCKER, 1986; TUCKER & BICKHAM, 1986; ARAÚJO & SOUZA, 1995; VARELLA GARCIA et al., 1989; SOUZA & ARAÚJO, 1990).

Embora o gênero *Artibeus* seja caracterizado por exibir extenso conservadorismo cariotípico, foi descrita a presença dos sistemas sexuais múltiplos em *Artibeus aztecus*, *Artibeus glaucus*, *Artibeus hirsutus*, *Artibeus inopinatus*, *Artibeus jamaicensis*, *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris*, *Artibeus obscurus* e *Artibeus toltecus* e Neo-XY (*Artibeus phaeotis* e *Artibeus watsoni*) em seus representantes. Além disso, *Artibeus cinereus* exibiu dualismo quanto ao mecanismo de determinação sexual, visto que exemplares provenientes do Nordeste e Norte exibem sistema sexual (Neo-XY), contrastando com os indivíduos analisados por BAKER (1979); TUCKER (1986); SOUZA & ARAÚJO (1990), em Trinidad que corresponde a um exemplo de variação geográfica para esta espécie.

As diferenças são bem explicadas pela presença de sistema sexual XX-XY¹Y², neste gênero. O sistema sexual múltiplo XX-XY¹Y² do gênero *Artibeus* foi originado com uma translocação do cromossomo X com um pequeno autossomo acrocêntrico

(KASARAH & DUTRILLAUX, 1983; TUCKER & BICKHAM, 1986). Existe um consenso que o autossomo translocado corresponde ao braço curto do cromossomo X, desde que esta região tenha homologia de bandas C e RBA *replication bands* (onde se observou a presença de uma banda de replicação intermediária em relação ao braço curto e ao restante do X), com o autossomo livre de Y² (TUCKER, 1986).

Está hipótese, é sustentado também por estudos meióticos que demonstram um tipo autossomo emparelhado entre os cromossomos X e Y², onde é detectado um quiasma (TUCKER & BICKHAM, 1986; SOLARI & PIGOZZI, 1994). TUCKER (1986) propôs uma hipótese que explica a origem dos cromossomos sexuais na subfamília Stenodermatinae. A discussão sobre a origem do cromossomo X na família Phyllostomidae poderia ser um cromossomo acrocêntrico ou telocêntrico submetido primeiramente a uma translocação resultando em uma inserção do material autossomal dentro do braço longo do X.

Entretanto, não se fornece uma explicação para o destino do segmento autossomal homólogo para o material translocado. Seqüencialmente, outra translocação do X – autossomo causa a condição de XY¹Y² encontrada nas espécies da subfamília Stenodermatinae.

Existe um consenso geral entre os pesquisadores sobre a hipótese de TUCKER (1986), que fala da participação envolvendo os cromossomos autossomos e os sexuais (Xp e Y) na formação do sistema sexual múltiplo; e do comportamento meiótico de X, Y¹ e Y² com a formação de uma estrutura trivalente (TUCKER & BICKHAM, 1986; SOLARI & PIGOZZI, 1994; NORONHA, 2000). Todavia, recentemente, foi questionada a condição considerada primitiva para o X na família Phyllostomidae proposto por TUCKER (1986), com a formulação de uma hipótese alternativa.

RODRIGUES *et. al* (2003) sugere a alteração de alguns pontos descritos no trabalho de TUCKER (1986). Podemos citar:

- ❖ A falta de uma explicação sobre o autossomo homólogo àquele que foi translocado para o cromossomo X original (acrocêntrico);
- ❖ A utilização de um elemento acrocêntrico, representado pelo X em *Micronycteris hirsuta*, como referência à condição original do X para a subfamília Stenodermatinae;
- ❖ O fato de que o gênero *Micronycteris* possui alta variação cariotípica e que todas as espécies, com exceção de *Micronycteris hirsuta*, exibem o cromossomo X com dois braços.

Analisando os pontos citados, os autores verificaram que a morfologia acrocêntrica de X observada em *Micronycteris hirsuta* não poderia ser utilizada como uma condição ancestral, uma vez que esta característica está restrita a essa espécie como mencionado no estudo citogenético realizado por BAKER (1979). Além disso, a alta variabilidade do gênero *Micronycteris* permite inferir sobre a possibilidade de autapormofia – caráter derivado que está presente, exclusivamente, em um único táxon terminal - do elemento X nessa espécie, ou seja, uma característica derivada e exclusiva que está presente em um grupo terminal e essa característica o distingue dos demais.

Então, a rota alternativa proposta para a evolução do cromossomo X, que originalmente teria dois braços, envolveria inicialmente rearranjos, possivelmente uma fusão em *tandem* (centrômero – telômero), no autossomo homólogo ao Y², seguida da inativação do centrômero original (figura 1).

Isso explica, então, a presença da banda intersticial no Xq como sendo um material remanescente do centrômero inativo.

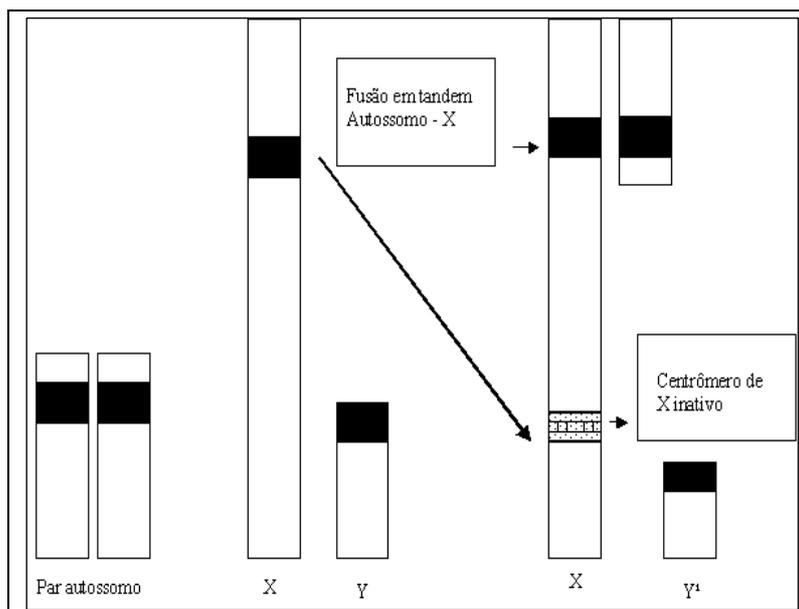


Figura 1: Esquema hipotético de provável origem do cromossomo X na subfamília Stenodermatinae. Fonte: Rodrigues *et. al.*, (2003).

SUMMER (2003) explica que na teoria clássica, os cromossomos sexuais heteromórficos evoluíram a partir de um par de autossomos homomórficos, cuja diferenciação cromossômica envolveu tanto a supressão de *crossing-over* dos cromossomos ancestrais quanto à subsequente degeneração do cromossomo Y nos indivíduos heterogaméticos. Estes eventos, portanto, estão envolvidos na origem do sistema simples de determinação dos cromossomos sexuais (XX; XY), que é o mais recorrente em mamíferos, sendo também o mais freqüente em morcegos.

Marcadores Cromossômicos: Técnicas de Bandeamento

O início da década de 70 representa o advento das técnicas de bandeamento cromossômico, em especial as bandas Q (quinacrina), G (GIEMSA) e R (reversa), que permitem a caracterização longitudinal dos cromossomos e a inferência de possíveis rearranjos em mamíferos (SUMMER, 2003).

Dentre as técnicas citogenéticas atualmente empregadas para a análise dos morcegos, destaca-se o bandeamento G (SEABRIGTH, 1971), que promove a diferenciação longitudinal dos cromossomos, permitindo o correto pareamento dos

homólogos. A digestão dos cromossomos com hidróxido de bário conhecida como Banda-C marcam as regiões de heterocromatina constitutiva (SUMMER, 1972); coloração com nitrato de prata (HOWELL & BLACK, 1980), que marcam as regiões organizadoras de nucléolos (RONs).

Dados da literatura, referentes aos morcegos, mostram que espécies estreitamente relacionadas freqüentemente apresentam padrões de banda G bastante conservados. Contudo, certa diferenciação ocorre quanto aos padrões de banda C e NORs. Estes marcadores cromossômicos, aliados aos estudos taxonômicos, têm ajudado em um melhor entendimento dos mecanismos evolutivos que são responsáveis pelas divergências encontradas nos diferentes grupos da ordem Chiroptera. A elucidação de aspectos relacionados à filogenia dos vários taxa, por exemplo, tornou-se possível pelo avanço e melhoramento de tais marcadores citogenéticos (VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989; SOUZA & ARAÚJO, 1990; SANTOS & SOUZA, 1998; RODRIGUES *et al.*, 2000; NEVES *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2002).

Heterocromatina – Bandeamento C

BROWN, em 1966, fez uma revisão do que se conhecia sobre heterocromatina e concluiu haver pelo menos dois tipos distintos, que ele chamou de heterocromatina constitutiva e heterocromatina facultativa.

A constitutiva se caracteriza por permanecer condensada durante todo o ciclo celular do indivíduo, geralmente concentra-se em blocos nos cromossomos. Aparece em ambos os homólogos, na mesma posição e o com o mesmo tamanho; não contém genes estruturais, é o local onde se situa se não todo, ao menos a maior parte do DNA satélite, embora a heterocromatina constitutiva não seja formada exclusiva de DNA satélite (GUERRA, 1988).

A heterocromatina facultativa é por definição um tipo de cromatina que ora se comporta como heterocromatina (mantém-se condensada durante a interfase, apresenta replicação tardia e ausência de expressão gênica), ora como uma típica eucromatina. Além disso, distingue-se da constitutiva pelas seguintes características: a) aparece em apenas um dos homólogos de cada par de cromossômico; b) envolve todo o cromossomo e não apenas blocos; c) não possui nenhuma particularidade quanto à composição do DNA. Na verdade, a composição dessa heterocromatina é típica de eucromatina, não sendo nem rica em DNA satélite nem carente de genes (GUERRA, 1988).

O bandeamento C com GIEMSA é o procedimento mais importante para evidenciar a heterocromatina constitutiva nos cariótipos e núcleos de diferentes organismos eucariotos. Nesta técnica, o tratamento com HCL 0,2N; BA (OH)₂; 2 x SSC, modifica a estrutura do cromossomo, resultando na extração preferencial de proteínas e DNA das regiões eucromáticas, fornecendo assim um padrão característico de bandas. Provavelmente, este mecanismo está associado a peculiaridades inerentes a HC, sobretudo às proteínas não-histônicas, que formam um complexo que dificulta a retirada de DNA heterocromático. Apesar da eficiência em evidenciar regiões heterocromáticas, o bandeamento C não revela todos os tipos de HC ou, ainda, estas podem se apresentar fracamente ou não totalmente coradas (SUMMER, 2003).

A ocorrência preferencial da HC é descrita em determinadas regiões dos cromossomos, em particular nos centrômeros ou nas suas proximidades (pericentromérica ou paracentromérica), formando blocos de tamanho variável de acordo com o grupo analisado. Segmentos heterocromáticos também foram descritos nas regiões teloméricas e, em menor número, intersticiais de algumas espécies (SUMMER, 2003).

A ordem Chiroptera apresenta conteúdo reduzido de heterocromatina constitutiva em relação ao genoma da maioria das espécies (VAN DEN BUSSCHE *et al.*, 1995). Também apresenta, blocos heterocromáticos localizados na maioria das vezes nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos do complemento têm sido descritos como regra geral. Dentre a ordem há os que exibem um padrão de distribuição de HC restritos às proximidades do centrômero, como nos fillostomídeos - *Phyllostomus hastatus*, *Phyllostomus discolor*, *Phyllostomus elongatus* (VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989; SANTOS & SOUZA, 1998; RODRIGUES *et al.*, 2000; ESTEVAM, 2005), *Chrotopterus auritus* (MORIELLE-VERSUTE *et al.*, 1996), *Anoura caudifer*, *Chiroderma villosum*, *Chiroderma doriae* (VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989), *Lonchorhina aurita* e *Trachops cirrhosus* (BARROS, 2006), nos molossídeos *Molossus molossus* e *Molossus ater* (LEITE-SILVA *et al.*, 2003) e nos vespertionídeos: *Pipistrellus pipistrellus*, *Pipistrellus kuhlii*, *Pipistrellus nathusii*, *Glischropus tylopus* e *Lasiurus borealis* (VOLLETH *et al.*, 2001).

Contudo, a presença de heterocromatina também tem sido verificada nas regiões intersticiais e/ou teloméricas de algumas espécies, a exemplo de *Carollia perspicillata*, *Choeroniscus minor*, *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris*, *Artibeus jamaicensis*, *Artibeus cinereus*, *Diaemus youngi*, *Desmodus rotundus*, *Diaemus youngi*, *Desmodus rotundus*, *Diphylla eucadata*, *Anoura caudifer*, *Glossophaga soricina*, *Mollossops planirostris*, *Sturnira lilium* e *Platyrrhinus lineatus* (SOUZA & ARAÚJO, 1990; SANTOS & SOUZA, 1998; VOLLETH *et al.*, 1999; NEVES *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2001; LEITE-SILVA *et al.*, 2003). Embora tenham sido descritas diferenças na quantidade e localização dos sítios heterocromáticos, tais alterações não desempenham papel significativo de variação cromossômica em morcegos (VAN DEN BUSSCHE, *et al.*, 1995).

A análise de heterocromatina em espécies do gênero *Artibeus* tem sido de grande valia na diferenciação de espécies que são morfológicamente idênticas. A localização da HC está presente nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos, e nos telômeros (braço curto) dos subtelocentroméricos 5, 6, 7,9 e X das espécies *A. cinereus*, *A. lituratus* e *A. jamaicensis*. Esta, adicionalmente, mostrou blocos intersticiais nos braços longos dos cromossomos 1, 2, 3 e blocos teloméricos nos braços do par 13. Em todas as espécies analisadas verificou-se a coloração diferencial da eucromatina do X, quando comparada com a do complemento cromossômico. Os acrocêntricos Y¹ e Y² mostraram-se quase inteiramente heterocromáticos, principalmente o Y original (SOUZA & ARAÚJO, 1990; SOUZA & SANTOS, 1998).

Regiões Organizadoras de Nucléolos – RONS

Nos eucariotos, os genes de DNA ribossômico (DNAr) estão organizados em duas famílias gênicas diferentes: a principal codifica o DNAr 45S (18S, 5,8S e 28S), e outra que codifica o DNAr 5S. Os genes principais do DNAr estão ligados a sítios cromossômicos específicos nos pares homólogos, conhecidos como regiões organizadoras de nucléolos (RONS) que estão envolvidas com a transcrição do RNA ribossômico. Os genes do DNAr 5S tendem a se inserir em apenas um dos pares cromossômicos. Ambas as famílias de DNAr estão presentes em numerosas cópias de unidades repetitivas (PENDÁS *et al.*, 1993; MARTÍNEZ *et al.*, 1996; SUZUKI *et al.*, 1996; MÄKINEN *et al.*, 1997; MARTINS & GALETTI, 1998; SUMMER, 2003).

As regiões organizadoras de nucléolos são ferramentas úteis para o estudo da organização estrutural e funcional dos cromossomos, sendo consideradas importantes no entendimento dos mecanismos evolutivos. O tratamento do material citológico com nitrato de prata (AgNO₃) é o método citogenético mais comumente utilizado para detectar a posição das RONS (Ag-RON). Esta técnica exhibe alta seletividade ao

evidenciar as RONS presentes na interfase nuclear, nos cromossomos meióticos e mitóticos. Entretanto, há uma limitação inerente a essa técnica, visto que apenas as RONS que se encontravam transcricionalmente ativas na interfase anterior são impregnadas com o corante, devido a reação do nitrato de prata com as proteínas ácidas (ribonucleoproteínas) residuais associadas ao DNAr. Dessa forma, o uso da Ag-RON é mais eficaz no estudo da expressão e não na localização dos genes ribossomais (PENDÁS, *et al.*, 1993; SUMMER, 2003).

A relação entre as RONS e as constrições secundárias tem sido relatada em alguns grupos de animais, particularmente em indivíduos da família Vespertilionidae (MORIELLE & VARELLA-GARCIA, 1988; SANTOS & SOUZA, 1998; SANTOS *et al.*, 2002; SUMMER, 2003).

A condição considerada ancestral para os filostomídeos é a incidência de RONS em um único par de autossomos. Esta hipótese baseia-se na presença dessa característica em indivíduos da subfamília Macroptinae, considerada a mais primitiva, e nos noctilionídeos da subfamília Macroptinae, considerada a mais primitiva, e nos noctilionídeos, que compreendem um grupo externo, estritamente relacionado a esta família. Desse modo, MORIELLE-VERSUTE & VARELLA-GARCIA (1988) sugeriram que a presença de RONS múltiplas descritas em algumas espécies da subfamília Stenodermatinae, particularmente dos gêneros *Chiroderma* e *Artibeus*, cuja características mais freqüentes é a presença de RONS em três pares autossômicos, tenham origem na fragmentação e amplificação das seqüências de DNAr. A análise de indivíduos da ordem Chiroptera com a técnica Ag-RON permitiu concluir que esses organismos apresentam uma das maiores variabilidades em relação ao número de RONS entre os mamíferos, especialmente quando se considera as espécies *Myotis myotis* (Vespertilionidae) que exibem RONS em 14 pares autossômicos (MORIELLE &

VARELLA-GARCIA, 1988; SOUZA & ARAÚJO, 1990; SANTOS *et al.*, 2002; BARROS, 2006).

Dois padrões de distribuição das RONS foram distinguidos no gênero *Artibeus* através de Ag-RON: (1) nas regiões distais dos braços curtos dos pares 5,6 e 7, em *Artibeus lituratus*, *Artibeus jamaicensis* e *Artibeus fimbriatus*, e (2) na região intersticial dos braços longos dos pares 10 e 13 em *Artibeus cinereus*. Um sítio adicional foi observado na região intersticial do braço longo do par 5 de *Artibeus fimbriatus* (SANTOS *et al.*, 2002). Considerando a atividade dessas estruturas no gênero *Artibeus*, tem sido observada uma variabilidade intra-específica e inter-específica nas espécies de *Artibeus lituratus* e *Artibeus jamaicensis*, com média de quatro a cinco cromossomos marcados (MORIELLE & VARELLA-GARCIA, 1988; SOUZA & ARAÚJO, 1990).

Apesar de ser considerada uma condição incomum, a presença de RONS em cromossomos sexuais foi observada em alguns mamíferos, incluindo duas espécies da ordem Chiroptera, *Carollia perspicillata* e *Carollia castanea*, que apresentam RONS nos cromossomos sexuais: X (*Carollia perspicillata* e *Carollia castanea*) e Y (*Carollia castanea*). Uma particularidade é encontrada nos machos de *C. perspicillata* que apresentam possivelmente uma redução de 50% nas seqüências de DNAr (MORIELLE & VARELLA-GARCIA, 1998; SANTOS & SOUZA, 1998).

Estudos realizados em espécies da família Phyllostomidae envolvendo a variabilidade de número de RONS ativas por células, mostraram que as freqüências das marcações por metáfases diferiram significativamente entre indivíduos e espécies com RONS múltiplas. Por outro lado, espécies que possuíam apenas um único par de RONS por células, não foi observada nenhuma variabilidade. As diferenças observadas na localização e número das RONS indicam que estas são *hotspots*, freqüentemente envolvidos em rearranjos cromossômicos que podem ser utilizados como instrumentos

para a avaliação de relações filogenéticas (SOUZA & ARAÚJO, 1990; SANTOS *et al.*, 2002).

OBJETIVOS

Analisar citogeneticamente a espécie *Artibeus lituratus*, que ocorre na cidade de Brasília, Distrito Federal, para colaborar no entendimento sobre a biologia dessa espécie. Neste sentido e com base no exposto na introdução: Analisar a morfologia cromossômica da espécie da *Artibeus lituratus* que ocorre em Brasília; descrever o cariótipo e proceder ao bandeamento C, G da espécie estudada e comparar os resultados com os previamente publicados para outras áreas e investigar se há algum grau de diferenciação nas populações em estudo no Cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Análises Citogenéticas

Espécie

Foi analisada uma espécie de morcegos do gênero *Artibeus*, pertencentes à família Phyllostomidae e subfamília Stenodermatinae (*Artibeus lituratus*).

Coleta

Foram utilizadas redes de neblina como método de amostragem para a captura dos indivíduos. Este método é apropriado para capturas de morcegos frugívoros.

As amostragens foram feitas durante um período de seis meses. Foram totalizadas 480 horas de amostragem. Foram utilizadas duas redes sempre dispostas em locais de abrigo e alimentação da espécie estudada.

Os indivíduos coletados (Licença IBAMA número 10795-1, de 03 de setembro de 2007), foram utilizados para as análises citogenéticas e morfológicas e serão depositados na Coleção Científica de Chiroptera da EMBRAPA Cerrado.

**Protocolo de citogenética de morcegos segundo FORD & HARMERTON (1956),
com adaptações.**

Preparação cromossômica a partir da medula óssea:

1. Injetar intraperitonealmente solução de colchicina a 0,01%, na razão de 0,1ml por de 10g de peso do animal;
2. Após o período que varia entre 40 minutos a 1 hora, deve-se sacrificar o animal com éter. Dissecar o braço e retirar os restos de tecidos nele aderido e cortar as epífises;
3. Usando uma seringa, fazer lavagens sucessivas do canal ósseo, com cerca de 10 ml de solução hipotônica de cloreto de potássio 0,075M (anexo I), até a retirada da medula que é recolhida em um tubo de ensaio;
4. Incubar em banho-maria a 37°C, por 25 a 30 minutos;
5. Suspender o material e completar com de fixador Carnoy (mistura de metanol e ácido acético, na proporção de 3:1), preparar no momento do uso e pipetar. Centrifugar a 1000rpm por 5 minutos;
6. Repetir o procedimento anterior três vezes, fazendo a uma lavagem das células com 10 ml de fixador;
7. Após uma nova centrifugação, colocar um volume menor de fixador que pode variar de 2 a 4 ml, dependendo da quantidade de sedimento obtido. Pipetar;
8. O material pode ser guardado nos tubos devidamente identificados na geladeira e as lâminas devem ser preparadas no dia seguinte;
9. As lâminas devem estar bem limpas. Para esse procedimento é necessário deixá-las imersas por 24 horas no KOH. Lavá-las sabão de coco e a ajuda de um pano limpo que auxiliará na retirada dos sedimentos e gordura das

lâminas. Deixá-las imersas em etanol ou água destilada na geladeira;

10. Mergulha a lâmina no etanol 100%, depois preparar o material na pipeta, pingar 2 gotas, encostar levemente a lâmina na chama e retirar e esperar o fogo apagar, colocar para secar;
11. Todos os procedimentos descritos nesta seção foram registrados no protocolo de numeração e procedimentos.

Técnicas de Bandeamento Cromossômico:

Coloração convencional com GIEMSA

1. Preparar uma solução de GIEMSA 2% fosfato, pH 6,8;
2. Corar as lâminas pipetando a solução até que a lâmina fique totalmente coberta durante 7 minutos; e
3. Lavar as lâminas em água destilada e deixá-las secar.

Bandeamento G

1. Lâminas com 3 dias de fixação devem ser imersas em solução de álcool metílico 50% por dois minutos;
2. Lavar em água destilada, por dois minutos e transferi-las para uma solução tampão Sorensen pH 6,8, onde permaneceram por cerca de quinze a trinta minutos;
3. A seguir as lâminas devem ser imersas em solução de tripsina 1:250 (DIFCO) a 0,2%, tamponada com solução salina de PBS, por um tempo variável de cinco a vinte segundos, dependendo do período decorrido após a fixação do material;
4. O excesso de tripsina deve ser retirado imergindo a lâmina em solução salina de PBS, a seguir corar o material, com solução a 2% de GIEMSA tamponada, por oito minutos e lavado com água destilada.

- **Bandeamento C**

1. Lâminas com mais de 2 dias de fixação devem ser submetidas à hidrólise em HCl 0,2 N à temperatura ambiente, durante 30 minutos;
2. A seguir, as lâminas devem ser lavadas em água destilada e submetidas ao tratamento com hidróxido de bário a 5%, sendo mantidas a 60°C, por tempo variável de 15 a 25 minutos;
3. Após esse procedimento, lavar o material em água destilada e passar rapidamente em HCl 1 N em banho-maria a 60°C;
4. Incubar as lâminas em 2xSSC pH 7,0 a 60°C durante 20 minutos e lavar em água destilada;
5. Colocar para secar e corar em solução tamponada de GIEMSA a 2%, pH 6,8 durante 30 minutos;
6. Lavar com água destilada e secar ao ar.

Fixação e identificação dos indivíduos:

1. Os indivíduos devem ser fixados com formol 10% e mantidos por um dia em recipiente fechado;
2. O material posteriormente é guardado em vidros com álcool 70% e devidamente identificados com etiqueta contendo as seguintes informações, nome da espécie; data de coleta, local da coleta, sexo e nome do coletor.

Análise das lâminas:

1. As lâminas coradas com coloração convencional devem ser analisadas em microscópio de luz, na pesquisa das melhores metáfases para se fazer a identificação dos cromossomos e fotografar.

RESULTADOS

Coletas

Foram coletados 20 indivíduos e duas espécies em quatro localidades de Brasília/DF conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1: Número de indivíduos por espécies coletadas e suas respectivas localidades.

Espécie	Nº. de indivíduos coletados	Localidade	Sexo
<i>Artibeus lituratus</i>	4	QI 11 Lago Sul	Macho
<i>Artibeus lituratus</i>	2	QI 11 Lago Sul	Fêmea
<i>Artibeus lituratus</i>	4	SQN 209	Macho
<i>Artibeus lituratus</i>	1	SQN 209	Fêmea
<i>Artibeus lituratus</i>	3	Fazenda Água Limpa - FAL/UnB	Fêmea
<i>Artibeus lituratus</i>	5	Fazenda Água Limpa - FAL/UnB	Macho
* <i>Artibeus cinereus</i>	1	Estação Ecológica do IBGE	Fêmea

* Não obteve resultados significativos.

A tabela 2 mostra que a maior parte dos indivíduos coletados tem suas atividades das 18 até 21 horas. Sendo que o início da noite entre 18 e 19 horas é o melhor horário para as coletas.

A maioria dos indivíduos coletados era de machos e pertencem à espécie *Artibeus lituratus*. Foi coletada apenas uma fêmea de *Artibeus cinereus* e não foram obtidos resultados significativos, sendo assim não compõe parte deste trabalho.

Análises citogenéticas:

Foram analisados 19 indivíduos de morcegos da *Artibeus lituratus*, 13 machos e seis fêmeas.

Para a espécie *Artibeus lituratus* foram analisadas 1039 metáfases dos indivíduos machos e 370 das fêmeas. A figura 2 mostra o número de metáfases analisadas de machos da espécie *Artibeus lituratus*. E a figura 3 mostra para as fêmeas da espécie *A. lituratus*.

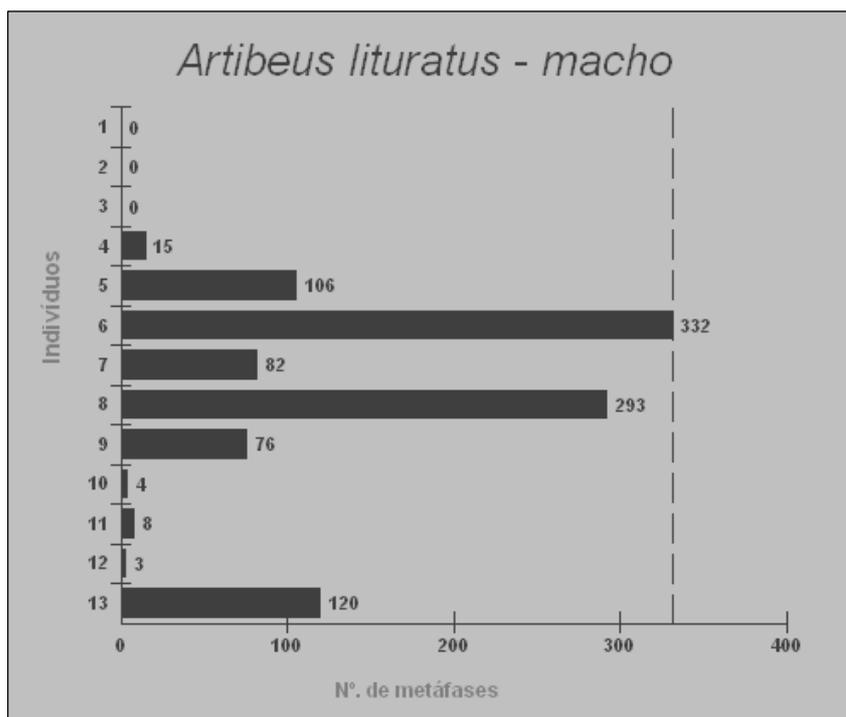


figura 2: Número de metáfases analisadas de *Artibeus lituratus* (macho) – coloração convencional GIEMSA.

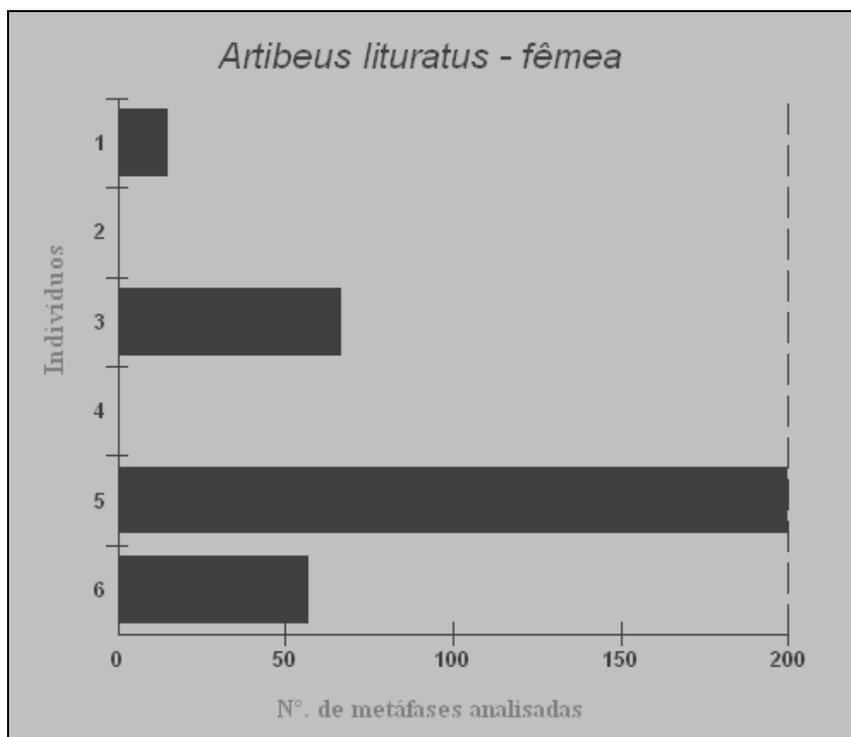


Figura 3 – Número de metáfases analisadas de *Artibeus lituratus* (fêmea) – coloração GIEMSA.

A coloração convencional permitiu a visualização do número diplóide, a morfologia cromossômica e a determinação do sistema sexual dos cariótipos analisados

para a espécie *Artibeus lituratus*. A espécie apresentou número diplóide $2n = 30$, XX; 31 XY^1Y^2 (figuras 4 e 5) e o número fundamental igual a ($NF = 56$), compreendendo 3-4 pares de cromossomos metacêntricos, 6-7 pares de cromossomos submetacêntrico e 2-3 pares de cromossomos acrocêntricos. O X é submetacêntrico os autossomos Y^1 e Y^2 , apresentam morfologia acrocêntrica (figuras 7 e 8).

Das 1039 metáfases analisadas, verificou-se que aproximadamente 50% das metáfases possuem 31 cromossomos para os machos de *Artibeus lituratus*. Esta informação pode ser observada na figura 4.

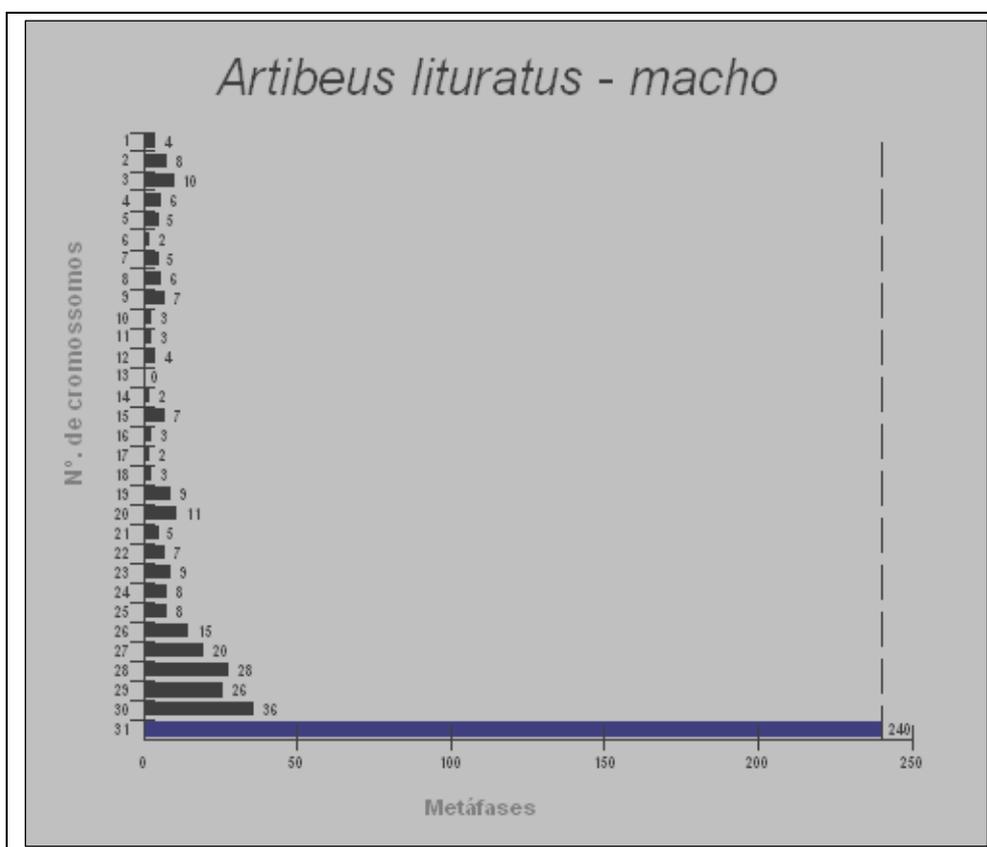


Figura 4: Número de cromossomos por metáfases analisadas de *Artibeus lituratus* (macho).

Para as fêmeas, verificou-se que mais de 60% das metáfases possuem 30 cromossomos para os machos de *Artibeus lituratus*. Esta informação pode ser observada na figura 5.

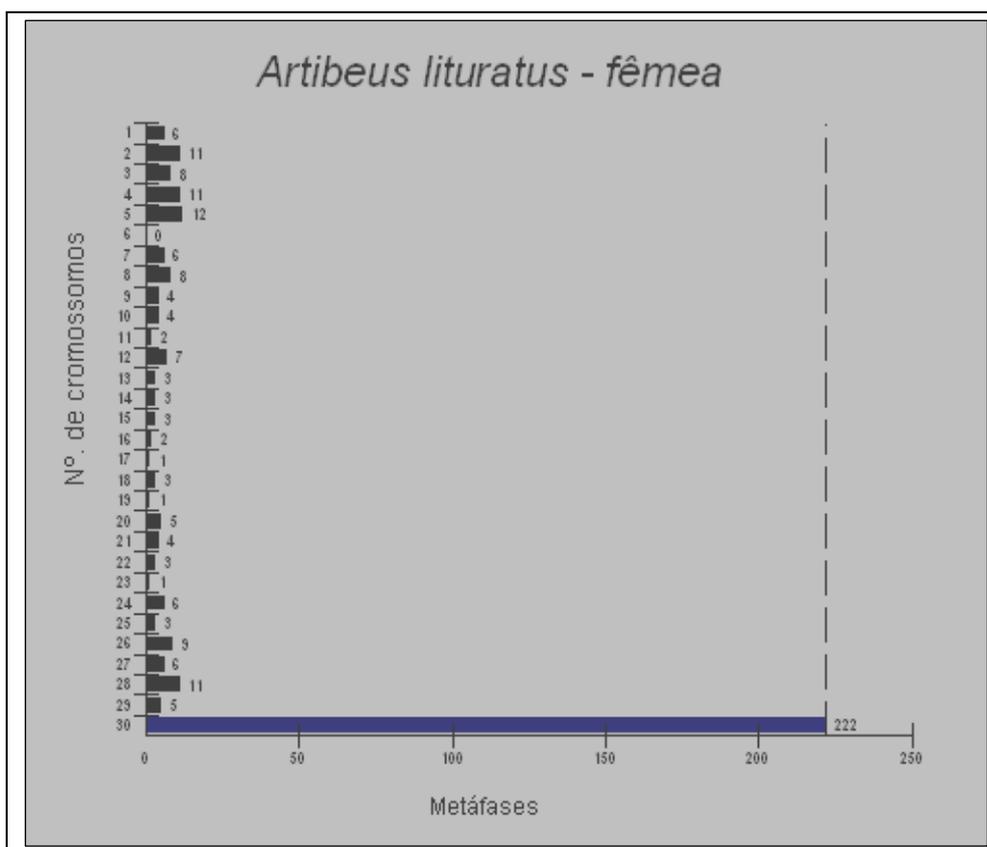


Figura 5: Número de cromossomos por metáfases analisadas de *Artibeus lituratus* (fêmea).

Dos padrões de banda G

Foram feitas análises envolvendo a identificação de pares homólogos da espécie *Artibeus lituratus*. Observa-se pequenas variações estruturais na morfologia dos cromossomos, padrões das bandas e o padrão cariotípico da espécie possibilitando comparações com populações de outras localidades. Os cariótipos Banda-G para machos e fêmeas de *Artibeus lituratus* estão representados na figura 6.

Dos padrões de banda C

O bandeamento C evidenciou blocos de heterocromatina constitutiva (HC) nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos, além de pequenos blocos de HC na região telomérica dos pares 5, 6, X e Y¹ Y² para a espécie *Artibeus lituratus*. No cromossomo 3, além da região centromérica, foi observada blocos de HC em parte do

braço q. Nos pares 4 e 5 os blocos de HC encontram-se centrômero e região telomérica, no par 6 além do centrômero é observado em um dos cromossomos coloriu também os braços p e q. No par 9 foi observado além do centrômero, blocos de HC no braço p.

O Y^2 apresentou um padrão quase inteiramente heterocromático. Já o Y^1 não pode ser determinado com precisão devido ao seu formato puntiforme (ver figuras: 7 e 8). Os resultados obtidos possibilitaram verificar os padrões de banda C observados no complemento cromossômico da espécie. Estes resultados podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2 – Padrão de HC no complemento cromossômico da espécie *Artibeus lituratus*.

Padrão de Banda C				
Pericentromérico	Telomérico (p)	Intersticial	Disperso	Distal
Todos os cromossomos	5,6 e X, Y^2	9	6	3

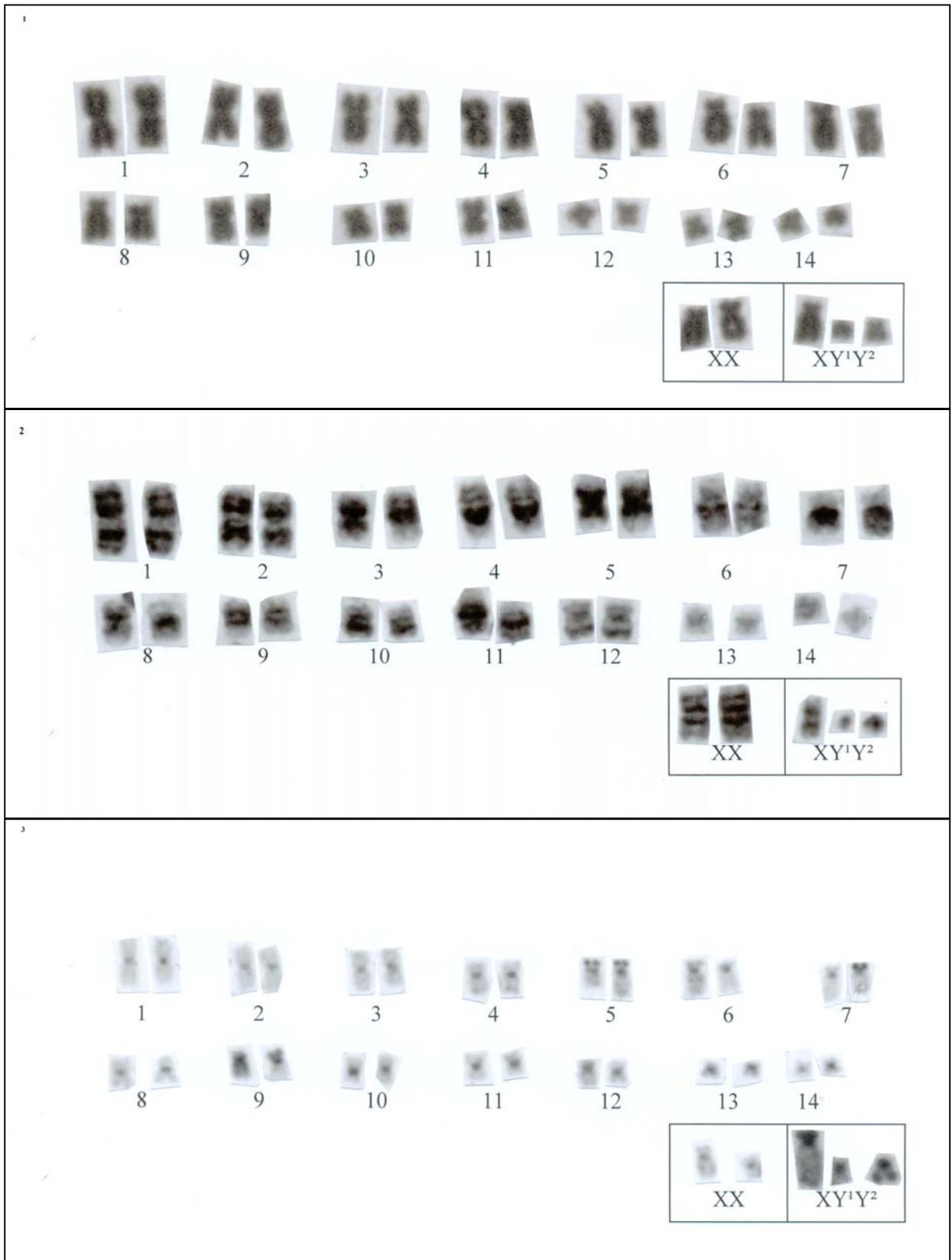


Figura 6: Cariótipo de *Artibeus lituratus* (fêmea e macho) coloração convencional GIEMSA – foto 1. Cariótipo de *Artibeus lituratus* (fêmea e macho) banda G – foto 2. Cariótipo de *Artibeus lituratus* (fêmea e macho) banda C – foto 3. $2n = 30-31$ e $NF = 56$.

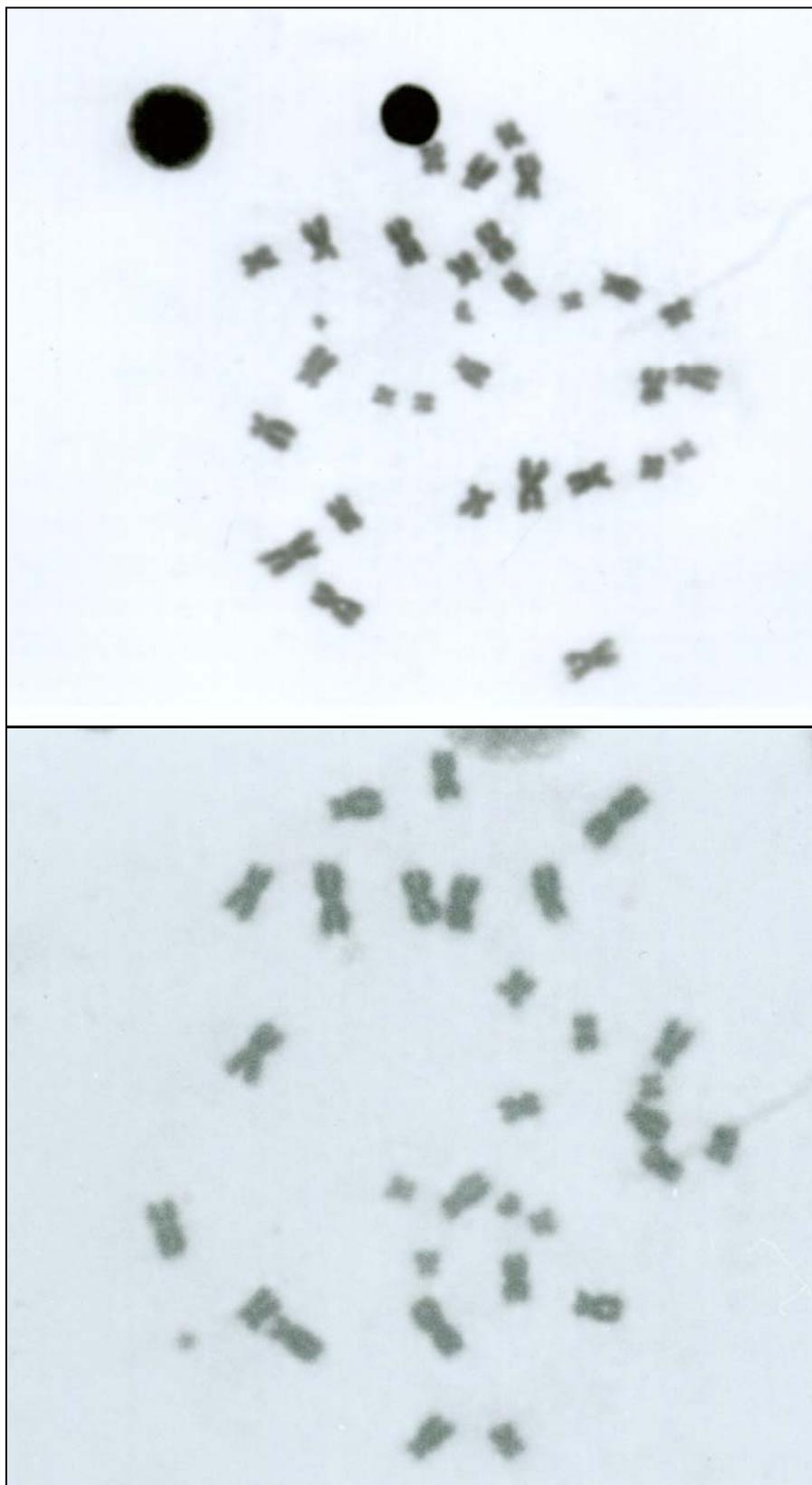


Figura 7: Metáfases de *Artibeus lituratus*, coloração convencional GIEMSA.

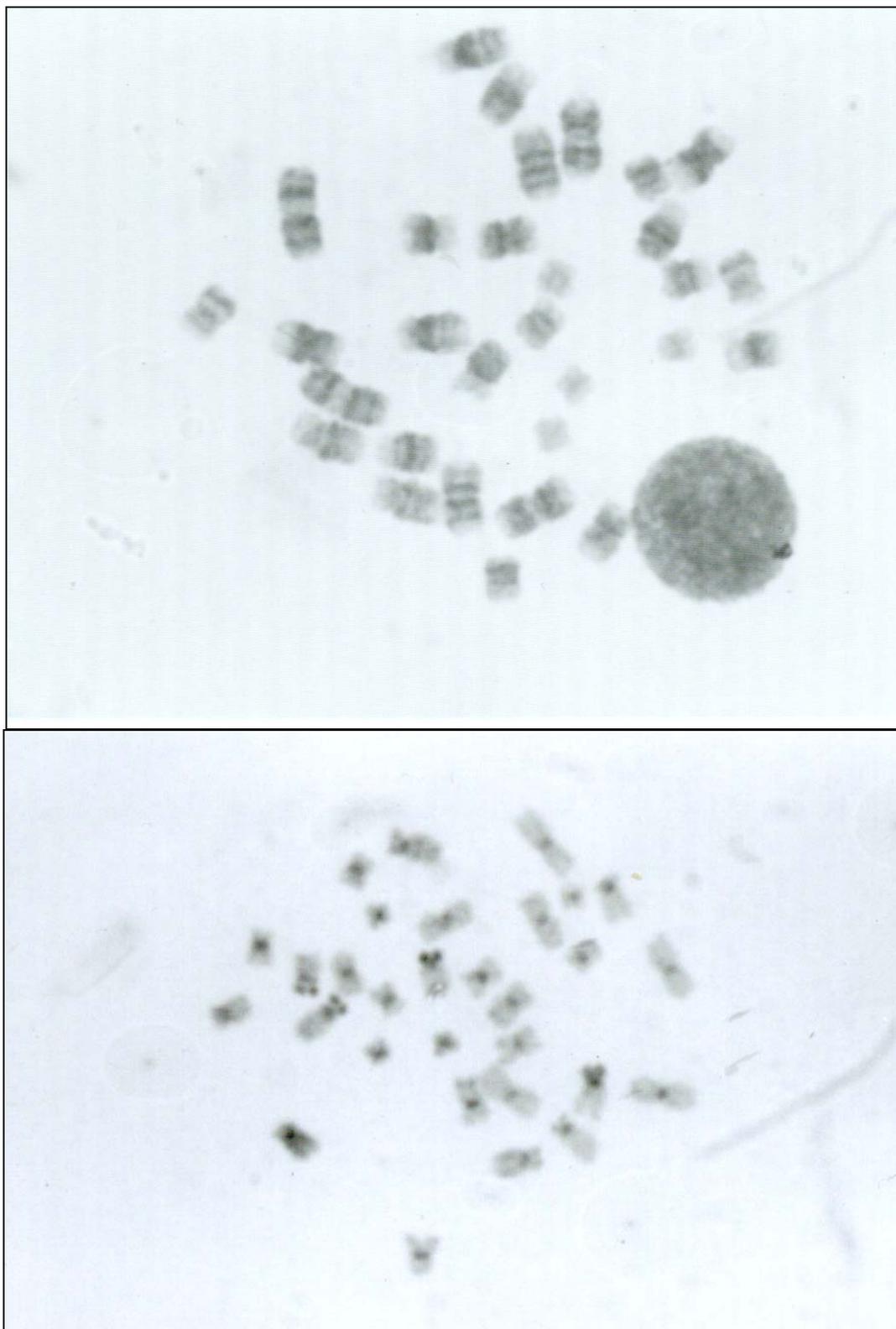


Figura 8: Metáfases de *Artibeus lituratus*, banda G e C respectivamente.

DISCUSSÃO

A análise cromossômica convencional possibilitou uma comparação entre populações da espécie em outras localidades, confirmando uma variação morfológica entre os espécimes de outras regiões. Apesar desta variação, a espécie manteve o mesmo número cromossômico já descrito por outros autores (YONENAGA *et al.*, 1969; BAKER, 1979; VARELLA & GARCIA *et al.*, 1989; SOUZA & ARAÚJO, 1990; SANTOS & SOUZA, 1998; SANTOS *et al.*, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2003).

Um estudo feito por VARELLA-GARCIA *et al.*, 1989, com a espécie *Artibeus lituratus*, coletados nos estados (São Paulo, Bahia, Rio de Janeiro e Pernambuco), difere do presente estudo, na variação da morfologia dos cromossomos. Os autores encontraram para a espécie cinco pares de cromossomos metacêntricos, cinco pares de cromossomos submetacêntricos e quatro pares de cromossomos subtelocêntricos e os cromossomos sexuais X apresentam morfologia submetacêntrico e Y¹ e Y² são acrocêntricos. O mesmo resultado é encontrado no trabalho de RODRIGUES *et al.*, 2003, com representantes do estado do Pará, apenas em algumas diferenciações no número de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos.

No presente estudo a morfologia dos cromossomos difere no número de metacêntricos e submetacêntricos e a presença de pares acrocêntricos não encontrados em outros estudos. Além disso, os cariótipos apresentaram um padrão de distribuição da heterocromatina nos telômeros e nos cromossomos Y, diferentes das descrições feitas em exemplares coletados em Pernambuco, Belém (PA) e no Sudeste do Brasil.

Verifica-se que há um polimorfismo de heterocromatina para essa espécie considerando as diferentes regiões do país. Esse polimorfismo está localizado principalmente nas regiões teloméricas dos cromossomos.

GUERRA, (1988), explica que esses polimorfismos não são facilmente encontrados ou pequenas variações cromossômicas intra ou inter-específicas. Espécies podem ser morfológicamente idênticas, embora possam apresentar um intenso polimorfismo inter e intra-específico.

Naturalmente, é muito difícil, se não impossível, reconhecer se uma determinada alteração genética, está casualmente relacionada à diferenciação inter-específica ou se é apenas uma diferença que se estabeleceu paralela ou posteriormente à completa separação das espécies (GUERRA, 1988).

Portanto, não há uma relação direta entre a variabilidade cromossômica e a morfológica. Cada tipo de polimorfismo (cromossômico, morfológico, enzimático etc.) parece atuar independentemente no processo evolutivo. Provavelmente, quanto mais polimórfica for uma característica, maior seu papel na evolução da espécie (GUERRA, 1988).

Outro fator importante citado pelo autor é o fato de que variáveis climáticas apropriadas; grande variabilidade de fontes alimentares. O polimorfismo cromossômico é mais intenso que em condições desfavoráveis, onde os recursos são escassos e o nicho da espécie é muito reduzido. Nos dois casos o fenômeno é o mesmo: quanto maior a diversidade ambiental efetivamente explorada, maior o polimorfismo cromossômico (GUERRA, 1988).

A distribuição pericentromérica de HC mostrada para a espécie *Artibeus lituratus*, também têm sido observada na maioria das espécies de morcegos pertencentes à família Phyllostomidae. Além disso, foi observada uma coloração diferencial no braço curto do X, porém na dissertação de mestrado de LEMOS-PINTO (2007), espécies coletadas em cinco municípios do estado de Pernambuco, ela observou no cromossomo sexual X uma coloração diferencial no braço longo, explicando que este padrão é

considerado uma característica de representantes da subfamília e indica a ocorrência de uma eucromatina dispersa, com propriedades estruturais diferentes da eucromatina do genoma dessas espécies. VARELLA-GARCIA et al., (1989), encontrou os mesmos resultados citado por LEMOS-PINTO (2007), para os estados de PE, BA, RJ e SP. Uma explicação para os resultados encontrados no presente trabalho, para os padrões de coloração com banda-C, pode ser explicado ou inferir-se que os autores citados para a comparação dos resultados coletaram os indivíduos da espécie estudada em outras regiões brasileiras (Norte, Nordeste e Sudeste), porém para a região Centro-Oeste, mais especificamente no Distrito Federal a espécie ainda não tinha sido estudada citogeneticamente.

O padrão heterocromático observado nos acrocêntricos Y^1 e Y^2 está de acordo ao que tem sido descrito para outras espécies pertencentes à família Phyllostomidae (SOUZA & ARAÚJO, 1990; SANTOS & SOUZA, 1998; SANTOS et al., 2001 e 2002). *Artibeus lituratus*, o Y^2 exibiu um padrão diferenciado de bandas, centromérica e telomérica, pode ser explicada pelo seu caráter autossômico, homólogo ao autossomo translocado para o braço curto do X. A ausência deste padrão em *Artibeus lituratus*, que também possuem sistema sexual múltiplo, pode-se inferir que a situação descrita a cima, deve-se ao grau de condensação de seu acrocêntricos.

Variações na distribuição de heterocromatina constitutiva foram descritas apenas em casos esporádicos na família Phyllostomidae. A uniformidade do padrão de HC tem sido observada principalmente, em grupos que apresentam extensa conservação cariotípica, a exemplo das espécies *Phyllostomus discolor*, *Phyllostomus hastatus*, *Phyllostomus elongatus* (subfamília Phyllostominae), onde a HC está restrita à região pericentromérica dos cromossomos (MORIELLE & VARELLA-GARCIA, 1998; VARELLA-GARCIA, et al., 1989). Entretanto, o que se verificou no gênero *Artibeus*

(*Artibeus obscurus*, *Artibeus fimbriatus*, *Artibeus lituratus* e *Artibeus jamaicensis*) a despeito de sua alta taxa de conservação, foi um diferenciado padrão de bandas heterocromáticas na espécie estudada no presente trabalho, similarmente ao observado no gênero *Uroderma* (SILVA *et al.*, 2005). Este apesar de constituir um membro da subfamília Stenodermatinae, como *Artibeus lituratus*, apresenta evolução cariotípica (BAKER & BICKHAM, 1980), de modo que seus representantes exibem disparidades cromossômicas, incluindo o padrão de HC.

O sistema sexual múltiplo do gênero *Artibeus* é provavelmente originado a partir de translocações entre os autossomos e o cromossomo X, em que um dos autossomos se fusionou ao braço p do X e o seu respectivo homólogo (Y^2) passou a integrar o sistema de determinação sexual, juntamente com o Y original (Y^1) (TUCKER, 1986; RODRIGUES *et al.*, 2003). Embora esses rearranjos entre os autossomos e os alossomos ocorram apenas esporadicamente na classe Mammalia, na família Phyllostomidae os mesmos foram descritos em 23 espécies, das quais 18 encontram-se na subfamília Stenodermatinae. De acordo com BAKER (1979), no gênero *Artibeus* o sistema múltiplo tem sido observado em pelo menos 11 espécies: *Artibeus aztecus*, *Artibeus cinereus*, *Artibeus glaucus*, e *Artibeus toltecus* (subgênero *Dermanura*); *Artibeus obscurus*, *Artibeus fimbriatus*, *Artibeus hirsutus*, *Artibeus inopinatus*, *Artibeus jamaicensis*, *Artibeus lituratus* e *Artibeus planirostris* (subgênero *Artibeus*). O padrão obtido no presente trabalho corrobora o que foi descrito para *Artibeus lituratus*. A subfamília Stenodermatinae é caracterizada por apresentar grupos em extensa conservação cariotípica, incluindo representantes do gênero *Artibeus*. Entretanto, uma variação geográfica envolvendo os cromossomos sexuais foi descrito para *Artibeus cinereus*, que apresentou $2n = 30$, XX e $2n = 31$, XY^1Y^2 em espécimes coletados em Trinidad (TUCKER, 1986) e, em contrapartida, exibiu $2n = 30$ para ambos os sexos em

indivíduos provenientes de Pernambuco (SOUZA & ARAÚJO, 1990) e Belém/PA (NORONHA, 2000), para as espécies *Artibeus toltecus* e *Artibeus watsoni* apresentam um sistema sexual do tipo Neo-XY. Este mecanismo sexual é derivado do sistema múltiplo, resultado da fusão entre Y^1 e Y^2 (TUCKER, 1986).

CONCLUSÃO

1. A espécie *Artibeus lituratus* possui número cromossômico $2n = 30 XX$ e $31 XY^1Y^2$ e número fundamental $NF = 56$, o mesmo descrito para a espécie por outros autores.
2. A morfologia cromossômica das populações de *A. lituratus* que ocorrem no Distrito Federal se diferencia das populações de outras localidades quanto aos padrões de Banda-C. Apresentando uma variação no número de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, entre 9-11 pares; 3-4 pares de cromossomos acrocêntricos e os cromossomos sexuais X é submetacêntrico e Y^1 e Y^2 são acrocêntricos.
3. Quanto aos os padrões de Banda-C a espécie *Artibeus lituratus*, possui presença e distribuição de blocos, quanto a presença de blocos teloméricos nos pares 5,6, X e Y^2 . 3.
4. As diferenciações apresentadas estão, provavelmente, vinculadas ao grau de condensação dos cromossomos em cada estudo realizado, o que poderia mascarar a ocorrência de HC em determinadas regiões do complemento cromossômico, assim, resultando em modificações no padrão de HC.
5. Este estudo apesar de constituir apenas um membro da subfamília Stenodermatinae, *Artibeus lituratus*, demonstrou que a espécie possui determinado polimorfismo cariotípico, como verificado em outros estudos

citogenéticos da espécie, de modo que seus representantes exibem variações no padrão de distribuição de heterocromatina.

6. Concluindo, as informações aqui apresentadas visam contribuir para a descrição das quatro espécies estudadas com ocorrência no Distrito Federal e entorno. É importante ressaltar que o conhecimento da variação das populações em diversas regiões do Brasil oferece melhores subsídios para a identificação das espécies do gênero *Artibeus*, mas ainda é necessária uma etapa de identificação feita com caracteres cranianos, para a separação das espécies intermediárias. Sendo necessário um estudo, mais criterioso e completo com as espécies do gênero que ocorrem no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L. M. S. & TADDEI, V. A. **Lista da Fauna Ameaçada de extinção no Estado de Minas Gerais**. Chiroptera Neotropical. 1: 31; 1995.

AGUIAR, L. M. S.; ZORTÉA, M. **A composição de espécies de morcegos nas áreas do bioma Cerrado**. In: Susi Missel Pacheco; Rosane Vera Marques; Carlos Eduardo Lustosa Esberárd (Org.). Morcegos do Brasil: Biologia, Sistemática, Ecologia e Conservação. 1ª ed. Porto Alegre: Armazem Digital, v. 17.4, p. 283-289, 2008.

ANDERSEN, K. **A monograph of the chiropteran genera Uroderma, Enchisthenes and Artibeus**. Proceedings of the Zoological Society of London, pp. 204-319, 1908.

ARAÚJO, A. P. T.; LANGGUTH, A.; ARAÚJO, P. LANGGUTH, A. **As espécies de Artibeus Leach, 1821 (Chiroptera, Phyllostomidae) da Paraíba de Pernambuco: Morfologia e Variação Geográfica**. In: XV Encontro de Zoologia do Nordeste, 2005. Salvador, Bahia. In: XV Encontro de Zoologia do Nordeste, 2005, Salvador, Bahia. XV Encontro de Zoologia do Nordeste, 2005.

ARAÚJO, M. C. P. & SOUZA, M. J. **Análise comparativa dos padrões de bandeamento cromossômico em *Desmodus rotundus* e *Diphylla ecaudata* (Chiroptera)**. Ciênc. Cult. (supl.) 39:155; 1995.

BAKER, R. J. **Comparative cytogenetics of the New World leaf-nosed bats (Phyllostomidae)**. Peridicum Biologicum, 75: 37-45; 1973.

BAKER, R. J. Karyology: In: BAKER, R. J., JONES, J. K. & CARTER, D. C. (eds). **Biology of the bats of the New World family Phyllostomidae**. Part III. Special Publications, Museum of Texas Tech. University, p. 107-155; 1979.

BAKER, R. J. & BICKHAM, J. W. **Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa**. Zool. 29: 239-253, 1980.

BAKER, R. J., GENOWAIS H. H. & SEYFARTH, P. A. **Results of the Alcoa Foundations Suriname Expeditions. VI Additional chromosomal data for bats (Mammalia, Chiroptera) from Suriname**. Annals of Carnegie Museum, 50: 333-344; 1981.

BAKER, R. J.; HOOFER, S. R.; POTER, C. A. & VAN DEN BUSSCHE, R. A. **Diversification among New World leaf-nosed bats: An evolutionary hypothesis and classification inferred from digenomic congruence of DNA sequence**. Occasional papers 230: 1-32; 2003.

BARROS, H. M. D. R. **Análise cariotípica nos morcegos *Lonchorhina aurita* e *Trachops cirrhosus* (Phyllostomidae): Usando técnicas citogenéticas diferenciais e moleculares**. Dissertação de Mestrado, UFPE, Brasil, 2006.

DOBSON, G. E. **Catalogue of the Chiroptera in the collection of the British Museum**. London, xiii = 1-567 p., 1878.

GUERRA, M. **Introdução à Citogenética geral**. Ed. Guanabara, p. 140, 1988.

GUERRERO J. A; DE LUNA E; GONZÁLEZ D. **Taxonomic Status of *Artibeus Jamaicensis Triomylus* Inferred From Molecular And Morphometric Data**. Journal of Mammalogy: Vol. 85, No. 5 pp. 866–874, 2004.

HANDLEY, Jr. C. O. **New species of mammals from northern South America: fruit-eating bats, genus *Artibeus* Leach. Studies in the Neotropical Mammalogy: Essays in Honor Philip Hershkovitz**. Fieldiana Zoology, n. s. Chicago, 1382 (39): 163-172; 1987.

HANDLEY, Jr. C. O. **The *Artibeus* of Gray 1838**, p. 443-468. Advances in Neotropical Mammalogy. Gainesville. The Sandhill Crane Press, 614p; 1989.

HANDLEY, Jr. C. O. **The identify of *Phyllostoma planirostre* Spix, 1823 (Chiroptera: Stenodermatinae)**. Bulletin of the American Museum of Natural History, n. 206, p. 12-17, 1991.

HERSHKOVITZ, P. **Mammals of the Northern Colombia**, Preliminary Report no. 5: Bats (Chiroptera). Proceedings of the United States National Museum, 99:429-454; 1949.

HOWELL, W. M. E D. A. BLACK. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36:1014-1015, 1980.

KASAHARA, S. & DUTRILLAUX, B. **Chromosome banding patterns of four species of bats, with special reference to a case of X-autosome translocation.** *Annales de Génétique*, 26:197-201; 1983.

KOOPMAN, K. F. **Order Chiroptera.** Pp. 137-241 in: *Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference.* 2ª Ed. (Wilson D. E. and D. M. Reeder, eds). Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 1993.

KRAFT, R. **Notes on the type specimens of *Artibeus jamaicensis planirostris* (Spix. 1823).** *Spixiana*, Vol. 5, nº 3, p. 311-316, 1982.

KRAFT, R. **DIE VON J. B. Spix beschriebenen neotropischen Primate und Chiropteren, Verzeichnis der in der Zoologischen Staatssammlung Munchen aufbewahrten Typusexemplare.** *Spixiana*, Suppl., v. 9, p. 429-441, 1983.

LEITE-SILVA, C.; SANTOS, N. FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SOUZA, M. J. **Karyotypic characterization of the bat species *Molossus aster*, *M. molossus* and *Molossops planirostris* (Chiroptera, Molossidae) using FISH and banding techniques.** *Hereditas* 138: 94-100, 2003.

LEMOES-PINTO, M. M. P. **Utilização de marcadores citogenéticos na análise comparativa de grandes *Artibeus* (Phyllostomidae, Chiroptera, avaliando estruturas conservadas e sítios espécies específicos).** Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco, CCB. Genética, p.81, 2007.

LIM, B. K. & WILSON, D. E. **Taxonomic status of *Artibeus amplus* (Chiroptera: Phyllostomidae) in northern South America.** J. Mammalogy 74: 763-768; 1993.

LIM, B. K. **Morphometric differentiation and species status of allopatric fruit-eating bats *Artibeus jamaicensis* and *A. planirostris* in Venezuela.** Studies on Neotropical fauna and Environment 32: 94-100; 1997.

LIM, B. K., ENGSTRON, M. D. LEE, T. E., PATTON, J. C., BICKHAM, J. W. **Molecular differentiation of large species of fruit-eating bats (*Artibeus*) and Phylogenetic relationships based on cytochrome b gene.** Acta Chiropterologica 6:1-12; 2004.

MAKINEN, A.; ZIJLSTRA, C.; DE HAAN, N. A.; MELLINK, C. H. M. & BOSMA, A. A. **Localization of 18S + 28S and 5S ribosomal RNA genes in the dog by fluorescence in situ hybridization.** Cytogenet. Cell genet. 78:231-235, 1997.

MARTÍNEZ, J. L.; MORÁN, P.; GARCIA-VÁZQUEZ, E. & PENDÁS, A. M. **Chromosomal localization of the major and 5S rRNA genes in the European (*Anguilla anguilla*).** Cytogenet. Cell Genet 73:149-152, 1996.

MARTINS, C. & GALLETI Jr., P. M. **Karyotypic similarity between two sympatric Schizodon fish species (Anostomidae, Characiformes) from Paraguay River basin.** Genet. Mol. Biol. 21: 355-360.

MARQUES-AGUIAR, S. A. **A systematic review of the large species of *Artibeus* Leach, 1821 (Mammalia: Chiroptera), with some Phylogenetic inferences.** Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Zoologia 10:3-83, 1994.

MORIELLE, E. & VARELLA-GARCIA, M. **Variability of nucleolus organizer regions in Phyllostomid bats.** Rev. Brazil. Genet. 11 (4): 853-871, 1988.

MORIELLE-VERSUTE E, VARELLA-GARCIA M, TADDEI V. A. **Karyotypic patterns of seven species of molossid bats (Mollossidae, Chiroptera).** Cytogenet Cell Genet 72: 26–33, 1996.

NEVES, A. C. B.; PIECZARKA, J. C.; BARROS, R. M. S.; MARQUES-AGUIAR, S.; RODRIGUES, L. R. R. & NAGAMACHI, C. Y. **Cytogenetic studies on *Choeroniscus minor* (Chiroptera, Phyllostomidae) from the Amazon region.** Cytobios 105: 91-98, 2001.

NORONHA, R. C. R. **Reconstrução do comportamento meiótico em Phyllostomidae (Chiroptera).** Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, 2000.

OWER, R. D. **Phylogenetic analyses of the bat subfamily Stenodermatinae (Mammalia: Chiroptera).** Special Publications, The Museum, Texas Tech University 26:1-65; 1987.

OWER, R. D. **Phenetic analyses of the bat subfamily Stenodermatinae (Chiroptera: Phyllostomidae)**. Journal of Mammalogy, v. 69, n^o.4, p.795-810, 1988.

PATTON, J. C. & BACKER, R. J. **Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoids bats**. Syst. Zool. 27: 449-462; 1978.

PENDÁS, A. M.; MORÁN, P. & GARCÍA-VÁZQUEZ, E. **Ribosomal RNA genes are interspersed throughout a heterochromatic chromosome arm in Atlantic salmon**. Cytogenet. Cell Genet. 63:128-130, 1993.

RODRIGUES, L. R. R.; BARROS, R. M. S.; ASSIS, M. F. L.; MARQUES-AGUIAR, S. A.; PIECZARKA, J. C. & NAGAMACHI, C. Y. **Chromosome comparison between two species of Phyllostomus (Chiroptera – Phyllostomidae) Eastern Amazonian, with some Phylogenetic insights**. Gen. Mol. Bio. (23) 3: 595-599, 2003.

RUI, A. M. DREHMER, C. J. **Anomalias e variações na formula dentaria em morcegos do gênero *Artibeus* Leach (Chiroptera: Phyllostomidae)**. Revista Brasileira de Zoologia. v 21. n. 3, p. 639-648, 2004.

SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA & SOUZA, M. J. **Comparative Karyology of Brazilian vampire bats *Desmodus rotundus* and *Diphylla eucadata* (Phyllostomidae, Chiroptera): banding patterns, base specific fluorochromes and FISH of ribosomal genes**. Hereditas 134 189-194, 2001.

SANTOS, N.; FAGUNDES, V.; YONENAGA-YASSUDA & SOUZA, M. J. **Localization of rRNA genes in Phyllostomidae bats reveals silent NORs in *Artibeus cinereus***. *Hereditas* 136: 137-143, 2002.

SANTOS N, SOUSA M. J. **Characterization of the constitutive heterochromatin of *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae, Chiroptera) using the base-specific fluorochromes, CMA (GC) and DAPI (AT)**. *Caryologia* 51: 51–60, 1998.

SEABRIGHT, M. **A rapid banding technique for human chromosomes**. *Lancet* 2: 971-972, 1971.

SIMMONS, N. B.; VOSS, R. S. **The mammals of Paracou, French Guiana: a Neotropical lowland rainforest fauna part 1. Bats** *Bulletin of the American Museum of Natural History*. V. 237, p. 1-219. New York: 1998

SIMMONS, N. B. **Mammal species of the World: A taxonomic and geographic reference**. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, 3a ed., v1, 312-529; 2005.

SILVA, A. M; MARQUES-AGUIAR, S. A; BARROS, R. M. S; NAGAMACHI, C. Y & PIECZARKA, J. C. **Comparative Cytogenetic analysis in the species *Uroderma magnirostrum* and *U. bilobatum* (cytotype 2n=42) (Phyllostomidae, Stenodermatinae) in the Brazilian Amazon**. *Genet. Mol. Biol.* 28 (2): 248-253.

SOLARI, A. J. & PIGOZZI, M. I. **Fine structure of the XY body in the XY¹Y² trivalent of the bat *Artibeus lituratus***. *Chromosome Res.* 2: 53-58; 1994.

SOUZA, M. J. & ARAÚJO, M. C. P. **Conservative pattern of the G-Bands and diversity of C-banding patterns and NORs in the Stenodermatinae (Chiroptera, Phyllostomidae).** Rev. Brasil. Genet. 13: 255-268; 1990.

SUMNER, A. T. (1972) **A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin.** Expl. Cell. Res. 75:304-306.

SUMNER, A. T. **Chromosomes: organization and function.** Blackwell Publishing. North Berwick, UK, 2003.

SUZUKI, H.; SAKURAI, S. & MATSUDA, Y. **Rat 5S rRNA spacer sequence and chromosomal assignment of the genes to the extreme terminal region of chromosome 19.** Cytogenet. Cell Genet. 72:1-4, 1996.

TADDEI, V. A. NOBILE, C. A. & MORIELLE-VERSUTE, E. **Distribuição geográfica e análise morfométrica comparativa em *Artibeus obscurus* (Schinz, 1821) e *Artibeus fimbriatus* (Gray, 1938), (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae).** In: Ensaios e Ciência, Campo Grande, 2(2): 71-127; 1998.

TUCKER, P. K. **Sex chromosome-autosome translocations in the leaf-nosed bats, family Phyllostomidae. I. Mitotic analyses of the subfamilies Stenodermatinae and Phyllostominae.** Cytogenetic Cell Genetics, 43: 19-27; 1986.

VALENTIN, J. L. **Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos.** Ed. Interciência. p.117, 2000.

VAN DEN BUSSCHE R. A.; LONGMIRE J. L., BAKER R. J. **How bats achieve a small C-value: frequency of repetitive DNA in *Macrotus*.** Mamm. Genome 6: 521–525, 1995.

VAN DEN BUSSCHE R. J. L., HUDGEONS, J. L. & BAKER, R. J. **Phylogenetic accuracy among the New World bat genera *Artibeus*, *Dermanura* and *Koopmania*. Bat biology and conservation.** Smithsonian Institution Press. Washington, DC, pp. 59-71; 1998.

VARELLA-GARCIA, M., MORIELLE-VERSUTE, E. & TADDEI, V. A. **A survey of Cytogenetic data on Brazilian bats.** Rev. Brasil. Genet. 12: 761-793, 1989.

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

VOLLETH M, BRONNER G, GOPFERT M. C, HELLER K. G, VON HELVERSEN O, YONG H. S. **Karyotypic comparison and Phylogenetic relationships of Pipistrellus-like bats (Vespertilionidae; Chiroptera; Mammalia).** Chromosome Res 9: 25-46, 2001.

WETTERER, A. L.; M. V. ROCKMAN & N. B. SIMMONS. **Phylogeny of Phyllostomid Bats (Mammalia: Chiroptera): Data from Diverse Morphological Systems, Sex, Chromosomes and Restriction Sites.** Bulletin of the American Museum of the Natural History, 248:1-200, 2000.