



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

O HÁBITO ALIMENTAR DOS MORCEGOS (Mammalia,  
Chiroptera) E SUA RELAÇÃO COM A DIVERSIDADE VIRAL

PAULA GALVÃO TEIXEIRA

BRASÍLIA, DF

2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

O HÁBITO ALIMENTAR DOS MORCEGOS (Mammalia, Chiroptera) E SUA  
RELAÇÃO COM A DIVERSIDADE VIRAL

PAULA GALVÃO TEIXEIRA

Orientadora: Prof. Dra. Ludmilla M. S. Aguiar

Coorientador: Dr. Fernando Lucas Melo

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zoologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

BRASÍLIA, DF

2016

Dedico este trabalho a todos os morcegos que perderam suas vidas a fim de possibilitar que o mundo os conhecesse um pouco melhor. Com certeza não foi em vão.

## AGRADECIMENTOS

Voltar para a universidade depois de dez anos de formada, foi um desafio. Encarar um mestrado em área diferente a da minha formação, Medicina Veterinária, foi um desafio ainda maior. Confesso que nunca me interessei pela área acadêmica, mas como amante dos animais que sempre fui, me sinto extremamente gratificada por contribuir para que se conheça mais sobre a vida dos morcegos. Mas, por que logo os morcegos, que não passaram nem perto do meu currículo no curso de Medicina Veterinária?

E aqui começam os meus agradecimentos, primeiramente ao IBAMA, não só por ter concedido o meu afastamento integral, como também por despertar em mim, ao longo dos quase nove anos de carreira, o interesse pelos animais silvestres. Agradeço em especial aos meus colegas da COFAU, por me permitirem concluir meu trabalho, mesmo após o meu regresso e à minha colega Giovana Boturra por ter me apresentado à minha orientadora; sem essa apresentação esse trabalho jamais teria existido.

Agradeço à minha orientadora Ludmilla por cumprir a, com certeza difícil, tarefa de me fazer entender o conceito de “hipótese”. Nunca vou esquecer a frase: “- Paula, qual a sua pergunta?” Encerro essa trajetória certa de que aprendi não apenas sobre os morcegos, mas também sobre a ciência e a biologia como um todo. Retornarei ao meu trabalho no IBAMA melhor cientista, melhor profissional.

Da mesma forma agradeço imensamente ao meu coorientador Fernando, que poderia simplesmente ter me ensinado a realizar os procedimentos de laboratório da forma mais rápida, mas ao invés disso, me guiou para que eu entendesse o que estava fazendo, passo a passo. Posso dizer sem sobra de dúvidas que hoje entendo melhor o universo dos vírus, tão pequenos que em determinados momentos cheguei a duvidar que realmente estavam presentes nos tubos “sem conteúdo” que saíam da ultracentrífuga. Obrigada também à Simone da EMBRAPA que me ajudou com os RCAs.

Meus agradecimentos aos colegas do laboratório de morcegos, em especial ao Thiago Furtado, que dispôs do seu tempo corrido ao final do seu mestrado para me acompanhar na Pedreira para a captura dos *Desmodus* e à Débora, por me permitir acompanhar os seus campos e me ensinar os primeiros passos desde a armação das redes à retirada dos animais das mesmas. Agradeço também aos colegas do laboratório de virologia, em especial ao Daniel Ardisson-Araújo, por me ajudar com os PCRs, e ao Athos, não apenas por me ensinar a usar o Endnote web, mas também pelas conversas descontraídas no laboratório. Obrigada também Elen, por ouvir meus desabafos no final dessa trajetória.

Agradeço também aos membros da banca que contribuíram com suas sugestões para a versão final deste trabalho, bem como para as futuras publicações.

Muito obrigada a todos que permitiram que eu entrasse em suas residências para capturar morcegos e àqueles que me concederam autorização para as coletas.

Obrigada à minha família por me apoiar e incentivar, em especial à minha irmã Rafaela que me ajudou com as tabelas, figuras e formatações e ao meu cunhado, Mateus pela revisão do texto em inglês. Agradeço ao meu noivo Paulo Roberto, pela amizade, carinho, apoio, paciência e por me fazer acreditar que daria tudo certo ao final.

Por fim, agradeço a Deus, criador do Universo e meu porto seguro. Sem Ele nada seria.

## SUMÁRIO

Índice de Figuras .....	1
Índice de Tabelas .....	2
Resumo .....	3
Abstract .....	5
Introdução Geral .....	7
Referências .....	11

## CAPÍTULO I – O QUE CONHECEMOS SOBRE OS MORCEGOS E SEUS VÍRUS

1.1 Introdução .....	14
1.2 Materiais e Métodos .....	19
1.3 Resultados .....	20
1.4 Discussão .....	27
1.5 Referências .....	31

## CAPÍTULO II - O HÁBITO ALIMENTAR DE MORCEGOS (Mammalia, Chiroptera) E SUA RELAÇÃO COM A DIVERSIDADE VIRAL

2.1 Introdução .....	35
2.2 Materiais e Métodos .....	40
2.2.1 Local e Métodos de coleta .....	40
2.2.2 Ultracentrifugação e extração de ácido nucleico viral .....	41
2.2.3 Sequenciamento, montagem e análise da diversidade viral ....	42
2.3 Resultados .....	44
2.4 Discussão .....	53
2.5 Referências .....	62

CONCLUSÕES .....	73
------------------	----

APÊNDICE .....	74
----------------	----

# ÍNDICE DE FIGURAS

## CAPÍTULO I – O QUE CONHECEMOS SOBRE OS MORCEGOS E SEUS VÍRUS

<b>Figura 1</b> Riqueza de espécies de morcegos em escala global .....	16
<b>Figura 2</b> Ocorrência de estudos de vírus descritos em morcegos ao redor do mundo.	20
<b>Figura 3</b> Famílias de vírus encontradas em morcegos nas Américas e no Brasil .....	21
<b>Figura 4</b> Famílias de morcegos com dados sobre vírus nas Américas e no Brasil .....	22
<b>Figura 5</b> Variedade de famílias de vírus por hábito alimentar dos morcegos nas Américas e no Brasil .....	23
<b>Figura 6</b> Famílias de vírus já descritas nas quatro espécies de morcego: <i>Artibeus lituratus</i> , <i>Desmodus rotundus</i> , <i>Glossophaga soricina</i> e <i>Nyctinomops laticaudatus</i> .....	27

## CAPÍTULO II - O HÁBITO ALIMENTAR DE MORCEGOS (Mammalia, Chiroptera) E SUA RELAÇÃO COM A DIVERSIDADE VIRAL

<b>Figura 1</b> espécies de morcego estudadas .....	39
<b>Figura 2</b> Locais de captura dos morcegos no Distrito Federal .....	41
<b>Figura 3</b> Organograma dos procedimentos realizados para a obtenção dos genomas virais presentes no intestino das quatro espécies de morcegos estudadas .....	43
<b>Figura 4</b> Árvore filogenética baseada em 76 sequências de aminoácidos da proteína <b>VP1</b> de <i>Anelloviridae</i> .....	49
<b>Figura 5</b> Árvore filogenética baseada em 118 sequências de aminoácidos da proteína <b>REP</b> de <i>Circoviridae</i> .....	50
<b>Figura 6</b> Árvore filogenética baseada em 107 sequências de aminoácidos da proteína <b>large T antigen</b> da família <i>Polyomaviridae</i> .....	51
<b>Figura 7</b> Diversidade de vírus encontrados no intestino de <i>Nyctinomops laticaudatus</i> , <i>Glossophaga soricina</i> , <i>Desmodus rotundus</i> e <i>Artibeus lituratus</i> .....	52
<b>Figura 8</b> Análise multidimensional (MDS) do viroma intestinal das quatro espécies de morcegos: <i>Nyctinomops laticaudatus</i> , <i>Glossophaga soricina</i> , <i>Desmodus rotundus</i> e <i>Artibeus lituratus</i> .....	52

# ÍNDICE DE TABELAS

## CAPÍTULO I – O QUE CONHECEMOS SOBRE OS MORCEGOS E SEUS VÍRUS

<b>Tabela 1</b> Famílias de vírus descritas em morcegos das espécies <i>Artibeus lituratus</i> , <i>Desmodus rotundus</i> , <i>Glossophaga. soricina</i> e <i>Nyctinomops laticaudatus</i> por localidade (país) no continente americano .....	24
--	----

## CAPÍTULO II - O HÁBITO ALIMENTAR DE MORCEGOS (Mammalia, Chiroptera) E SUA RELAÇÃO COM A DIVERSIDADE VIRAL

<b>Tabela 1</b> Resultado do sequenciamento MiSeq e da montagem <i>de novo</i> .....	44
--	----

<b>Tabela 2</b> Grupos de vírus (Família/Gênero) encontrados em cada espécie de morcego: <i>Nyctinomops laticaudatus</i> , <i>Glossophaga soricina</i> , <i>Desmodus rotundus</i> e <i>Artibeus lituratus</i> .....	46
---	----

## APÊNDICE

<b>Tabela 1</b> Famílias de vírus descritas em morcegos ao redor do mundo, por continente. 74	
---	--

## RESUMO

Os morcegos são reconhecidos como hospedeiros de uma grande variedade de vírus. No entanto, a relação entre a presença dos vírus e o hábito de vida dos morcegos quase não é explorada. O presente trabalho teve como objetivo entender um pouco melhor esta relação. Para tanto foi realizado um levantamento bibliográfico, apresentado no primeiro capítulo, sobre em quais morcegos já foram identificados vírus e quais são esses vírus, em um panorama global. Foi possível constatar que existe um maior número de estudos nos continentes do Velho Mundo e que a maioria dos trabalhos sobre vírus em morcegos nas Américas e no Brasil é sobre o vírus da raiva. Vírus pertencentes a 16 famílias já haviam sido identificados em morcegos no continente americano, sendo que destas famílias, apenas oito haviam sido identificadas no Brasil. Foi possível constatar que a família de morcegos Phyllostomidae é a que possui mais dados sobre vírus tanto no Brasil como nas Américas, seguida da família Molossidae, no Brasil. Sabendo que a ordem Chiroptera possui uma das dietas mais diversificadas entre todos os mamíferos, elaborei um estudo no capítulo 2 a fim de verificar a hipótese de que o hábito alimentar de quatro espécies de morcegos exerce influencia sobre a sua diversidade viral, bem como a hipótese de que quanto mais especializada a dieta dos morcegos, menor será a diversidade de vírus presentes em seus intestinos. Para tanto foram capturados 15 indivíduos de cada uma das seguintes espécies: *Artibeus lituratus* (Phyllostomidae) - frugívoro, *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae) - nectarívoro, *Desmodus rotundus* (Phyllostomidae) – hematófago e, *Nyctinomops laticaudatus* (Molossidae) – insetívoro, em pontos aleatórios do Distrito Federal, no domínio Cerrado do Planalto Central, nos anos de 2014 e 2015. Os animais foram eutanasiados e tiveram seus intestinos armazenados a -80 °C para posterior análise. As amostras passaram por um processo de enriquecimento viral e os ácidos nucleicos foram extraídos utilizando-se o Kit de extração Zymo ZR Virus DNA/RNA. O DNA foi a seguir amplificado com polimerase phi29 e sequenciado usando o Kit de preparação Nextera DNA Library na plataforma Illumina MiSeq. As sequencias obtidas (*reads*) foram processadas e montadas usando CLC Genomics Workbench v.6.0.3. Os *contigs* resultantes foram comparados

com o banco de dados Viral RefSeq, utilizando o programa BLASTX. A hipótese de que a diversidade viral varia de acordo com o hábito alimentar dos morcegos foi confirmada, porém a hipótese de que quanto mais especializada a dieta, dos morcegos, menor a diversidade viral encontrada no intestino, foi refutada. A espécie *N. laticaudatus* apresentou a maior diversidade viral, provavelmente porque os vírus encontrados no intestino dos espécimes, derivam da maior diversidade de insetos predados. As espécies *G. soricina* e *A. lituratus* apresentaram a mesma diversidade, o que pode ser explicado pelo fato de as duas espécies eventualmente utilizarem como alimentos plantas e esporadicamente insetos. *D. rotundus* foi a espécie com a menor diversidade viral, devido a dieta ser bastante restrita, apenas sangue. Porém, nesta espécie foi encontrado o vírus da Anemia Infecciosa das Galinhas – CAV, aqui encontrado pela primeira vez em *D. rotundus*, indicando que a espécie está predando além de mamíferos, aves. No todo 54 novos vírus foram detectados nas quatro espécies de morcegos, reforçando que pouco se conhece sobre os vírus presentes em morcegos.

**Palavras chave:** morcegos, vírus, relação hospedeiro, guilda trófica, dieta.

## ABSTRACT

Bats have been identified as a reservoir host of many viruses. However, the relationship between the presence of virus and bats trophic guild has been underexplored. The present study aimed to know this relationship better. To do this, I did a literature compilation in Chapter 1, showing which bats have already been identified as hosts of viruses and which viruses are these at a global scale. I found that most studies have been made in the Old World countries and that most of the studies on viruses in bats in the Americas and Brazil are about rabies virus. Viruses belonging to 16 families have already been identified in bats on the American continent, but only eight of these have been identified in Brazil. The bat family Phyllostomidae is the one with most data about viruses, followed by the Molossidae family, in Brazil. Knowing that the Chiroptera order has one of the most diversified diets of all mammals, I proposed a study, presented in Chapter 2, to verify the hypothesis that viral diversity is guided by the feeding habits of four bat species and the hypothesis that the more specialized the diet of the bats, the lower the viral diversity present in their intestines. I captured 15 individuals of each of the following species: *Artibeus lituratus* (Phyllostomidae) - frugivorous, *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae) - nectarivorous, *Desmodus rotundus* (Phyllostomidae) – sanguivorous e, *Nyctinomops laticaudatus* (Molossidae) – insectivorous, during the years of 2014 and 2015, in the Brazilian Cerrado (a savanna-like vegetation) areas in the Federal District. The captured bats were euthanized, and their intestines were stored at -80 °C until processing. After viral enrichment, nucleic acids were extracted using the Zymo ZR Virus DNA/RNA Extraction kit. The resulting DNA was amplified with a phi29 polymerase and sequenced using Nextera DNA Library Preparation Kit and Illumina MiSeq platform. The paired-ends readings (881,946) were quality-filtered, re-assembled using CLC Genomics Workbench v.6.0.3, and the resulting contigs were compared to the Viral RefSeq database using BLASTX. The hypothesis that viral diversity varies according to the eating habits of the bats was confirmed, but the hypothesis that the more specialized the diet of the bats, the lower the viral diversity present in their intestines, was disproved. *N. laticaudatus* species had the highest viral diversity, probably

because the viruses found in the intestines of specimens reflect the diversity of insects predated by them. The species *G. soricina* and *A. lituratus* showed the same viral diversity, which can be explained by the fact that these two species feed on plants and sporadically on insects. *D. rotundus* was the species with the lowest viral diversity due to its restricted blood feeding habits. However, Chicken Anemia Virus – CAV was reported for the first time in *D. rotundus*, indicating that *D. rotundus* bats are preying on avian hosts, despite preying on mammals too. Finally, altogether, 54 new viruses have been detected in the four bat species on this study, stressing that little is known about viruses in bats.

**Keywords:** bats, viruses, host relationship, trophic guild, diet.

## INTRODUÇÃO GERAL

A ordem Chiroptera, representada pelos morcegos, é a segunda maior ordem de mamíferos em número de espécies, atrás apenas dos roedores (Rodentia). Estima-se que atualmente existam mais de 1300 espécies de morcegos descritas e estas espécies apresentam uma enorme diversidade de hábitos alimentares (Fenton and Simmons 2015). A ordem Chiroptera pode ser, dependendo do autor, dividida em dezenove famílias e 202 gêneros (Gardner 2007; Miller-Butterworth et al. 2007; Simmons 2005). A principal característica da ordem é reunir os únicos mamíferos com habilidade de voar, capazes de habitar todas as regiões do globo, com exceção da Antártica (Simmons 2005).

Tradicionalmente a ordem Chiroptera era composta por duas subordens, Megachiroptera e Microchiroptera, denominação essa indicativa dos tamanhos grandes e pequenos, respectivamente, dos morcegos. Os Megachiroptera restritos ao Velho Mundo e os Microchiroptera cosmopolitas (Simmons 2005). Porém, estudos filogenéticos recentes separam os morcegos em duas novas subordens. Yinochiroptera, abrangendo espécies com pré-maxilares removíveis ou ausentes, e Yangochiroptera, com espécies cujos pré-maxilares encontram-se fundidos (Jones and Teeling 2006). É na subordem Yangochiroptera que se encontram os morcegos da família Phyllostomidae.

A família Phyllostomidae se originou provavelmente no Mioceno, na região Neotropical (Koopman 1976) e se distingue das demais famílias de morcegos por seus membros apresentarem uma membrana nasal em forma de lança, ou folha, na extremidade do focinho. Esta estrutura tem como provável função auxiliar na ecolocalização (Kuc 2011). Ela pode ser bem desenvolvida em espécies que capturam insetos, ou modificada, como na subfamília Desmodontinae. Nessa subfamília a folha se apresenta em forma de estrutura discoide, semelhante a uma ferradura (Aguiar 2007). Na subfamília Stenodermatinae ela é bastante reduzida, como na espécie *Centurio scenex* (Hill and Smith 1986). Morcegos da família Phyllostomidae podem ocorrer desde o sudoeste dos Estados Unidos até o norte da Argentina, sendo a família mais abundante na região Neotropical (Simmons 2005). No Brasil está representada por 92 espécies descritas em 43 gêneros pertencentes

a 10 subfamílias (Nogueira et al. 2014). É a família que possui a maior diversidade de hábitos alimentares entre todos os morcegos (Forman et al. 1979).

Ainda na subordem Yangochiroptera encontra-se a família Molossidae, com morcegos que ocorrem em ambos os hemisférios e se caracterizam por possuírem a cauda livre, saindo do uropatágio (Gardner 2007). No Brasil a família Molossidae é representada por 29 espécies descritas em oito gêneros pertencentes a uma única subfamília (Nogueira et al. 2014). De hábito insetívoro, os morcegos dessa família capturam suas presas durante o voo, e algumas espécies podem ser comumente encontradas em habitações urbanas, utilizando frestas existentes nos telhados ou prédios como abrigo diurno (Gardner 2007, Bredt et al. 1996).

Morcegos são tão importantes para o meio ambiente que o seu desaparecimento poderia levar a um desequilíbrio ambiental, com maiores danos do que os causados pela sua proximidade com o ser humano (Calisher et al. 2006; Mayen 2003; Wibbelt et al. 2010). Por exemplo, ao voarem por longas distâncias para buscar frutos, dispersam sementes pelo caminho. Essas sementes podem rebrotar em áreas propícias modificando a vegetação. Podem atuar também como polinizadores de plantas com importância econômica ou social, como a planta da tequila (*Agave* sp.) e o pequi (*Caryocar brasiliensis*) (Aguilar et al., 2014). Outro serviço ecossistêmico prestado pelos morcegos é o controle de pragas e insetos, alguns de importância médica e agrícola (Kunz et al., 2011). Além disso, o guano excretado pelos morcegos pode ser usado como fertilizante, como matéria prima para a fabricação de sabão, combustível e até mesmo como antibiótico; além do fato de o sistema de ecolocalização utilizado por estes animais servirem de modelo para a criação de sistemas sonares (Campbell 1925; Hill and Smith 1986; Sanderson et al. 2003).

A despeito de sua importância ecológica, os morcegos podem atuar como hospedeiros, geralmente assintomáticos, de uma grande variedade de vírus (Wibbelt et al. 2010). Alguns desses vírus podem causar danos econômicos, como o da raiva, e outros, doenças em seres humanos, como o Coronavírus, responsável por doenças respiratórias, e o Ebola-vírus (Baker et al. 2013; Luis et al.

2013). Estima-se que mais de 200 diferentes tipos de vírus, de 27 famílias, já tenham sido isolados ou detectados em morcegos de ambas as subordens. A descoberta de novos vírus em morcegos foi, por muito tempo, negligenciada, devido à tendência dos pesquisadores procurarem apenas por vírus causadores de patologias. (Moratelli and Calisher 2015). No entanto, recentemente, surtos como o de Ebola na África têm suscitado a importância da vigilância epidemiológica nestes animais, fato que pode ser comprovado pela vasta literatura sobre vírus causadores de doenças, como o da raiva e o Coronavírus, responsável pela Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) (Anthony et al. 2013a; Anthony et al. 2013b).

Mesmo com o aumento do número de estudos relacionados aos morcegos à luz das doenças emergentes, pouco se conhece sobre a relação entre a presença dos vírus e o modo de vida dos morcegos. Apesar das crescentes descobertas de doenças causadas por vírus, que tem morcegos como hospedeiros, o campo de pesquisa sobre a biologia dos morcegos tem sido intocado por estes novos achados (Wibbelt et al. 2010). Com exceção de alguns poucos projetos de colaboração, investigadores epidemiológicos e pesquisadores que trabalham com morcegos não possuem uma parceria significativa (Wibbelt et al. 2010). A maioria dos epidemiologistas conhece os morcegos apenas por informações desatualizadas, sabendo pouco ou quase nada sobre a sua biologia, ecologia e evolução (Moratelli and Calisher 2015). O fato dos morcegos serem historicamente negligenciados pela comunidade científica e pelo público em geral, leva à existência de uma lacuna no conhecimento de dados básicos sobre a imunologia e ecologia de doenças nesses animais (Halpin et al. 2007).

Estudos a respeito da interação de vírus com outros mamíferos são comuns. Doenças virais e infecciosas foram responsáveis pelo declínio da população de grandes primatas (Chapman and Gogarten 2012). Na ordem Chiroptera, no entanto, não é possível afirmar se, e quais, doenças virais podem causar a morte de indivíduos em colônias. Sabe-se que a maioria dos vírus não causam doenças nos morcegos, porém a presença de alguns vírus pode levar ao aparecimento de sinais clínicos, como o vírus da raiva e o Tacaribe (Baker et al. 2012; George et al. 2011). Nos anos

recentes tem sido evidente que quanto maior a interação entre pesquisadores epidemiológicos e biólogos que estudam morcegos, maiores serão os benefícios a ambos os grupos, especialmente para que se entenda o porquê dos morcegos estarem associados a um grande número de doenças infecciosas (Wibbelt et al. 2010).

Assim, o objetivo desta dissertação foi entender um pouco melhor a relação entre os morcegos e os vírus. Para tanto, foi elaborado um levantamento bibliográfico, apresentado no capítulo 1, onde é possível verificar o que já se conhece sobre vírus descritos em morcegos ao redor do mundo. Em seguida, no capítulo 2, foi analisada a possível relação existente entre o hábito alimentar e a diversidade viral presente em quatro espécies de morcegos. Para isso, foram selecionadas três espécies de filostomídeos: *Glossophaga soricina*, que utiliza como fonte primária o pólen e o néctar; *Artibeus lituratus*, que é predominantemente frugívoro, e *Desmodus rotundus* que se alimenta obrigatoriamente de sangue, preferencialmente de mamíferos (Aguiar 2007; Gardner 1977). A espécie *Nyctinomops laticaudatus*, da família Molossidae, representa a guilda alimentar de morcegos insetívoros e foi escolhida por se tratar de uma espécie comumente encontrada em meio urbano e periurbano no Distrito Federal (Bredt et al. 1996).

## REFERÊNCIAS

- Aguiar LMS (2007) Subfamília Desmodontinae. In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, de Lima IP (eds) Morcegos do Brasil. Technical Books, Londrina, Paraná, pp 39-43.
- Aguiar LMS, Bernard E, Machado RB (2014) Habitat use and movements of *Glossophaga soricina* and *Lonchophylla dekeyseri* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a Neotropical savannah. *Zoologia* 31: 223–229.
- Anthony SJ, Epstein JH, Murray KA, Navarrete-Macias I, Zambrana-Torrel CM, Soloway A, Ojeda-Flores R, Arrigo NC, Islam A, Khan SA, Hosseini P, Bogich TL, Olival KJ, Sanchez-Leon D, Karesh WB, Goldstein T, Luby SP, Morse SS, Mazet JAK, Daszak O, Lipkin WI (2013a) A strategy to estimate unknown viral diversity in mammals. *MBio* 4:e00598-00513.
- Anthony SJ, Ojeda-Flores R, Rico-Chávez O, Navarrete-Macias I, Zambrana-Torrel CM, Rostal MK, Epstein JH, Tipps T, Liang E, Sanchez-Leon M, Sotomayor-Bonilla J, Aguirre AA, Ávila-Flores R, Medellín RA, Goldstein T, Suzán G, Daszak P, Lipkin WI. (2013b) Coronaviruses in bats from Mexico. *J Gen Virol*.
- Baker KS, Todd S, Marsh G, Fernandez-Loras A, Suu-Ire R, Wood JLN, Wang LF, Murcia PR, Cunningham AA (2012) Co-circulation of diverse paramyxoviruses in an urban African fruit bat population. *J Gen Virol* 93:850-856.
- Baker ML, Schountz T, Wang LF (2013) Antiviral immune responses of bats: a review. *Zoonoses Public Health* 60:104-116.
- Bredt A, Araujo F A A, Caetano Junior, J (1996) Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle. Fundação Nacional de Saúde. pp:117.
- Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T (2006) Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 19:531-545. doi: 10.1128/CMR.00017-06.
- Campbell CAR (1925) Bats, mosquitoes and dollars. The Stratford Co. , Boston, Mass.
- Chapman CA, Gogarten JF (2012) Primate conservation: is the cup half empty or half full? *Nature Education Knowledge*. 4:7.
- Cleveland CJ, Betke M, Federico P, Frank JD, Hallam TG, Horn J, López Jr JD, McCracken GF, Medellín RA, Moreno-Valdez A, Sansone CG, Westbrook JK, Kunz TH (2006) Economic value of the pest control service provided by Brazilian free-tailed bats in south-central Texas. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4:238-243.
- Fenton MB, Simmons NB (2015) Bats, a world of science and mystery. The University of Chicago Press, Brooklyn, New York. pp 303.

- Forman GL, Phillips CJ, Rouk CS (1979) Alimentary tract. In: Baker RJJ, J.K., Carter DC (eds) Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae. Part. III. Special publi. the museum Texas Tech university, Lubbock, Texas, pp 205-228.
- Gardner AL (1977) Feeding habits. In: Baker RJ, Jones JK, Carter DC (eds) Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae, Part II. Special Publ. The Museum Texas Tech University., Lubbock, Texas, pp 293-350.
- Gardner AL (2007) Order Chiroptera. In: Gardner AL (ed) Mammals of South America, vol 1. The University of Chicago Press, Chicago and London, pp 187-484.
- George DB, Webb CT, Farnsworth ML, O'She TJ, Bowen RA, Smith DL, Stanley TR, Ellison LE, Rupprecht CE (2011) Host and viral ecology determine bat rabies seasonality and maintenance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:10208-10213.
- Hill JE, Smith JD (1986) Bats: a natural history. University of Texas Press, Austin.
- Jones G, Teeling EC (2006) The evolution of echolocation in bats. *Trends Ecol Evol* 21:149-156.
- Koopman KF (1976) Zoogeography. In: Baker RJ, Jones JK, Carter DC (eds) Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae Part. I. Special Publ. Mus. Texas Tech University, Lubbock, Texas, p 218.
- Kuc R. 2011. Bat noseleaf model: Echolocation function, design considerations, and experimental verification. *J. Acoust. Soc. Am.* 129 (5): 3361–3366.
- Kunz, TH, Torrez EB, Bauer D, Lobova T, Fleming TH (2011) Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223: 1-38.
- López-Hoffman L, Varady RG, Flessa KW, Balvanera P (2010) Ecosystem services across borders: a framework for transboundary conservation policy. *Frontiers in Ecology and the Environment* 8(2): 84-91.
- Luis AD, Hayman DT, O'Shea TJ, Cryan PM, Gilbert AT, Pulliam JR, Miills JN, Timonin ME, Willis CK, Cunningham AA, Fooks AR, Rupprecht CE, Wood JL, Webb CT (2013) A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proc Biol Sci* 280:20122753.
- Mayen F (2003) Haematophagous bats in Brazil, their role in rabies transmission, impact on public health, livestock industry and alternatives to an indiscriminate reduction of bat population. *J. Vet. Med. B.* 50:469-472.
- Miller-Butterworth CM, Murphy WJ, O'Brien SJ, Jacobs DS, Springer MS, Teeling EC (2007) A family matter: conclusive resolution of the taxonomic position of the long-fingered bats, *miniopterus*. *Mol Biol Evol* 24:1553-1561.
- Moratelli R, Calisher CH (2015) Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:1-22.

- Nogueira MR, Lima IP, Moratelli R, Tavares VC, Gregorin R, Peracchi AL (2014) Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. *Check List* 10:808-821.
- Sanderson M, Neretti N, Intrator N, Simmons JA (2003) Evaluation of an auditory model for echo delay accuracy in wideband biosonar. *J. Acoust. Soc. Am.* 114:1648-1659.
- Simmons NB (2005) Order Chiroptera. In: Wilson DER, D.M. (ed) *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Smithsonian Institution Press, Washington, pp 312-529.
- Wibbelt G, Moore MS, Schountz T, Voigt CC (2010) Emerging diseases in Chiroptera: why bats? *Biol Lett* 6: 438-440.

# CAPÍTULO I

## O QUE CONHECEMOS SOBRE OS MORCEGOS E SEUS VÍRUS

### 1.1 INTRODUÇÃO

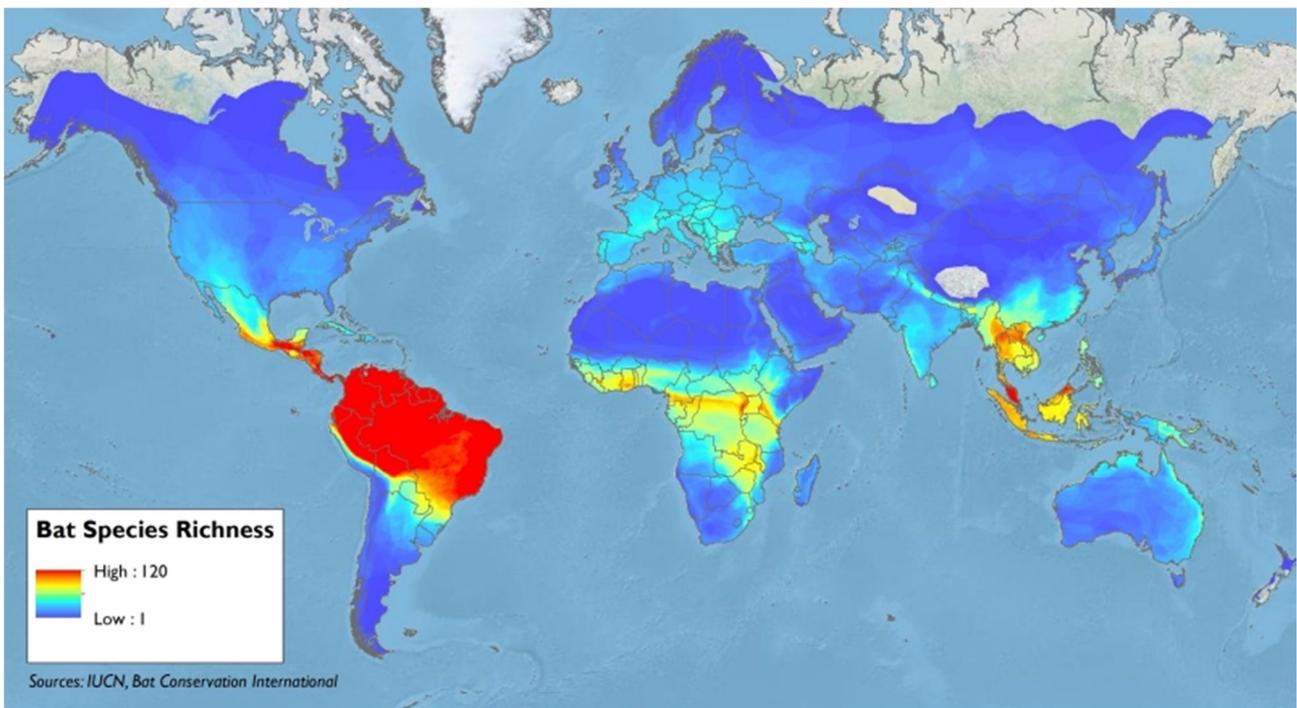
A ordem Chiroptera é a segunda maior ordem de mamíferos do mundo, com mais de 1300 espécies de morcegos descritas, amplamente distribuídas pelo globo, sendo encontradas em todos os continentes, com exceção da Antártica (Fenton and Simmons 2015). A diversidade de morcegos nos trópicos é maior que a de qualquer outro grupo de mamíferos (Figura 1). Os morcegos são considerados um dos vertebrados silvestres que mais interagem com seres humanos, seja por meio do uso de habitações, se alimentando em árvores frutíferas ou caçando insetos em áreas urbanas e rurais (Cleveland et al. 2006; Weber et al. 2007).

Morcegos apresentam algumas características que os tornam ideais para hospedarem e disseminarem um maior número de vírus que a maioria dos outros animais (Halpin et al. 2007; Wang et al. 2011). Por exemplo, o voo, que permite aos morcegos um maior leque de contatos com diversas outras espécies, em diferentes localidades, se comparados aos mamíferos não voadores, e que facilita também a transmissão de vírus entre essas espécies (Wang et al. 2011). A vida longa dos morcegos em relação ao seu tamanho corporal facilita a persistência viral por meio da transmissão de infecções crônicas e a capacidade de morcegos entrarem em prolongado torpor, com diminuição da imunidade causada pela queda da temperatura corporal, mantendo no corpo o vírus. O modo de vida gregário permite o contato inter e intra espécies, facilitando a transmissão de patógenos e por último, o fato de diferentes espécies possuírem diferentes dietas (Calisher et al. 2006; George et al. 2011; Halpin et al. 2007; Luis et al. 2013; Wang et al. 2011).

O comportamento alimentar de morcegos frugívoros também pode contribuir para a transmissão viral, pois a fim de sanar a sua demanda energética, os mesmos mastigam parte das frutas que capturam para aproveitar o açúcar, cuspidando o restante da fruta parcialmente digerida,

contendo saliva contaminada, facilitando a transmissão a outros animais que, ao comerem o alimento descartado, podem ser contaminados (Dobson 2005; Han et al. 2015). Há ainda a possibilidade da transmissão do Coronavírus por morcegos insetívoros do gênero *Rhinolophus* a um mamífero terrestre, o gato Civeta (*Paguma larvata*), pois tais morcegos descartariam as partes mais duras do inseto que usam de alimento, sendo tais partes do inseto ingeridas pelo gato Civeta, sendo este último considerado um reservatório potencial de vírus na epidemia do SARS-CoV (Dobson 2005).

Outra característica que poderia explicar o fato de morcegos serem portadores de vírus sem se tornarem sintomáticos seria o fato de que desenvolveram ossos ocos, sem medula óssea como nos demais mamíferos, a fim de facilitar o voo; a medula óssea é responsável por produzir linfócitos B, um dos constituintes do sistema imune, sugerindo que a sua ausência possa contribuir para a capacidade desses mamíferos hospedarem inúmeros vírus sem serem afetados (Dobson 2005; Han et al. 2015). É possível também associar a capacidade de morcegos da subordem Yungipterina ecolocalizarem com a transmissão de vírus: o sinal de ecolocalização produzido pela laringe é emitido pela boca ou pela narina, podendo gerar gotículas ou pequenas partículas de aerossóis provenientes de fluidos, muco ou saliva da orofaringe, possibilitando a transmissão de vírus entre indivíduos que se encontram nas proximidades (Calisher et al. 2006; Neuweiler 2000), como demonstrado por Constantine et al. (1972) que isolaram o vírus da raiva do muco presente em morcego molossídeo.



**Figura 1.** Riqueza de espécies de morcegos em escala global. Fonte: Bat Conservation International at <http://www.batcon.org/our-work/regions/worldwide>

A primeira vez que os cientistas estabeleceram uma conexão entre os morcegos e os vírus foi em 1906-1908 durante uma epidemia de raiva em Santa Catarina, no Brasil. Naquele surto uma média de 4000 cabeças de gado e 1000 cavalos e mulas morreram de raiva paralítica. Como morcegos hematófagos foram observados se aproximando desses animais e os mordendo, dois veterinários alemães foram chamados e constataram que o cérebro dos morcegos capturados possuíam corpúsculos de Negri (Halpin et al. 2007).

No início dos anos 50, a Fundação Rockefeller juntamente com algumas agências governamentais criaram programas para encontrar os vírus que estavam causando encefalites e febres tropicais. Por meio de pesquisas realizadas em campo em vários países tropicais, foram descobertos novos vírus, alguns deles isolados em morcegos (Downs 1982; Halpin et al. 2007). Em 1953, o vírus da raiva foi isolado em morcegos insetívoros nos Estados Unidos, momento em que investigadores começaram a cogitar a possibilidade de que os morcegos poderiam servir de reservatório para outros tipos de vírus (Halpin et al. 2007).

Nos anos seguintes diversos novos vírus foram encontrados em morcegos ao redor do mundo, como flavivirus, arenavírus, paramyxovirus e alguns vírus não classificados (Sulkin and Allen 1974). Porém, foi a partir de 1990 que os estudos sobre vírus encontrados em morcegos se intensificaram, devido ao avanço de doenças virais capazes de causar perdas humanas e econômicas (Halpin et al. 2007; Young et al. 1996). Diversos novos vírus que têm o morcego do gênero *Pteropus* como hospedeiro foram descobertos na Austrália e na Ásia, devido à ocorrência de surtos que levaram a morte de muitos animais e seres humanos, como é o caso do Nipah vírus, Hendra vírus e do vírus responsável pela Síndrome Respiratória Aguda Grave – SARS (Halpin et al. 2007). Novos vírus pertencentes ao gênero *Lyssavirus*, semelhantes ao vírus da raiva, capazes de causarem encefalites, foram identificados em morcegos frugívoros do gênero *Pteropus* na Austrália (Fraser et al. 1996).

Assim, a longa história evolutiva dos morcegos, datando de mais de 52,5 milhões de anos, possibilitou a coevolução entre os morcegos e diversos tipos de vírus (Han et al. 2015). Alguns vírus como os henipavirus e lyssavirus têm uma origem provavelmente antiga, sugerindo uma longa história de coespeciação (Calisher et al. 2006), assim como a coevolução entre morcegos, filovirus e coronavirus (Plowright et al. 2015). Recentemente um estudo apontou evidências de coevolução entre morcegos e herpesvirus (Zheng et al. 2016). Embora os morcegos sejam reconhecidos como hospedeiros de uma grande variedade de vírus, alguns dos quais podem cruzar barreiras e infectar seres humanos, animais domésticos e selvagens (Calisher et al. 2006; O'Shea et al. 2014), o estudo sobre a história natural dos morcegos e a sua importância como reservatório de vírus foi negligenciado por muitos anos, com exceção da relação com o vírus da raiva (Calisher et al. 2006; Halpin et al. 2007).

Quatro famílias de vírus merecem destaque por terem os morcegos como seus hospedeiros: a família *Rhabdoviridae*, cujo vírus do gênero *Lyssavirus* é responsável pela Raiva; a família *Flaviviridae*, cujos vírus do gênero *Flavivirus* possuem 18 espécies isoladas em morcegos, a família *Bunyaviridae*, com 12 vírus isolados em morcegos e a família *Paramyxoviridae*, sendo todas essas

pertencentes à ordem *Mononegavirales* (Calisher et al. 2006). Cabe ressaltar que nem todos os vírus são de importância médica, sendo que apenas sete dos vírus encontrados nas duas últimas famílias são responsáveis por viroses, como o vírus da Febre do Nilo, da família *Flaviviridae* e o Hantavírus, da família *Bunyaviridae* (Calisher et al. 2006; Halpin et al. 2007).

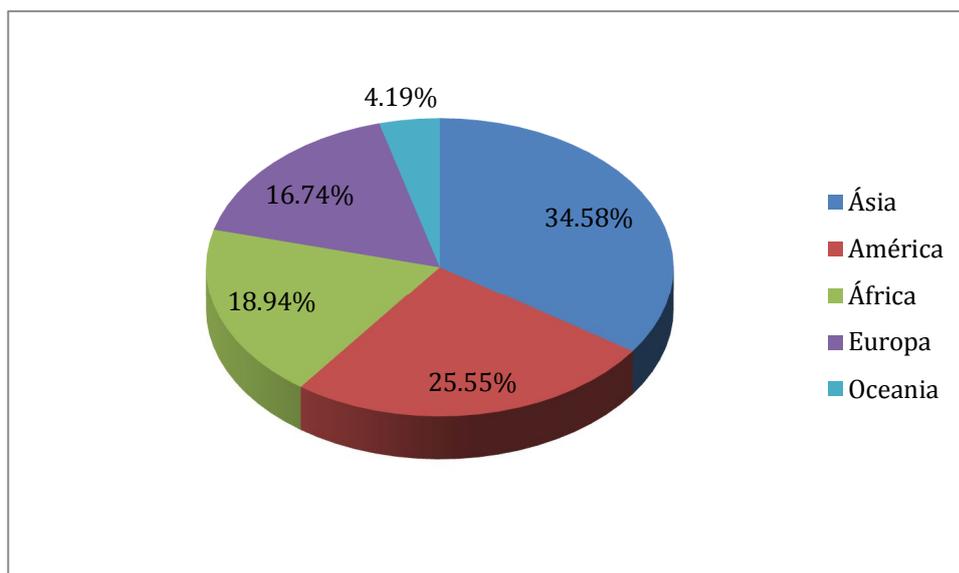
Dessa forma, o objetivo deste estudo foi compilar os dados sobre a existência de vírus em morcegos ao redor do mundo, para responder às seguintes questões: a) em quais regiões se concentram os estudos sobre vírus e morcegos? b) em quais morcegos foram encontrados vírus e quais são esses vírus, na região das Américas e do Brasil? c) quais as famílias de morcegos que possuem mais dados sobre vírus nas Américas e no Brasil? d) quais vírus já foram descritos para as espécies de morcegos *Artibeus lituratus* (frugívoro), *Glossophaga soricina* (nectarívoro), *Desmodus rotundus* (hematófago) e *Nyctinomops laticaudatus* (insetívoro), no Brasil?

## 1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A fim de verificar o estado do conhecimento sobre os vírus já encontrados em morcegos ao redor do mundo foram compilados, por meio da literatura, trabalhos publicados até o início do mês de junho de 2016. Foi utilizado como base para encontrar as referências o site [www.mgc.ac.cn/DBatVir/](http://www.mgc.ac.cn/DBatVir/) - The Database of Bat-associated Viruses/DBatVir (Chen et al. 2014). Essa base estava com dados atualizados desde julho de 2014 até o início de junho de 2016. Outra base de dados utilizada foi a plataforma Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br/>). Para a busca foram utilizadas as palavras chave em português e inglês: morcego (bat), vírus (virus), hospedam (harbor). Os dados compilados foram organizados em uma planilha excel onde constavam as famílias de vírus conhecidas para cada espécie de morcego por localidade geográfica (continente).

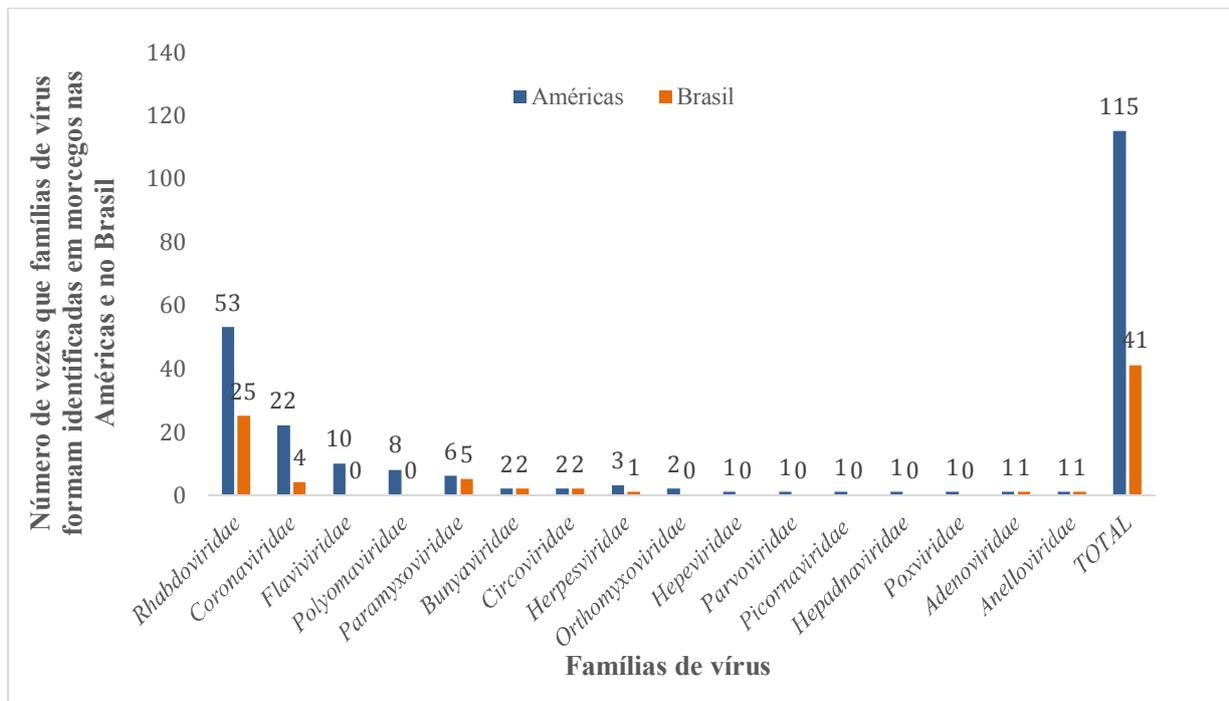
### 1.3 RESULTADOS

A compilação de dados resultou no registro de 454 identificações de vírus presentes em morcegos ao redor do mundo (Tabela 1, apêndice). O continente asiático apresentou o maior número de registros (34,58 %), seguido das Américas (25, 55%), África (18, 94%), Europa (16,74 %) e Oceania (4,19%) (Figura 2). Juntos os continentes do Velho Mundo (Ásia, África e Europa) são responsáveis por 57,71% do que se conhece sobre vírus em morcegos, ou seja, mais da metade dos dados se concentram nessa região.



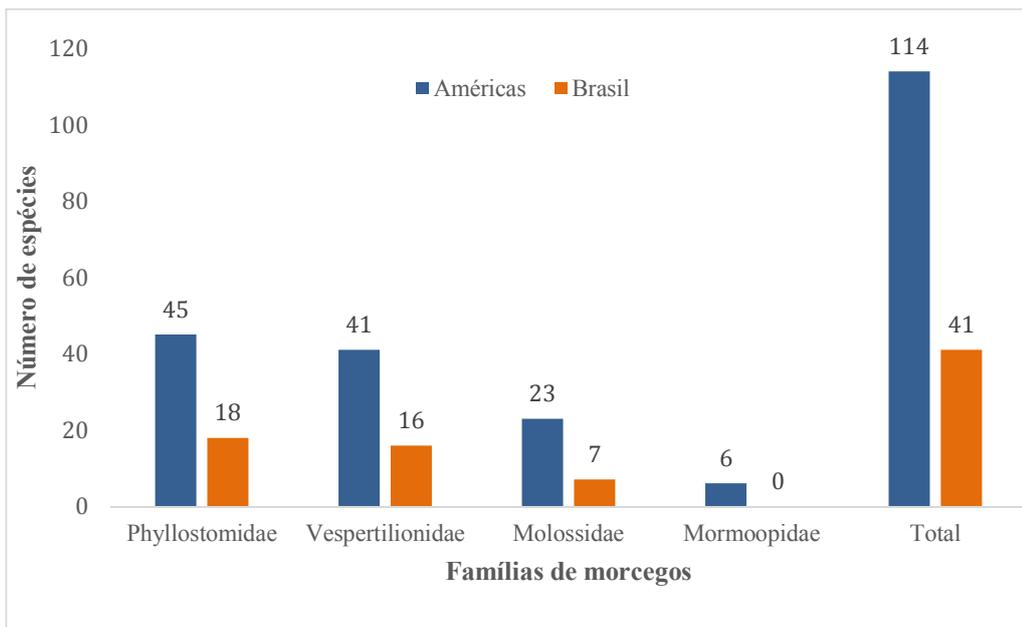
**Figura 2.** Ocorrência de estudos de vírus registrados em morcegos ao redor do mundo.

Ao todo 16 famílias de vírus já foram identificadas em quatro famílias de morcegos das Américas (Figura 3). No Brasil este número cai para oito famílias de vírus em apenas três famílias de morcegos. A família do vírus da raiva, *Rhabdoviridae*, foi a mais identificada, tanto nas Américas como no Brasil. Das 114 descrições de vírus em morcegos nas Américas, quase a metade (46,49%) pertence a esta família enquanto no Brasil, esta família é responsável por mais da metade das descrições (60,97%) (Figura 3).



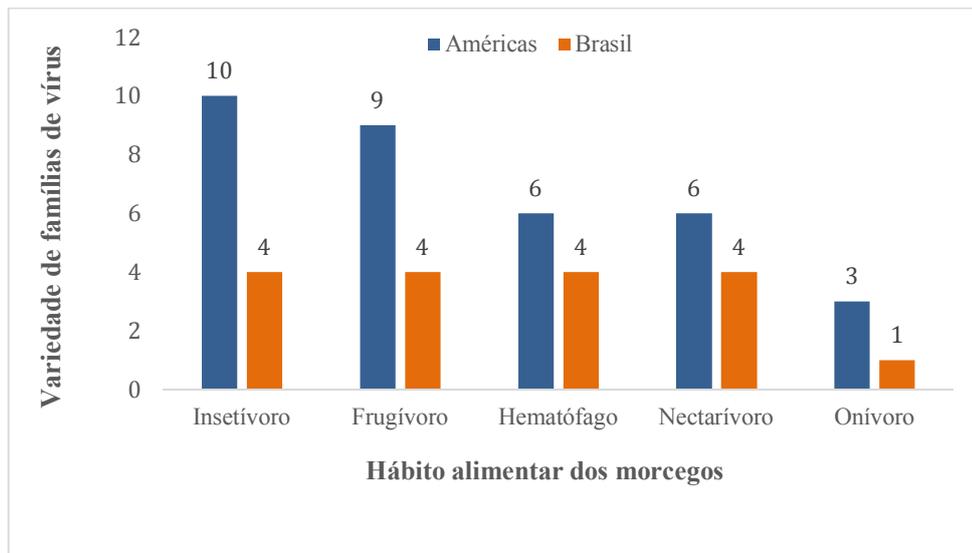
**Figura 3.** Famílias de vírus encontradas em morcegos nas Américas e no Brasil.

O continente americano possui a maior riqueza de espécies de morcegos do planeta, sendo a América Latina a maior responsável por isso (Figura 1), sendo que apenas no Brasil podem ser encontradas nove das 18 famílias de morcegos do planeta (Nogueira et al. 2014). No entanto apenas quatro famílias de quirópteros possuem dados sobre vírus no continente americano (Figura 4). No Brasil, este número é ainda menor, apenas três das nove famílias de morcegos encontradas no país possuem dados sobre vírus (Figura 4). Tanto nas Américas como no Brasil, a família Phyllostomidae possui mais espécies de morcegos com descrições de vírus: 45 espécies nas Américas e 18 no Brasil. No continente americano as seguintes famílias de morcegos também possuem dados sobre vírus: Vespertilionidae (41 espécies), Molossidae (23 espécies) e Mormoopidae (6 espécies), totalizando 114 espécies de morcegos. No Brasil as seguintes famílias de quirópteros possuem estudos sobre vírus, além da Phyllostomidae: Molossidae (16 espécies) e Vespertilionidae (7 espécies), totalizando 41 espécies de morcegos (Figura 4).



**Figura 4.** Famílias de morcegos com dados sobre vírus nas Américas e no Brasil.

Quanto às guildas alimentares, no continente americano os morcegos insetívoros apresentaram uma maior variedade de famílias de vírus (10), seguido pelos frugívoros (9). Os morcegos hematófagos e nectarívoros possuem a mesma variedade (6 cada), enquanto os onívoros o menor número (3). No Brasil os morcegos frugívoros, hematófagos, nectarívoros e insetívoros apresentam o mesmo número de famílias de vírus, cada uma com quatro diferentes famílias de vírus, enquanto os onívoros, tal como no continente americano, possuem uma menor variedade (3) (Figura 5).



**Figura 5.** Variedade de famílias de vírus por hábito alimentar dos morcegos nas Américas e no Brasil.

A Tabela 1 sintetiza quantas famílias de vírus foram descritas por localidade geográfica (país), no continente americano, em morcegos *Desmodus rotundus* (hematófago), *Artibeus lituratus* (frugívoro), *Glossophaga soricina* (nectarívoro) e *Nyctinomops laticaudatus* (insetívoro), as quatro espécies previamente selecionadas para este estudo, que possuem diferentes hábitos alimentares. *Desmodus rotundus* apresentou o maior número de descrições de vírus, 10 ao todo, sendo mais da metade desses vírus pertencentes à família *Rhabdoviridae*. *Artibeus lituratus* e *Glossophaga soricina*, apresentaram cada uma, três descrições de vírus e *Nyctinomops laticaudatus* apresentou apenas duas descrições. Analisando as famílias de vírus encontradas nas quatro espécies de morcegos, pode ser observado que a família *Rhabdoviridae* possui uma maior representatividade, sendo responsável por metade das descrições de vírus, seguida da família *Coronaviridae* (Figura 6).

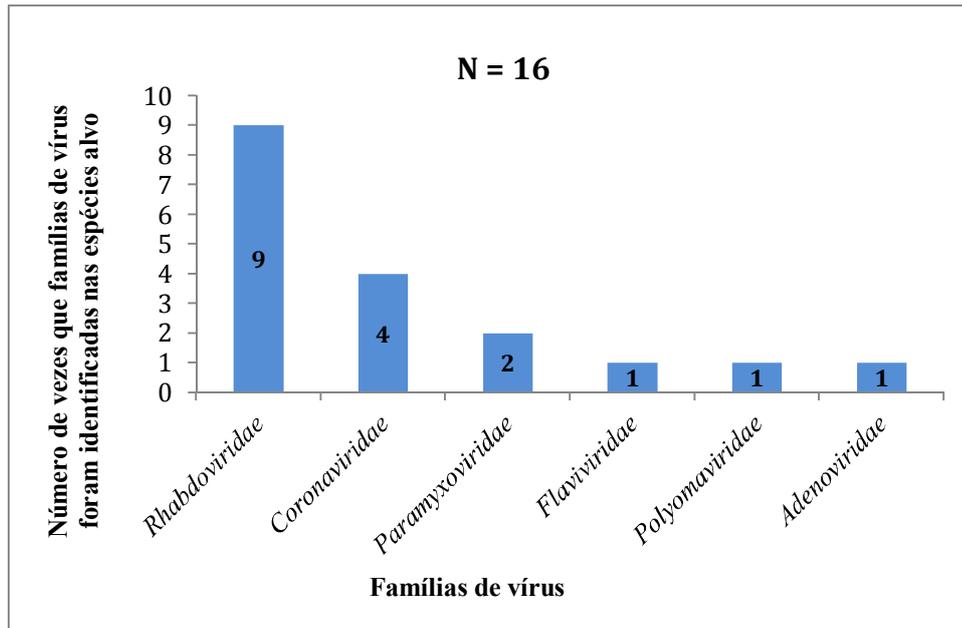
**Tabela 1.** Famílias de vírus descritas em morcegos das espécies *Artibeus lituratus*, *Desmodus rotundus*, *Glossophaga. soricina* e *Nyctinomops laticaudatus* por localidade (país) no continente americano.

Subordem	Família	Gênero	Espécie	Dieta	Virus (Familia)	Vírus (Gênero)	Localidade (País)	Fonte
Yangochiroptera	Phyllostomidae	Artibeus	<i>Artibeus lituratus</i>	Frugívoro	<i>Coronaviridae</i>	unknown	Panamá; México	1, 8,
					<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Brasil	16, 17, 18, 19, 22, 26, 30
					<i>Adenoviridae</i>	<i>Mastadenovirus</i>	Brasil	21
					<i>Flaviviridae</i>	<i>Pegivirus</i>	Guatemala	25
					<i>Paramyxoviridae</i>	unknown	Brasil	10
	Phyllostomidae	Desmodus	<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago	<i>Polyomaviridae</i>	<i>Polyomavirus</i>	Guiana Francesa	11
					<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Paraguai; Argentina; Peru; México; Brasil; Uruguai	23, 31, 34, 13, 3, 9, 20, 23, 32, 4, 5, 12, 14, 15, 17,18, 16, 19, 22, 27, 28,33
					<i>Coronaviridae</i>	<i>Alphacoronavirus</i>	Trinidad e Tobago	7
					<i>Paramyxoviridae</i>	unknown	Brasil	10
					<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Brasil	1
Phyllostomidae	Glossophaga	<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro	<i>Coronaviridae</i>	<i>Betacoronavirus</i>	México	2	
				<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Brasil	6, 16, 17, 18, 24, 29, 33,	
				<i>Coronaviridae</i>	<i>Betacoronavirus</i>	México	2	
Molossidae	Nyctinomops	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	Insetívoro	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Brasil	6, 16, 17, 18, 24, 29, 33,	

1. Albas A, Souza EA, Picolo MR, Favoretto SR, da Gama AR, Sodr  MM (2011) [The bats and rabies in the Western region of the State of São Paulo, Brazil]. Rev Soc Bras Med Trop 44:201-205.
- 2.. Anthony SJ, Oieda-Flores R, Rico-Chávez O, Navarrete-Macias I, Zambrana-Torrel  CM, Rostal MK, Epstein JH, Tipps T, Liang E, Sanchez-Leon M, SotomayorBonilla J, Aguirre AA, Ávila-Flores R, Medellín RA, Goldstein T, Suz n G, Daszak P, lipkin WI. (2013b) Coronaviruses in bats from Mexico. J Gen Virol.
3. Badrane H, Bahloul C, Perrin P, Tordo N (2001) Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. J Virol 75:3268-3276.

4. Campos AC, Melo FL, Romano CM, Araujo DB, Cunha EM, Sacramento DR, de Andrade Zanotto PM, Durigon EL, Favoretto SRI. (2011) One-step protocol for amplification of near full-length cDNA of the rabies virus genome. *J Virol Methods* 174:1-6.
5. Carneiro AJ, Franke CR, Stocker A, dos Santos F, Ungar de Sa JE, Moraes-Silva E, Alves JN, Brunink S, Corman VM, Drosten C, Drexler JF et al. (2010) Rabies virus RNA in naturally infected vampire bats, northeastern Brazil. *Emerg Infect Dis* 16:2004-2006.
6. Carnieli P Jr, Fahl Wde O, Brandão PE, Oliveira Rde N, Macedo CI, Durymanova E, Castilho JG. (2010) Comparative analysis of rabies virus isolates from Brazilian canids and bats based on the G gene and G-L intergenic region. *Arch Virol* 155:941-948.
7. Carrington CV, Foster JE, Zhu HC, Zhang JX, Smith GJ, Thompson N, Auguste AJ, Ramkissoon V, Adesiyun AA, Guan Y (2008) Detection and phylogenetic analysis of group 1 coronaviruses in South American bats. *Emerg Infect Dis* 14:1890-1893.
8. Corman VM, Rasche A, Diallo TD, Cottontail VM, Stöcker A, Souza BF, et al. (2013) Highly diversified coronaviruses in neotropical bats. *J Gen Virol* 94:1984-1994.
9. de Thoisy B, Bourhy H, Delaval M, Pontier D, Dacheux L, Darcissac E, Donato D, Guidez A, Larrous F, Lavenir R, Salmier A, Lacoste V, Lavergne A (2016) Bioecological Drivers of Rabies Virus Circulation in a Neotropical Bat Community. *PLoS Negl Trop Dis* 10:e0004378.
10. Drexler JF, Corman VM, Müller MA, Maganga GD, Vallo P, Binger T, Gloza-Raush F, Cottontail VM, Rasche A, Yordanov S, Seebens A, et al. (2012) Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nat Commun* 3:796.
11. Fagrouch Z, Sarwari R, Lavergne A, Delaval M, de Thoisy B, Lacoste V, Verschoor EJ (2012) Novel polyomaviruses in South American bats and their relationship to other members of the family Polyomaviridae. *J Gen Virol* 93:2652-2657.
12. Ferraz C, Achkar SM, Kotait I (2007) First report of rabies in vampire bats (*Desmodus rotundus*) in an urban area, Ubatuba, São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 49:389-390.
13. Guarino H, Castilho JG, Souto J, Oliveira ReN, Carrieri ML, Kotait I (2013) Antigenic and genetic characterization of rabies virus isolates from Uruguay. *Virus Res* 173:415-420.
14. Heinemann MB, Fernandes-Matioli FM, Cortez A, Soares RM, Sakmoto SM, Bernardi F, Ito FH, Madeira AM, Richtzenhain LJ (2002) Genealogical analyses of rabies virus strains from Brazil based on N gene alleles. *Epidemiol Infect* 128:503-511.
15. Ito M, Itou T, Shoji Y, Sakai T, Ito FH, Arai YT, Takasaki T, Kurane I (2003) Discrimination between dog-related and vampire bat-related rabies viruses in Brazil by strain-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Virol* 26:317-330.
16. Kobayashi Y, Sato G, Shoji Y, Sato T, Itou T, Cunha EM, Samara SI, Carvalho AA, Nociti DP, Ito FH, Sakai T (2005) Molecular epidemiological analysis of bat rabies viruses in Brazil. *J Vet Med Sci* 67:647-652.
17. Kobayashi Y, Okuda H, Nakamura K, Sato G, Itou T, Carvalho AA, Silva MV, Mota CS, Ito FH, Sakai T. (2007a) Genetic analysis of phosphoprotein and matrix protein of rabies viruses isolated in Brazil. *J Vet Med Sci* 69:1145-1154.
18. Kobayashi Y, Sato G, Kato M, Itou T, Cunha EM, Silva MV, Mota CS, Ito FH, Sakai T (2007b) Genetic diversity of bat rabies viruses in Brazil. *Arch Virol* 152:1995-2004.
19. Kobayashi Y, Suzuki Y, Itou T, Carvalho AA, Cunha EM, Ito FH, Goibori T, Sakai T (2010) Low genetic diversities of rabies virus populations within different hosts in Brazil. *Infect Genet Evol* 10:278-283.
20. Lavergne A, Darcissac E, Bourhy H, Tirera S, de Thoisy B, Lacoste V (2016) Complete Genome Sequence of a Vampire Bat Rabies Virus from French Guiana. *Genome Announc* 4.
21. Lima FE, Cibulski SP, Elesbao F, Carnieli Junior P, Batista HB, Roehe PM, Franco AC (2013) First detection of adenovirus in the vampire bat (*Desmodus rotundus*) in Brazil. *Virus Genes* 47:378-381. doi: 10.1007/s11262-013-0947-6.
22. Mochizuki N, Kobayashi Y, Sato G, Hirano S, Itou T, Ito FH, Sakai T (2011) Determination and molecular analysis of the complete genome sequence of two wild-type rabies viruses isolated from a haematophagous bat and a frugivorous bat in Brazil. *J Vet Med Sci* 73:759-766.
23. Nadin-Davis SA, Huang W, Armstrong J, Casey GA, Bahloul C, Tordo N, Wandeler AI (2001) Antigenic and genetic divergence of rabies viruses from bat species indigenous to Canada. *Virus Res* 74:139-156.
24. Oliveira ReN, de Souza SP, Lobo RS, Castilho JG, Macedo CI, Carnieli P Jr, et al. (2010) Rabies virus in insectivorous bats: implications of the diversity of the nucleoprotein and glycoprotein genes for molecular epidemiology. *Virology* 405:352-360.

25. Quan PL, Firth C, Conte JM, Williams SH, Zambrana-Torrel CM, Anthony SJ, Ellison JA et al. (2013) Bats are a major natural reservoir for hepaciviruses and pegiviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:8194-8199.
26. Queiroz LH, Favoretto SR, Cunha EM, Campos AC, Lopes MC, de Carvalho C, Yamamoto K, et al. (2012) Rabies in southeast Brazil: a change in the epidemiological pattern. *Arch Virol* 157:93-105.
27. Sato G, Itou T, Shoji Y, Miura Y, Mikami T, Ito M, Kurane I, Samara SI, Carvalho AA, Nociti DP, Ito FH, Sakai T (2004) Genetic and phylogenetic analysis of glycoprotein of rabies virus isolated from several species in Brazil. *J Vet Med Sci* 66:747-753.
28. Sato G, Kobayashi Y, Shoji Y, Sato T, Itou T, Ito FH, Santos HP, Brito CJ, Sakai T (2006) Molecular epidemiology of rabies from Maranhão and surrounding states in the northeastern region of Brazil. *Arch Virol* 151:2243-2251.
29. Sato G, Kobayashi Y, Motizuki N, Hirano S, Itou T, Cunha EM, Ito FH, Sakai T (2009) A unique substitution at position 333 on the glycoprotein of rabies virus street strains isolated from non-hematophagous bats in Brazil. *Virus Genes* 38:74-79.
30. Shoji Y, Kobayashi Y, Sato G, Itou T, Miura Y, Mikami T, Cunha EM, Samara SI, et al. (2004) Genetic characterization of rabies viruses isolated from frugivorous bat (*Artibeus* spp.) in Brazil. *J Vet Med Sci* 66:1271-1273.
31. Torres C, Lema C, Dohmen FG, Beltran F, Novaro L, Russo S, Freire MC, Velasco-Villa A, Mbaye VC, Cisterna DM (2014) Phylodynamics of vampire bat-transmitted rabies in Argentina. *Mol Ecol* 23:2340-2352.
32. Velasco-Villa A, Orciari LA, Juárez-Islas V, Gómez-Sierra M, Padilla-Medina I, Flisser A, Souza V, Castillo A, Franka R, Escalante-Mañe M, Sauri-González I, Rupprecht CE (2006) Molecular diversity of rabies viruses associated with bats in Mexico and other countries of the Americas. *J Clin Microbiol* 44:1697-1710.
33. Vieira LF, Pereira SR, Carnieli P, Tavares LC, Kotait I (2013) Phylogeography of rabies virus isolated from herbivores and bats in the Espírito Santo State, Brazil. *Virus Genes* 46:330-336.
34. Warner CK, Zaki SR, Shieh WJ, Whitfield SG, Smith JS, Orciari LA, Shaddock JH, Niezgoda M, et al. (1999) Laboratory investigation of human deaths from vampire bat rabies in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 60:502-507.



**Figura 6.** Famílias de vírus já descritas nas quatro espécies de morcego: *Artibeus lituratus*, *Desmodus rotundus*, *Glossophaga soricina* e *Nyctinomops laticaudatus*.

## 1.4 DISCUSSÃO

Observando-se os resultados do levantamento bibliográfico realizado percebe-se que grande parte dos estudos sobre morcegos e vírus se concentram na Ásia, África e Europa, continentes do Velho Mundo. Tal fato ocorre provavelmente por que há uma intensificação de estudos sobre vírus em morcegos a partir de 1990, nessa região, devido à ocorrência de doenças que afetam seres humanos e animais. Dois vírus altamente patogênicos para os seres humanos, causadores de encefalites que podem ser letais, foram descobertos nessa época (Eaton et al. 2006). Em 1994, uma doença respiratória causada pelo que mais tarde seria chamado Hendra vírus (*Paramyxoviridae*), levou cavalos e seres humanos a óbito na Austrália (Murray et al. 1995). Ainda em 1994 descobriu-se que o mesmo vírus seria capaz de causar encefalites (O'Sullivan et al. 1997). Em 1998 vários suínos e alguns seres humanos morreram na Malásia, Bangladesh e Índia (países asiáticos) devido a encefalites causadas pelo então descoberto, Nipah vírus (*Paramyxoviridae*) (Chua et al. 2000). Logo foi constatado que morcegos frugívoros do gênero *Pteropus* (Pteropodidae) estariam atuando como hospedeiros desses vírus, na Ásia e na Austrália (Chua et al. 2000; Rahman et al. 2010; Young et al. 1996), assim como morcegos do gênero *Eidolon* (Pteropodidae), na África (Baker et al. 2012; Drexler et al. 2009). A partir de então pesquisas de vírus em morcegos da família Pteropodidae, presentes apenas no Velho Mundo, se intensificaram, mantendo os estudos sobre morcegos e zoonoses virais concentrados nesta região (Moratelli and Calisher 2015).

Pelo fato do continente americano apresentar a maior riqueza de espécies de quirópteros do planeta, e ocupar o segundo lugar em número de estudos sobre vírus em morcegos, tem-se a falsa impressão de que existe uma grande diversidade de famílias de vírus identificadas em morcegos nessa região, tal qual ocorre no Velho Mundo. No entanto, essa percepção é devida ao grande número de pesquisas sobre o vírus da raiva (*Rhabdoviridae*). Essa relação é ainda maior quando se observam as descrições de vírus em morcegos no Brasil, onde mais da metade dos estudos faz referência à família *Rhabdoviridae*, indicando a lacuna de conhecimento sobre os vírus em morcegos neotropicais. Além disso, o resultado desta revisão mostrou que das 16 famílias de vírus

que se hospedam em morcegos nas Américas, apenas oito são conhecidas no Brasil, ou seja, a deficiência no conhecimento de quais vírus estão presentes nos morcegos do Brasil, é enorme.

A provável razão para a maior parte dos estudos no continente americano e mais especificamente no Brasil, se concentrarem na família de vírus *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*, se deve ao fato de que apenas nas Américas os morcegos atuam como hospedeiros do vírus da raiva (Kuzmin et al. 2011). Na Europa, África, Ásia e Austrália a raiva é transmitida por carnívoros domésticos e selvagens, mas não por morcegos, sendo estes, reservatórios de outros tipos de *Lyssavirus*, causadores de encefalites que não causam maiores danos em mamíferos (Escobar et al. 2015; Freuling et al. 2011; Racey et al. 2013).

Cabe destacar que a raiva é uma das mais importantes zoonoses virais, sendo responsável por mais de 55.000 mortes de seres humanos ao ano, além das perdas econômicas devido à morte de animais de produção e que 22,5% das espécies de morcegos da América Latina seriam positivas para o vírus da raiva, sendo o Brasil o líder nesse ranking (Escobar et al. 2015; Rupprecht et al. 2002). No entanto, mesmo sabendo que a densidade de cães e gatos em assentamentos humanos pode ser mais importante do que a simples presença de morcegos na determinação do risco de transmissão da raiva, (Escobar et al. 2015), muito do que se conhece sobre morcegos e vírus vem justamente de estudos sobre a raiva (Baker et al. 2013; Calisher et al. 2006). Como já citado no início desta discussão, outras famílias de vírus, como a *Paramyxoviridae*, causam encefalites que geram perdas humanas e econômicas em continentes como a Europa, África, Ásia e Austrália.

A família de morcegos Phyllostomidae é a mais estudada em relação aos seus vírus, tanto nas Américas como no Brasil. Provavelmente isso ocorre por, não apenas ter se originado nesta região, mas também ser a mais abundante em espécies nos Neotrópicos (Tavoloni 2007). No Brasil, a família de morcegos insetívoros, Molossidae, é a terceira mais estudada. Estes dados coincidem com o status do conhecimento das famílias de morcegos em áreas urbanas levantados por Pacheco et al. (2010) que apontaram que das 47 espécies brasileiras registradas em seu trabalho, 36%

pertenciam à família Phyllostomidae e 34% à família Molossidae. No entanto a escassez de dados sobre vírus em morcegos no país está refletida no fato de apenas três, das nove famílias de morcegos presentes no Brasil (Nogueira et al. 2014), apresentarem algum tipo de dado. Os estudos existentes sobre vírus em morcegos partem do ponto de vista da pesquisa por vírus específicos, causadores de doenças, não estando na grande maioria das vezes relacionados aos hábitos de vida dos morcegos.

Assim, no levantamento de dados não foi encontrado nenhum trabalho que correlacionasse diretamente a diversidade de vírus presente em determinada espécie de morcego com o seu hábito alimentar. Partindo desse fato e considerando a grande diversidade de hábitos alimentares dos morcegos e ainda, a lacuna do conhecimento sobre a relação entre morcegos e vírus, futuros estudos que correlacionem o hábito alimentar dos quirópteros com a sua diversidade viral, certamente serão de grande valia para expandir o conhecimento sobre esta relação. Tal conhecimento será importante não apenas para embasar estudos voltados para o efeito desses vírus nos morcegos, mas também para informar às pessoas que trabalham com morcegos sobre as probabilidades de encontrarem determinados tipos de vírus em determinadas espécies de quirópteros. Dessa forma, os pesquisadores terão mais tranquilidade ao trabalhar com os quirópteros, e, com mais informações a esse respeito, menor será o pânico em relação a esses animais.

## 1.5 REFERÊNCIAS

- Baker KS, Todd S, Marsh G, Fernandez-Loras A, Suu-Ire R, Wood JLN, Wang LF, Murcia PR, Cunningham AA (2012) Co-circulation of diverse paramyxoviruses in an urban African fruit bat population. *J Gen Virol* 93:850-856.
- Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T (2006) Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 19:531-545.
- Chen L, Liu B, Yang J, Jin Q (2014) DBatVir: the database of bat associated viruses. Database: bau021, Oxford.
- Chua KB, Belini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, Ksiazek TG, Rollin PE, Zaki SR, Shieh W, Goldsmith CS, Gubler DJ, Roehrig JT, Eaton B, Gould AR, Olson J, Field H, Daniels P, Ling AE, Peters CJ, Anderson LJ, Mahy BW (2000) Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science* 288:1432-1435.
- Cleveland CJ, Betke M, Federico P, Frank JD, Hallam TG, Horn J, López Jr JD, McCracken GF, Medellín RA, Moreno-Valdez A, Sansone CG, Westbrook JK, Kunz TH(2006) Economic value of the pest control service provided by Brazilian free-tailed bats in south-central Texas. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4:238-243.
- Constantine DG, Emmons RW, Woodie JD (1972) Rabies virus in nasal mucosa of naturally infected bats. *Science* 175:1255-1256.
- Dobson AP (2005) Virology. What links bats to emerging infectious diseases? *Science* 310:628-629.
- Downs WG (1982) The Rockefeller Foundation virus program: 1951-1971 with update to 1981. *Annu Rev Med* 33:1-29.
- Eaton BT, Broder CC, Middleton D, Wang LF (2006) Hendra and Nipah viruses: different and dangerous. *Nat Rev Microbiol* 4:23-35.
- Escobar LE, Peterson AT, Favi M, Yung V, Medina-Vogel G (2015) Bat-borne rabies in Latin America. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 57:63-72.

- Fenton MB, Simmons NB (2015) *Bats, a world of science and mystery*. The University of Chicago Press, Brooklyn, New York. pp: 303.
- Fraser GC, Hooper PT, Lunt RA, Gould AR, Gleeson LJ, Hyatt AD, Russell GM, Kattenbelt JA (1996) Encephalitis caused by a Lyssavirus in fruit bats in Australia. *Emerg Infect Dis* 2:327-331.
- Freuling CM, Beer M, Conraths FJ, Finke S, Hoffmann B, Keller B, Kliemt J, Mettenleiter TC, Mühlbach E, Teifke JP, Wohlsein P, Müller T (2011) Novel lyssavirus in Natterer's bat, Germany. *Emerg Infect Dis* 17:1519-1522.
- Halpin K, Hyatt AD, Plowright RK, Epstein JH, Daszak P, Field HE, Wang L, Daniels PW, Henipavirus Ecology Group (2007) Emerging viruses: coming in on a wrinkled wing and a prayer. *Clin Infect Dis* 44:711-717.
- Han HJ, Wen HL, Zhou CM, Chen FF, Luo LM, Liu JW, Yu XL (2015) Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. *Virus Res* 205:1-6.
- Kuzmin IV, Bozick B, Guagliardo SA, Kunkel R, Shak JR, Tong S, Rupprecht CE (2011) Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerg Health Threats J* 4:7159.
- Luis AD, Hayman DT, O'Shea TJ, Cryan PM, Gilbert AT, Pulliam JR, Mills JN, Timonin ME, Willis CK, Cunningham AA, Fooks AR, Rupprecht CE, Wood JL, Webb CT (2013) A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proc Biol Sci* 280:20122753.
- Moratelli R, Calisher CH (2015) Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:1-22.
- Murray K, Selleck P, Hooper P, Hyatt A, Gould A, Gleeson L, Westbury H, Hiley L, Selvey L, Rodwell B et al. (1995) A morbillivirus that caused fatal disease in horses and humans. *Science* 268:94-97.
- Neuweiler G (2000) *The biology of bats*. Oxford University Press., Oxford, England.

- Nogueira MR, Lima IP, Moratelli R, Tavares VC, Gregorin R, Peracchi AL (2014) Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. *Check List* 10:808-821.
- O'Shea TJ, Cryan PM, Cunningham AA, Fooks AR, Hayman DT, Luis AD, Peel AJ, Plowright RK, Wood JL et al. (2014) Bat flight and zoonotic viruses. *Emerg Infect Dis* 20:741-745.
- O'Sullivan JD, Allworth AM, Paterson DL, Snow TM, Boots R, Gleeson LJ, Gould AR, Hyatt AD, Bradfield J (1997) Fatal encephalitis due to novel paramyxovirus transmitted from horses. *Lancet* 349:93-95.
- Pacheco SM, Sodré M, Gama AR, Bredt A, Cavallini EM, Marques RV, Guimarães MM, Bianconi G. (2010) Morcegos urbanos: status do conhecimento e plano de a o para a conserva o no Brasil. *Chiroptera Neotropical*. 16:629-647.
- Plowright RK, Eby P., Hudson PJ, Smith IL., Westcott D, Bryden WL, Middleton D, Reid PA et al. (2015) Ecological dynamics of emerging bat virus spillover. *Proc Biol Sci* 282:20142124.
- Racey PA, Hutson AM, Lina PH (2013) Bat rabies, public health and European bat conservation. *Zoonoses Public Health* 60:58-68.
- Rahman SA, Hassan SS, Olival KJ, Mohamed M, Chang LY, Hassan L, Saad NM et al. (2010) Characterization of Nipah virus from naturally infected *Pteropus vampyrus* bats, Malaysia. *Emerg Infect Dis* 16:1990-1993.
- Rupprecht CE, Hanlon CA, Hemachudha T (2002) Rabies re-examined. *Lancet Infect Dis* 2:327-343.
- Sulkin SE, Allen R (1974) Virus infections in bats. In: Melnick JL (ed) *Monographs in virology.*, vol 8. S. Karger, New York, pp 170-175.
- Tavoloni P (2007) Diversity and frugivory of phyllostomus bats (Chiroptera, Phyllostomidae) in the secondary habitats and plantations of *Pinus* spp., in the municipality of Anhembi - SP. *Mastozoologia Neotropical* 14:120-120.
- Wang LF, Walker PJ, Poon LLM (2011) Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats 'special' as reservoirs for emerging viruses? *Current opinion in Virology*. 1:649-657.

- Weber MM, Arruda JLS, Caceres NC (2007) Ampliação da distribuição de quatro espécies de morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Biota Neotropica*. 7:293-296
- Young PL, Halpin K, Selleck PW, Field H, Gravel JL, Kelly MA, Mackenzie JS (1996) Serologic evidence for the presence in Pteropus bats of a paramyxovirus related to equine morbillivirus. *Emerg Infect Dis* 2:239-240.
- Zheng XY, Qiu M, Chen SW, Xiao JP, Ma LZ, Liu S, Zhou JH et al. (2016) High prevalence and diversity of viruses of the subfamily Gammaherpesvirinae, family Herpesviridae, in fecal specimens from bats of different species in southern China. *Arch Virol* 161:135-140.

## CAPÍTULO II

### O HÁBITO ALIMENTAR DE MORCEGOS (MAMMALIA, CHIROPTERA) E SUA RELAÇÃO COM A DIVERSIDADE VIRAL

#### 2.1 INTRODUÇÃO

A ordem Chiroptera, representada pelos morcegos, é a segunda maior ordem de mamíferos, com mais de 1300 espécies descritas, amplamente distribuídas pelo globo, sendo encontradas em todos os continentes, com exceção da Antártida (Fenton and Simmons 2015). Os morcegos apresentam uma enorme diversidade de hábitos alimentares (Gardner 1977) e desempenham importantes funções ecológicas e econômicas (Kunz et al. 2011). Morcegos frugívoros podem atuar como dispersores de sementes, e os nectarívoros como polinizadores, duas atividades que influenciam na estrutura da vegetação (Fleming 1982a; Fleming and Heithaus 1981). Estudos recentes sugerem que morcegos insetívoros nos Estados Unidos, geram uma economia de 22,9 bilhões de dólares por ano, ao atuarem no controle de pragas e insetos (Boyles et al. 2011).

Apesar de sua importância para o meio ambiente, os morcegos representam um potencial reservatório de patógenos com potenciais zoonóticos (Wibbelt et al. 2010), pois possuem diversas características peculiares (Wynne and Wang 2013), tais como: (i) a habilidade de voar; (ii) a vida relativamente longa em relação ao seu tamanho corporal; (iii) a capacidade de algumas espécies entrarem em prolongado torpor; (iv) o fato de algumas espécies serem gregárias e viverem em ambientes populosos com múltiplas espécies interagindo; (v) e o fato de diferentes espécies possuírem dietas incomuns e diversificadas (Calisher et al. 2006; George et al. 2011; Halpin et al. 2007; Luis et al. 2013; Wang et al. 2011).

A longa história evolutiva dos morcegos, datando de mais de 52,5 milhões de anos, possibilitou a sua coevolução com diversos tipos de vírus (Han et al. 2015). Alguns vírus como os henipavirus e lyssavirus têm uma origem provavelmente antiga, sugerindo uma longa história de

coespeciação (Calisher et al. 2006), assim como a coevolução entre morcegos, filovírus e coronavírus (Plowright et al. 2015). Recentemente um estudo apontou evidências de coevolução entre morcegos e herpesvírus (Zheng et al. 2016).

A diversidade de espécies e a ampla distribuição geográfica dos morcegos (Koopman 1976) exercem influência na riqueza de seus parasitas (Maganga et al. 2014). Sabendo que, além desses fatores, os morcegos também possuem uma dieta diversificada (Gardner 1977), foi levantada a hipótese de que o hábito alimentar exerce influência sobre a diversidade viral dos morcegos e de que quanto mais especializado o hábito alimentar, menor a diversidade viral encontrada no intestino das espécies. Em um trabalho realizado em 2010 na Califórnia e no Texas, foram encontrados diversos vírus de insetos e plantas no guano de morcegos insetívoros (Li et al. 2010b), levando a pressupor que os vírus presentes no intestino estão ligados à dieta. No entanto, não há estudos que permitam afirmar que exista relação entre o hábito alimentar dos morcegos e a diversidade viral.

Estudos sobre vírus em morcegos, na maioria das vezes, partem do ponto de vista da pesquisa por vírus específicos, geralmente os que causam doenças. A maioria dos estudos existentes sobre o assunto se concentram no Velho Mundo (Ásia, África e Europa), provavelmente devido ao surgimento, a partir de 1990, de epidemias nessa região que levaram seres humanos e animais à óbito, tais como as encefalites provocadas pelo Hendra e Nipah vírus, na Austrália e na Ásia, e os surtos de Ebola na África (Chua et al. 2000; Murray et al. 1995). A maioria dos estudos sobre morcegos e vírus no Brasil, se concentra no vírus da raiva, uma importante zoonose, responsável por mais de 55000 mortes de seres humanos ao ano, e por enormes perdas econômicas devido à morte de animais de produção (Escobar et al. 2015). Estima-se que 22,5 % das espécies de morcegos da América Latina sejam positivas para o vírus da raiva (Rupprecht et al. 2002). Existe, portanto, uma lacuna no conhecimento de vírus em morcegos na região das Américas, bem como no estudo sobre a relação entre os hábitos de vida dos morcegos e a diversidade viral.

Nesse trabalho é avaliado se a dieta influencia a diversidade viral em quatro espécies de morcegos: *Artibeus lituratus* (frugívoro), *Glossophaga soricina* (nectarívoro) e *Desmodus rotundus* (hematófago), pertencentes à família Phyllostomidae, e uma espécie da família Molossidae, *Nyctinomops laticaudatus* (insetívoro) (Figura 1). As quatro espécies são comumente encontradas no meio urbano e nas proximidades do Distrito Federal (Bredt et al. 1999).

*Nyctinomops laticaudatu* é caracterizado por apresentar a cauda espessa e livre, ultrapassando a borda distal do uropatágio (Fabian e Gregorin 2007). Possui ampla distribuição, do México à América do Sul, e forma colônias que variam de 150 a 1000 indivíduos (Avila-Flores et al. 2002). É uma espécie bastante comum, tanto em áreas urbanas quanto selvagens, e pode se abrigar em frestas em edificações urbanas. *N. laticaudatus* se alimentam exclusivamente de insetos capturados em voo e suas presas prediletas são Coleópteros e Lepidópteros, caçados por meio da ecolocalização (Fenton 1982). É interessante ressaltar que esses insetos representam as maiores ordens, sendo a primeira representada por mais de 165.000 espécies descritas (Regier et al. 2009), e a segunda mais de 350.000 (<http://www.ento.csiro.au/education/insects/coleoptera.html>).

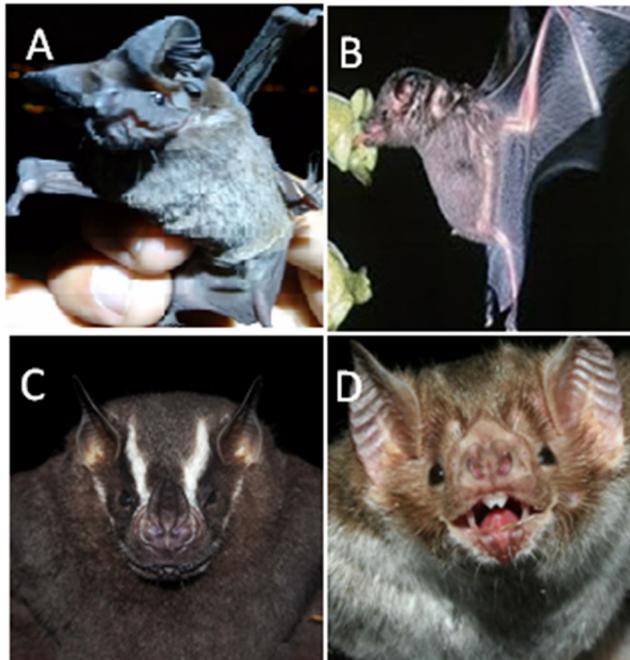
Outra espécie de morcego com dieta especializada é *Desmodus rotundus*. Essa espécie é hematófaga, e se alimenta preferencialmente de sangue de mamíferos (Aguiar 2007). *D. rotundus* formam colônias com estrutura social bem desenvolvida, onde os indivíduos compartilham alimentos. Podem voar grandes distancias a fim de encontrar as presas (Altringham and Fenton 2003; Mayen 2003). *D. rotundus* é a espécie mais estudada no Brasil, principalmente por causa da sua relação com o vírus da raiva e o ciclo de transmissão para outros animais domésticos (Halpin et al. 2007).

*Glossophaga soricina* é uma espécie que tem como principal alimento o pólen e o néctar, mas se alimenta de frutos e insetos ocasionalmente (Helvesen and Winter 2003). Essa espécie utiliza o olfato, a ecolocalização e a visão para localizar seu alimento (Helvesen and Winter 2003). *G. soricina* pairam no ar enquanto se alimentam com a longa e afilada língua, com papilas e cerdas

que permitem capturar o pólen e o néctar das flores com grande eficiência (Harper et al. 2013; Winter and Helversen 2003). *G. soricina* tem ampla distribuição, ocorrendo do México até as Guianas, o Brasil e norte da Argentina (Simmons 2005).

Já a espécie *Artibeus lituratus* é primariamente frugívora, mas eventualmente consome insetos, flores e folhas (Aguiar and Marinho-Filho 2007), desempenhando um importante papel de dispersores de sementes, influenciando a estrutura da vegetação (Fleming 1982b; Fleming e Heithaus 1981). Tem ampla distribuição, ocorrendo do México até o norte da Argentina, Bolívia, Trinidad e Tobago, Pequenas Antilhas, Ilhas Três Marias e Brasil (Simmons 2005).

Assim, considerando o fato da abundância dos vírus, não típicos de mamíferos, encontrados em fezes de morcegos em alguns estudos anteriores, estarem geralmente associados ao tipo de dieta dos morcegos (Li et al. 2010b; Wu et al. 2016), é esperado que o viroma intestinal varie de acordo com o hábito alimentar das espécies de morcegos selecionadas. Portanto, foram testadas as seguintes hipóteses: 1) o hábito alimentar influencia na diversidade viral, 2) quanto mais especializada a dieta, menor será a diversidade viral encontrada no intestino dos morcegos.



**Figura 1:** espécies de morcego estudadas (A) *Nyctinomops laticaudatus* (B) *Glossophaga soricina*.  
Fonte (<http://www.gesneriads.ca/paliav08.htm>), acessada em 10/05/16) (C) *Artibeus lituratus* Fonte  
(<http://www.flicker.com>), acessada em 08/06/2016) (D) *Desmodus rotundus*. Fonte:  
(<http://www.morcegosdobrasil.blogspot.com>, acessada em 09/06/2016).

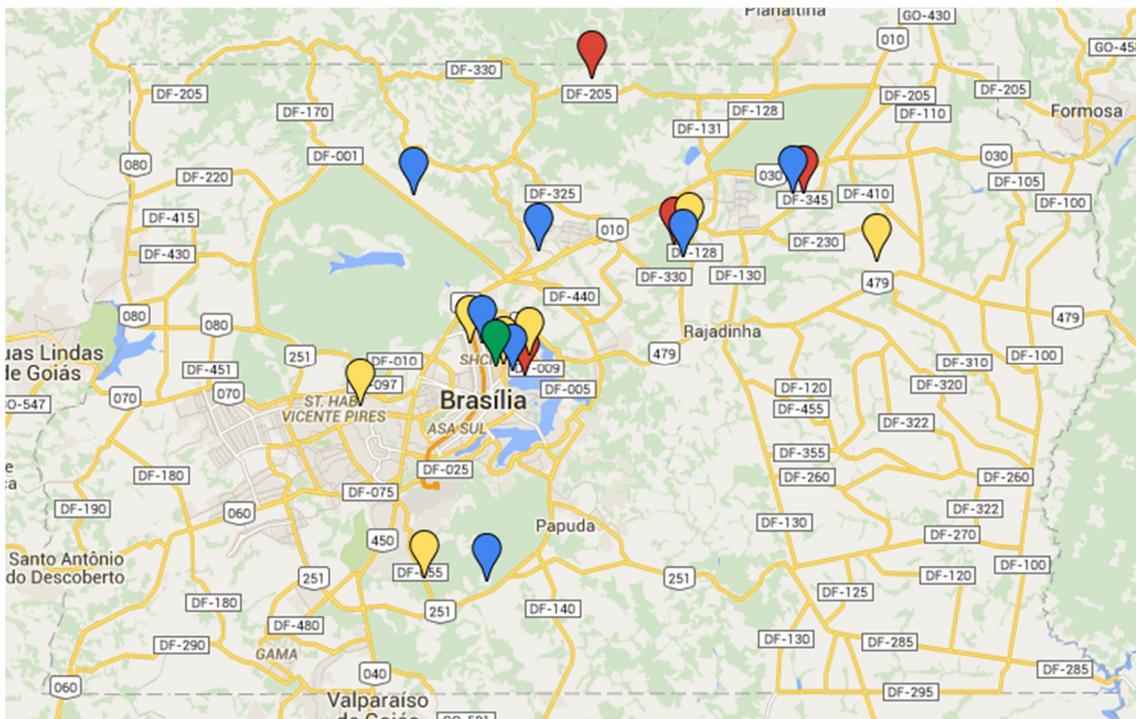
## 2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.2.1 LOCAL E MÉTODOS DE COLETA

Foram coletados em pontos aleatórios do Distrito Federal, no domínio Cerrado do Planalto Central (Figura 2), nos anos de 2014 e 2015, 15 indivíduos de cada uma das quatro espécies de morcego selecionadas: *Artibeus lituratus*, *Glossophaga soricina*, *Desmodus rotundus* e *Nyctinomops laticaudatus*. A escolha das espécies foi baseada nos fatores dieta e na facilidade de serem encontradas no meio urbano e rural. Os fatores sexo e idade foram levados em conta no momento da coleta, evitando-se coletar fêmeas em período reprodutivo.

As capturas foram realizadas com redes de neblina 12 x 2,6 metros, abertas das 18 horas até às 24 horas, dispostas em sequência em bordas e corredores de mata, entrada de cavernas ou frestas de edificações. As redes eram vistoriadas a cada quinze minutos. Em capturas realizadas no sótão de residências foi utilizado puçá.

Os indivíduos capturados foram identificados em campo segundo Vizzoto and Taddei (1973), pesados e encaminhados ao Laboratório de Virologia e Microscopia da Universidade de Brasília onde foram eutanasiados com Isoflurano. Após a eutanásia foram necropsiados em Cabine de Biossegurança NBII e amostras de intestino armazenadas a -80 graus de temperatura. As carcaças dos indivíduos coletados foram depositadas na coleção do Laboratório de Biologia e Conservação de Morcegos da Universidade de Brasília.



**Figura 2.** Locais de captura dos morcegos no Distrito Federal. Vermelho (*Desmodus rotundus*), Amarelo (*Artibeus lituratus*), verde (*Nyctinomops laticaudatus*), azul (*Glossophaga soricina*). Fonte: Google Maps.

### 2.2.2 ULTRACENTRIFUGAÇÃO E EXTRAÇÃO DE ÁCIDO NUCLEICO VIRAL

Para o enriquecimento de partículas virais e eliminação de DNA do hospedeiro e microrganismos associados, as amostras foram submetidas a alguns tratamentos antes da extração dos ácidos nucleicos. Todas as amostras de intestino coletadas foram individualmente depositadas em tubos Falcon de 15 ml e misturadas ao tampão SM Buffer (50 mM Tris, 10 mM MgSO<sub>4</sub>, 0,1 M NaCl, pH 7,5), sendo então maceradas. A solução foi centrifugada a 16000 x G por 20 minutos. O sobrenadante foi novamente centrifugado a 16000 x G por mais 10 minutos. Os homogenatos foram filtrados por membrana de 0,22 micrômetros e ultracentrifugados por duas horas a 290.000 x G. O sobrenadante foi descartado e 200 microlitros de SM Buffer filtrados foram adicionados ao conteúdo centrifugado e mantidos em geladeira a 4 °C durante a noite. No dia seguinte cada amostra foi transferida para tubos e armazenada à -80 °C. Posteriormente, foram acrescentados 2,5U/μl de DNase e 0,25 /μl de RNase às amostras que ficaram incubadas em estufa a 37 °C durante 01 hora a fim de remover os ácidos nucleicos livres (Rosario et al. 2014). Após esse período o DNA e o RNA

das amostras foram extraídos utilizando o protocolo estabelecido no Kit ZR Viral DNA/RNA (Zymo). A Figura 3 apresenta um organograma dos procedimentos realizados.

### **2.2.3 SEQUENCIAMENTO, MONTAGEM E ANÁLISE DA DIVERSIDADE VIRAL**

A fim de identificarmos o maior número de vírus, de maneira não enviesada, o sequenciamento foi realizado por NGS. Uma fração do DNA extraído foi utilizada para a amplificação de DNA viral por círculo rolante – RCA (rolling circle amplification) (Inoue-Nagata et al. 2004) com a enzima Phi-29 DNA polymerase (NEB). Após confirmação da amplificação as amostras foram agrupadas por espécie para sequenciamento. As bibliotecas foram preparadas com o kit Nextera DNA Library e sequenciadas na plataforma Illumina MiSeq System com o kit MiSeq Reagent Kit v2 (2 x 150 cycles), na Universidade Católica de Brasília (UCB). As sequências obtidas (*reads*) foram processadas e montadas usando software CLC Genomics Workbench v.6.0.3. Os *contigs* resultantes foram comparados com o banco de dados Viral RefSeq (GenBank), utilizando o programa BLASTX. A anotação dos genomas foi realizada com auxílio do programa Geneious 9.1 (<http://www.geneious.com>, (Kearse et al. 2012)). Os alinhamentos dos genomas e as análises filogenéticas foram realizados com os algoritmos MAFFT (Katoh et al. 2002) e PhyML (Guindon and Gascuel 2003), respectivamente, ambos implementados no programa Geneious 9.1. O organograma apresentado na Figura 3 mostra a sequência de procedimentos realizados.

Após a identificação dos genomas, a similaridade entre os diferentes viromas foi avaliada por análise multidimensional (MDS), implementada no programa R (Team 2014), utilizando distância euclidiana.



**Figura 3.** Organograma dos procedimentos realizados para a obtenção dos genomas virais presentes no intestino das quatro espécies de morcegos estudadas.

## 2.3 RESULTADOS

Um resumo do sequenciamento das quatro bibliotecas é apresentado na Tabela 1. Todas as bibliotecas apresentaram rendimento maior que 700 mil leituras (*reads*) e com tamanho médio de aproximadamente 100 nucleotídeos. A montagem *de novo* de cada biblioteca gerou de 300 até 3339 contigs (>200nt), com valores de N50 variando de 334 até 617 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultado do sequenciamento MiSeq e da montagem *de novo*.

<b>Biblioteca</b>	<b># leituras (reads)</b>	<b>Tamanho médio (nt)</b>	<b>Qualidade (Q30)* (%)</b>	<b># de contigs (&gt;200 nt)</b>	<b>N50 (nt)**</b>
<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	930,256	105	99,8	2142	530
<i>Glossophaga soricina</i>	752,542	102	99,7	410	617
<i>Desmodus rotundus</i>	700,120	110	99,7	300	562
<i>Artibeus lituratus</i>	762,500	109	99,8	3339	334

\*Q30: 1 base errada a cada 1000 bases sequenciadas.

\*\* tamanho mínimo de 50% contigs.

Após a análise dos *contigs por* BLASTX, 54 genomas virais (51 completos e 3 incompletos) foram identificados e anotados, como pode ser verificado na Tabela 2. Houve uma grande diferença no número de vírus encontrados nas quatro espécies. As análises filogenéticas dos vírus das famílias *Anelloviridae*, *Circoviridae* e *Polyomaviridae* são apresentadas nas Figuras 4, 5 e 6, respectivamente.

**Tabela 2.** Grupos de vírus (Família/Gênero) encontrados em cada espécie de morcego: *Nyctinomops laticaudatus* (A), *Glossophaga soricina* (B), *Desmodus rotundus* (C) e *Artibeus lituratus* (D).

<b>Vírus (família)</b>	<b>Vírus (gênero)</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>Total</b>
	<i>Girovirus</i>	0	0	3	0	<b>3</b>
<b><i>Anelloviridae</i></b>	Não classificados	2	3	4	3	<b>12</b>
	<i>Circovirus</i>	3	2	0	0	<b>5</b>
<b><i>Circoviridae</i></b>	<i>Cyclovirus</i>	4	0	0	0	<b>4</b>
	Não classificados	2	2	0	1	<b>5</b>
<b><i>Polyomaviridae</i></b>	<i>Polyomavirus</i>	1	1	0	0	<b>2</b>
<b><i>Parvoviridae</i></b>	<i>Tetraparvovirus</i>	0	0	0	1	<b>1</b>
<b><i>Bidnaviridae</i></b>	<i>Bidensovirus</i>	1	0	0	0	<b>1</b>
<b><i>ssDNA não classificado</i></b>	<i>Gemycircularvirus</i>	8	0	1	0	<b>9</b>
	<i>outros</i>	7	4	0	1	<b>12</b>
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>28</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>54</b>

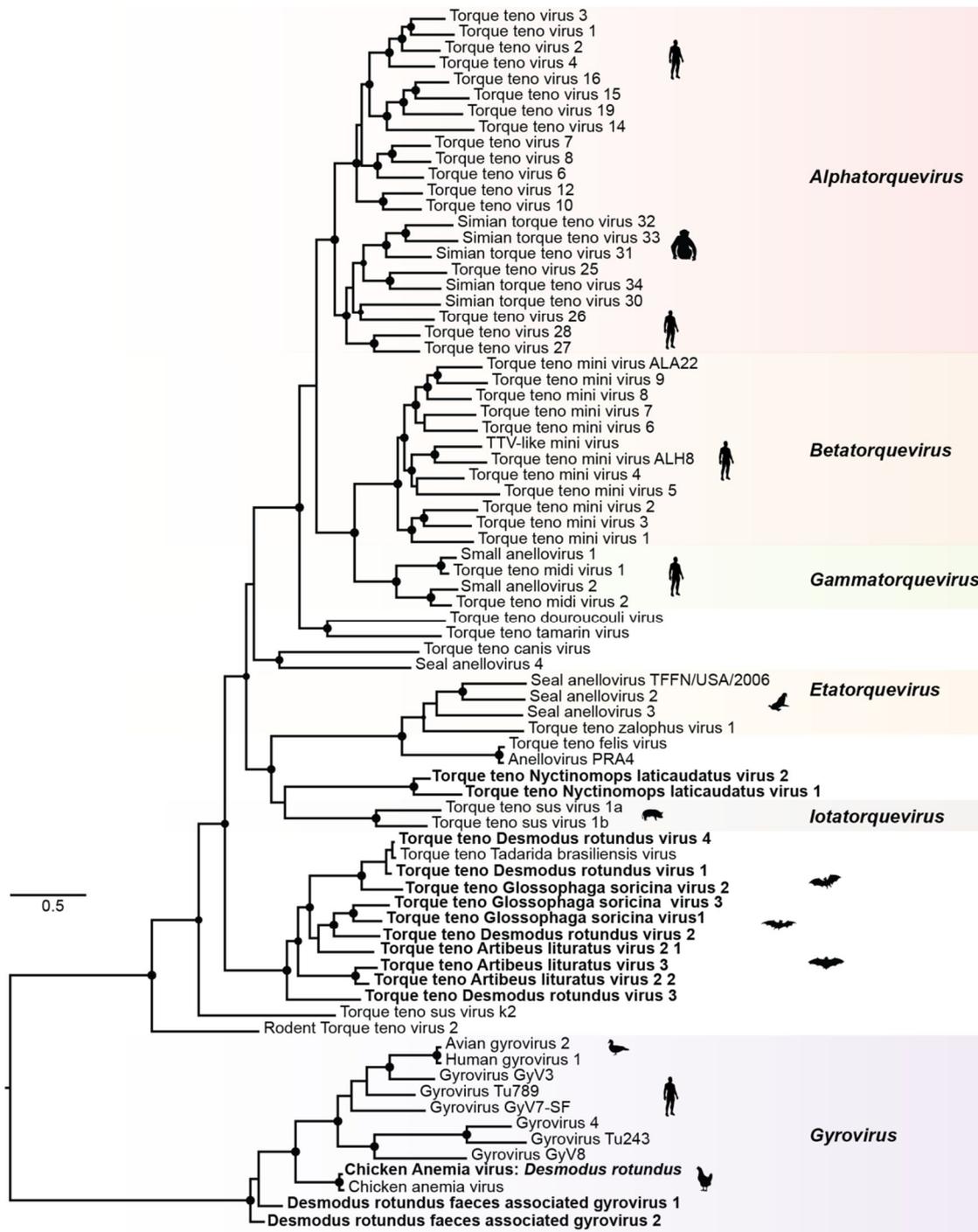
Analisando do ponto de vista da diversidade de grupos de vírus descritos nas quatro espécies, observa-se que *N. laticaudatus* apresentou a maior diversidade, *G. soricina* e *A. lituratus* apresentaram a mesma diversidade e *D. rotundus* a menor diversidade (Figura 7).

Morcegos da espécie *Nyctinomops laticaudatus* apresentaram o maior número de vírus, tendo sido identificados 28 novas espécies de vírus: (i) 15 vírus ssDNA, sendo oito pertencentes ao gênero *Gemycircularvirus*, (ii) dois Torque Teno vírus – TTV (*Anelloviridae*) (Figura 4), (iii) três *Circovirus* (*Circoviridae*) (Figura 5), (iv) quatro *Cyclovirus* (*Circoviridae*) (Figura 5), (v) dois vírus não classificados pertencentes à família *Circoviridae* (Figura 5), (vi) um *Polyomavirus* (*Polyomaviridae*) (Figura 6), (vii) um *Bidensovirus* (*Bidnaviridae*). Alguns destes vírus, como os dois representantes da família *Anelloviridae*, provavelmente pertencem a novos gêneros dentro da família (Figura 4), visto que se agrupam em clados únicos e distantes dos vírus de gêneros já reconhecidos. A maioria dos representantes da família *Circoviridae* estão agrupados próximos a insetos ou outros artrópodes presentes no ambiente, com exceção do gênero *Circovirus* (Figura 5). O novo *polyomavirus* (*Polyomaviridae*) agrupou-se com outros vírus de morcegos dos gêneros *Tadarida*, *Molossus*, *Otomops* e *Chaeriphon*, todos *Molossidae*.

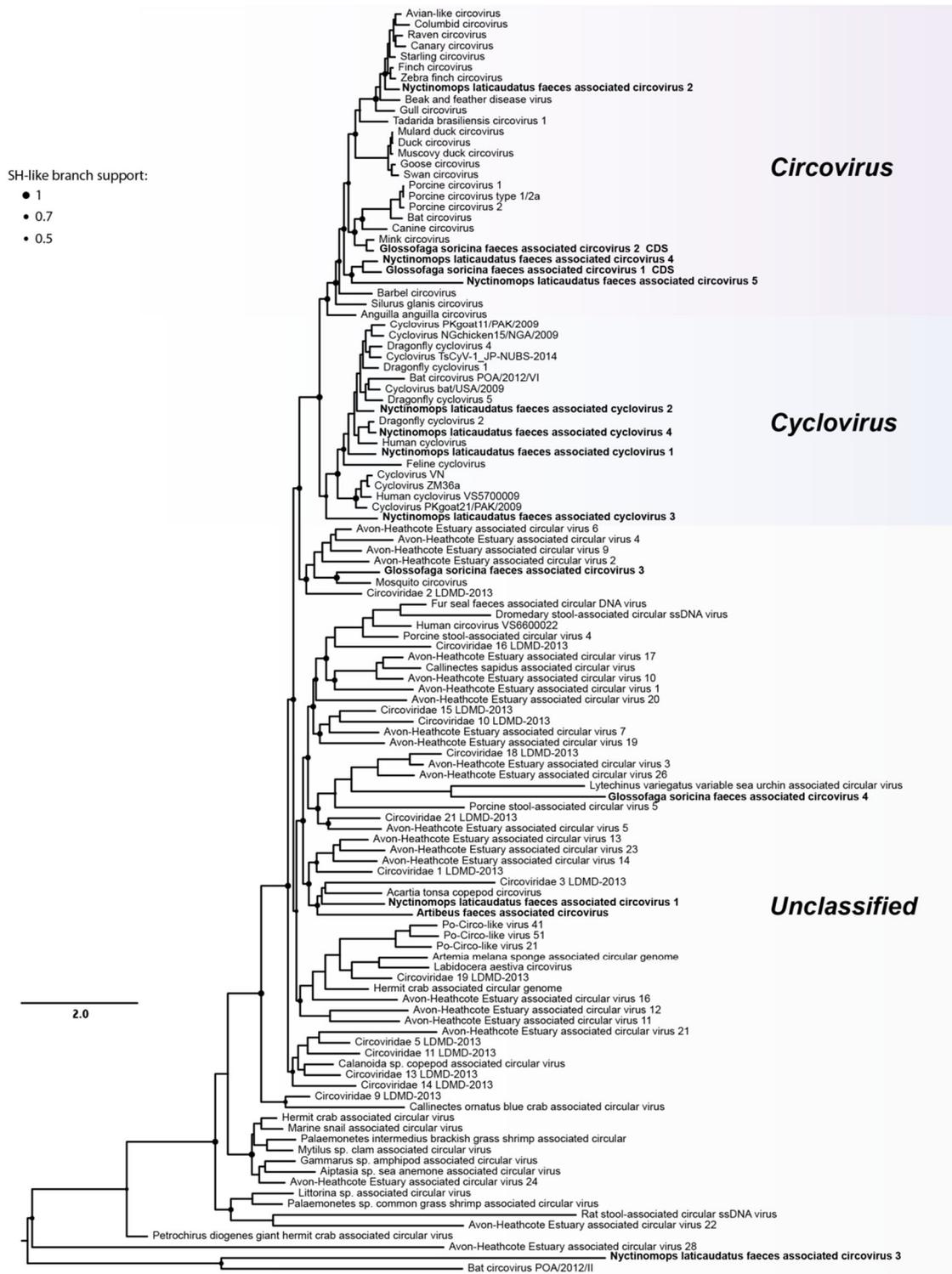
A segunda espécie a apresentar o maior número de vírus foi a *Glossophaga soricina*, tendo sido identificados 12 genomas virais completos: (i) quatro novos vírus ssDNA não classificados, (ii) três novos Torque Teno vírus – TTV (*Anelloviridae*) (Figura 4), (iii) 2 novos *Circovirus* (*Circoviridae*) (Figura 5) e (iv) 2 vírus não classificados pertencentes à família *Circoviridae* (Figura 5), (v) um novo *Polyomavirus* (*Polyomaviridae*) (Figura 6). Os três Torque Teno (*Anelloviridae*) presentes no intestino de *Glossophaga* agrupam-se com vírus de outras espécies de morcegos (Figura 4). Três dos vírus pertencentes à família *Circoviridae* estão agrupados com vírus, ainda não classificados, de mamíferos (Figura 5). O novo *Polyomavirus* (*Polyomaviridae*) agrupou-se com vírus descritos em *Carollia perspicillata*, outro morcego frugívoro, da família *Phyllostomidae* (Figura 6).

Foram identificados oito genomas virais completos em morcegos da espécie *Desmodus rotundus*, sendo a terceira com maior número de vírus: (i) um novo Gemycircularvirus (vírus ssDNA não classificado), (ii) quatro novos Torque Teno vírus - TTV (*Anelloviridae*) (Figura 4), (iii) dois novos Gyrovirus (*Anelloviridae*) (Figura 4) e (iv) vírus da Anemia Infecciosa das Galinhas - CAV (*Anelloviridae*) (Figura 4). Observa-se na Figura 4 que todos os Torque Teno vírus encontrados em *Desmodus* se encontram no mesmo grupo de outras espécies de morcegos, porém, os três Gyrovirus (dois novos e o Chicken Anemia vírus), provavelmente são vírus que infectam exclusivamente aves, sugerindo que estes morcegos estejam se alimentando de aves domésticas.

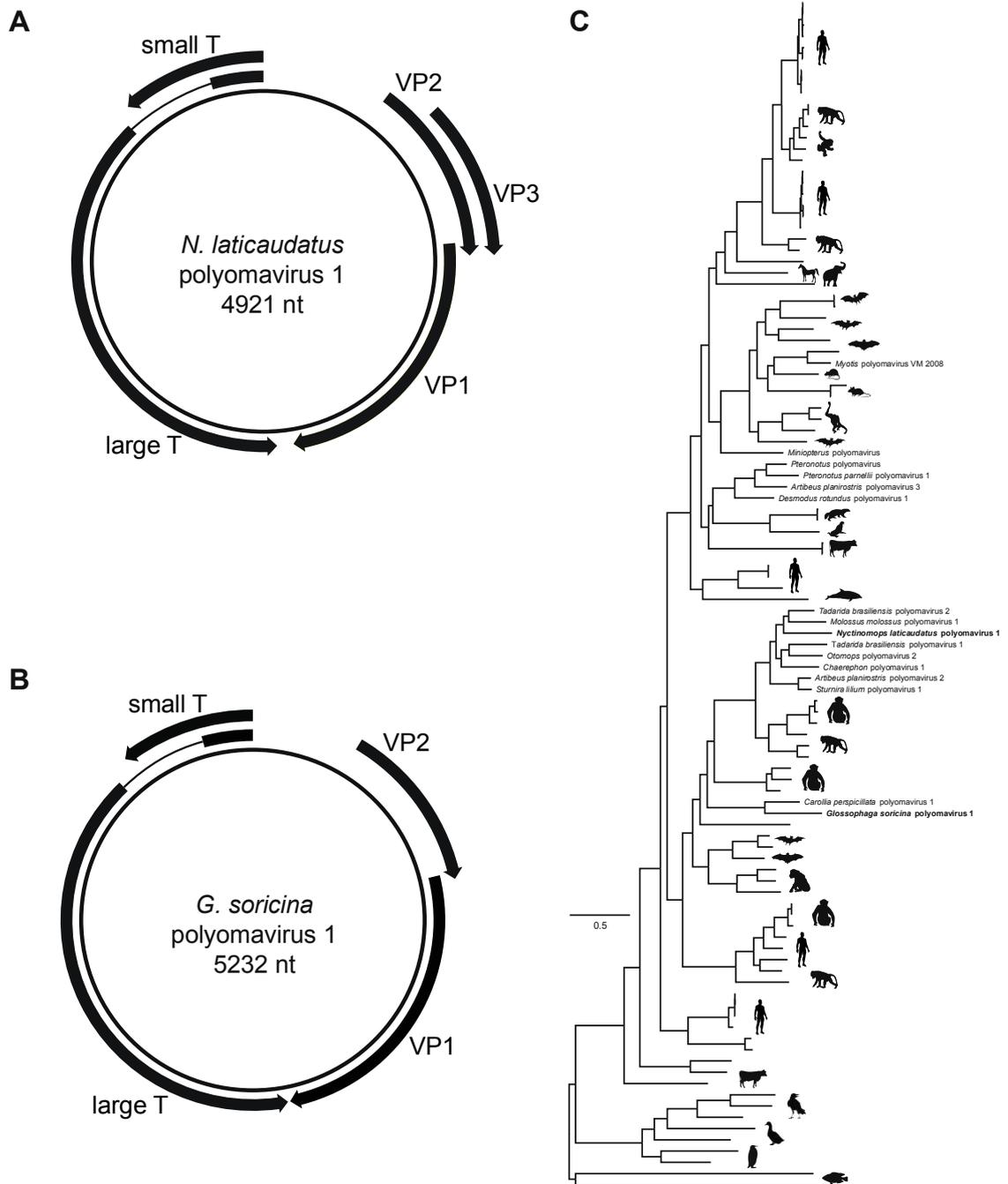
Morcegos da espécie *Artibeus lituratus* apresentaram o menor número de contigs relacionados a vírus, com a identificação de apenas seis novos genomas virais: (i) um novo vírus ssDNA não classificado, (ii) três novos Torque Teno vírus – TTV (*Anelloviridae*) (Figura 4), (iii) um novo (*Circoviridae*) (Figura 5) e (iv) um novo Tetraparvovírus (*Parvoviridae*). Os Torque Teno vírus (*Anelloviridae*), semelhantemente ao das demais encontrados neste trabalho, se encontram no clado compartilhado com outros vírus de morcegos (Figura 4). Já o circovírus (*Circoviridae*), agrupou-se com vírus descritos em *N. laticaudatus* e insetos (Figura 5).



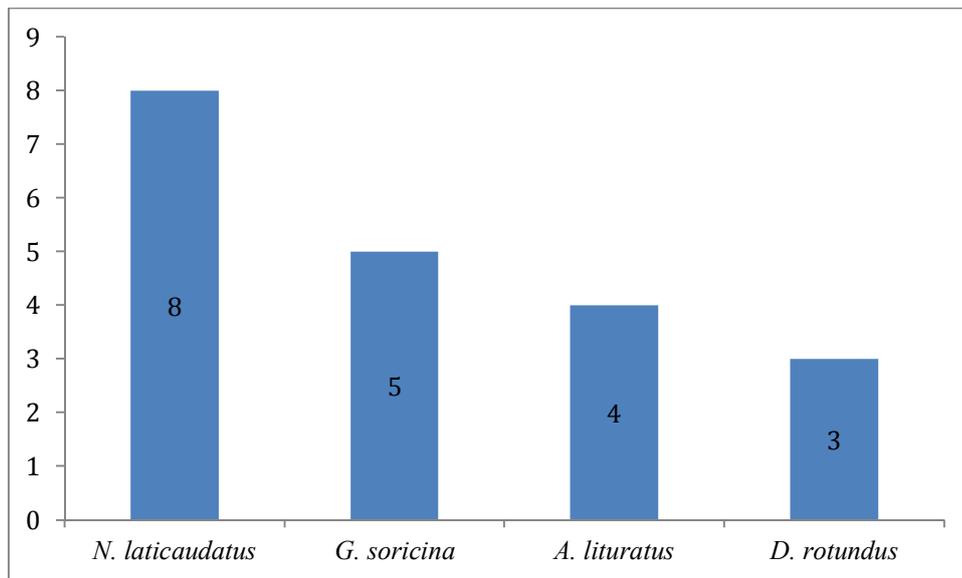
**Figura 4.** Árvore filogenética baseada em 76 sequências de aminoácidos da proteína VP1 de *Anelloviridae*. Hospedeiros representativos de cada um dos grupos são mostrados ao lado dos ramos. Os círculos nos nós são proporcionais ao suporte dado pelo teste SH-like. A Arvore foi enraizada por *midpoint* para facilitar a visualização.



**Figura 5.** Árvore filogenética baseada em 118 sequências de aminoácidos da proteína **REP** de *Circoviridae*. Os círculos nos nós são proporcionais ao suporte dado pelo teste *SH-like*. A Arvore foi enraizada por *midpoint* para facilitar a visualização.

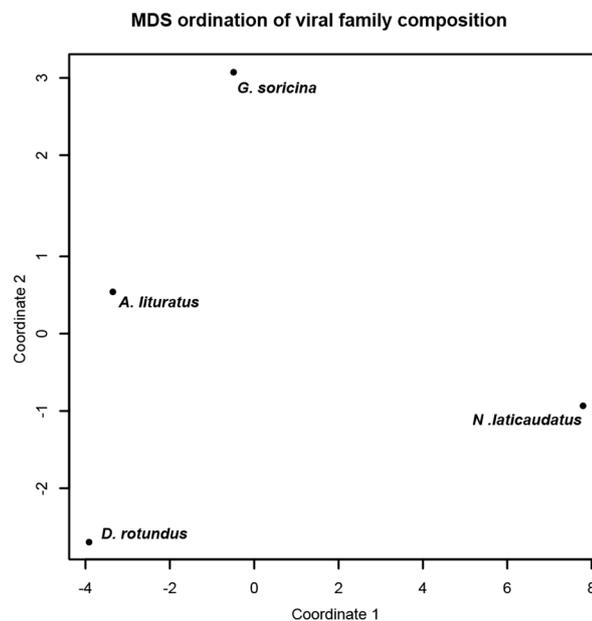


**Figura 6.** Árvore filogenética baseada em 107 sequências de aminoácidos da proteína *large T antigen* da família *Polyomaviridae*. Hospedeiros representativos de cada um dos grupos são mostrados ao lado dos ramos. Os círculos nos nós são proporcionais ao suporte dado pelo teste SH-like. A Árvore foi enraizada por *midpoint* para facilitar a visualização.



**Figura 7.** Diversidade de vírus encontrados no intestino de *Nyctinomops laticaudatus*, *Glossophaga soricina*, *Desmodus rotundus* e *Artibeus lituratus*.

A Figura 8 apresenta o resultado da análise multidimensional (MDS) do viroma encontrado no intestino das quatro espécies de morcego estudadas. Observa-se que, apesar de possuir alguns vírus em comum (Tabela 2), as quatro espécies não possuem um perfil similar, sugerindo, portanto que a dieta é um fator importante na definição.



**Figura 8.** Análise multidimensional (MDS) do viroma intestinal das quatro espécies de morcegos: *Nyctinomops laticaudatus*, *Glossophaga soricina*, *Desmodus rotundus* e *Artibeus lituratus*.

## 2.4 DISCUSSÃO

As quatro espécies de morcegos, *Artibeus lituratus* (frugívoro), *Desmodus rotundus* (hematófago), *Glossophaga soricina* (nectarívoro) e *Nyctinomops laticaudatus* (insetívoro), apresentaram variação quanto aos grupos de vírus encontrados em seus intestinos, confirmando a hipótese de que o hábito alimentar exerce influência sobre a diversidade viral. No entanto, a hipótese de que quanto mais especializada a dieta dos morcegos, menor a diversidade de vírus encontrada no intestino, foi refutada, uma vez que *D. rotundus*, especialista em se alimentar de sangue, apresentou a menor diversidade viral, enquanto *N. laticaudatus*, especialista em insetos, apresentou a maior diversidade viral. Tal fato ocorreu justamente pelo fato da dieta influenciar na diversidade de vírus presente no intestino dos morcegos, pois o viroma intestinal de *N. laticaudatus* foi fortemente influenciado pelos vírus presentes em sua dieta.

Apesar de se alimentarem apenas de insetos, a riqueza e a diversidade de vírus encontrada no intestino dos indivíduos desta espécie, se devem à vasta dieta dos insetos predados. Das 28 diferentes prováveis novas espécies de vírus encontradas, 15 ainda não estão indexadas em famílias, sendo que destas oito pertencem ao gênero *Gemycirculavirus*. Esses últimos vírus possuem genoma de DNA fita simples (ssDNA) circular e podem causar diarreia e encefalite (Phan et al. 2015). Já foram descritos em diversos mamíferos, fungos, insetos, plantas e em seres humanos (Dayaram et al. 2015; Li et al. 2015; Phan et al. 2015; van den Brand et al. 2012; Yu et al. 2010). Apenas recentemente foi isolado em fezes de morcegos, nas espécies *Pteropus tonganus* (frugívoro) e *Rhinolophus ferrumequinum* (insetívoro) (Male et al. 2016; Wu et al. 2016), duas espécies que não ocorrem no Brasil. Como o *Gemycirculavirus* já foi descrito não apenas em mamíferos, mas também em insetos, fungos e plantas, o achado no intestino de *N. laticaudatus* não permite pressupor se os mesmos estariam apenas de passagem pelo intestino dos morcegos devido ao seu hábito alimentar, ou se *N. laticaudatus* estariam atuando como hospedeiros deste grupo de vírus. O fato de já ter sido encontrado em morcegos frugívoros e insetívoros, também não permite concluir

se estariam ou não apenas de passagem pelo intestino, uma vez que morcegos frugívoros podem se alimentar eventualmente de insetos.

Outro vírus identificado no intestino de *N. laticaudatus* foi o Torque Teno vírus, da família *Anelloviridae*. Esses vírus possuem genoma de DNA fita simples (ssDNA) circular e são conhecidos por causar doenças gastrointestinais (Fatholahi and Bouzari 2015; Hino and Miyata 2007; Tang et al. 2014). Já foram isolados no intestino e fezes de seres humanos, primatas não humanos, animais de criação como, galinhas, suínos, bovinos, ovinos, e em animais domésticos como, gatos e cachorros, além de tupaia e leões marinhos (Cibulski et al. 2014; Hino and Miyata 2007). Em morcegos esse vírus somente recentemente foi descrito em *Tadarida brasiliensis* (Cibulski et al. 2014), outro Molossidae comum na região Neotropical e que pode viver e compartilhar recursos com morcegos do gênero *Nyctinomops* (Matthews et al. 2010).

Ainda no intestino de *N. laticaudatus* foram encontrados três novos *Circovirus*, quatro novos *Cyclovirus*, e dois vírus não classificados, todos pertencentes à família *Circoviridae* (Ge et al. 2011; Lima et al. 2015). Os vírus desta família são circulares e possuem genoma de DNA fita simples (ssDNA), infectando diversos vertebrados e insetos (Ge et al. 2011; Lima et al. 2015). Representantes do gênero *Circovirus* são responsáveis por causar doenças em suínos e em diversas espécies de aves, como canários, gansos, papagaios e pinguins, gerando prejuízos econômicos ao redor do mundo (Allan and Ellis 2000; Bassami et al. 1998; Todd et al. 2001; Xie et al. 2012). Esses vírus foram também detectados em chimpanzés, e em animais de produção, como suínos, além de já descritos em insetos e em seres humanos (Blinkova et al. 2010; Garigliany et al. 2015; Ge et al. 2011; Li et al. 2010a). Há relatos de *Circovirus* em fezes de morcegos frugívoros e insetívoros, na Ásia e na América, sendo um deles no Brasil em *Molossus molossus*, também da família Molossidae (Ge et al. 2011; Lima et al. 2015). Vírus pertencentes ao gênero *Cyclovirus* já foram identificados em baratas, libélulas, seres humanos, aves domésticas, suínos e outros animais de produção, além de morcegos da espécie *Tadarida brasiliensis*, outro Molossidae, nos Estados Unidos e no Brasil (Dayaram et al. 2013; Li et al. 2011; Lima et al. 2015; Padilla-Rodriguez et al.

2013; Phan et al. 2015; Rosario et al. 2011). Analisando a árvore filogenética da família *Circoviridae* (Figura 5), é possível observar que o gênero *Cyclovirus* está comumente presente em insetos.

Outro vírus encontrado foi o Bidsosavirus, família *Bidnaviridae*. Esses vírus possuem genoma de DNA fita simples (ssDNA) e são comumente encontrados em invertebrados, como mosquitos e bicho da seda, levando a conclusão de que a presença destes no intestino de *N. laticaudatus* é fruto do hábito alimentar desses morcegos, que tem inclusive preferência alimentar por Lepidopteros (Boonnak et al. 2015; Cotmore et al. 2014; Hu et al. 2016; Ito et al. 2016).

Por último, foi descoberto um novo Polyomavirus em *N. laticaudatus*. Apesar de uma proposta de dividir a família em três gêneros (Johne et al. 2011), atualmente ela é composta apenas pelo gênero *Polyomavirus*, com vírus de genoma DNA fita dupla (dsDNA), com potencial para causar infecções e tumores em hospedeiros imunossuprimidos (Krumbholz et al. 2009). Polyomavirus são geralmente conhecidos por infectar mamíferos e aves, já tendo sido descritos em humanos, macacos, roedores e aves (Cole 1996.; Delos et al. 1993; Imperiale 2001.; Montross et al. 1991; White and Khalili 2004). No entanto, estudos recentes sobre a filogenia da família *Polyomaviridae* apontam que os vírus desta família eram originalmente encontrados em peixes e artrópodes, passando por um longo período de coevolução com os seus atuais hospedeiros, ao longo de bilhões de anos (Buck et al. 2016; Peretti et al. 2015). Em morcegos, já foram descritos em espécies frugívoras e insetívoras na África, América e Ásia, das subordens Yinochiroptera e Yangochiroptera (Anthony et al. 2013; Fagrouch et al. 2012; Kobayashi et al. 2015; Misra et al. 2009; Tao et al. 2013; Yuan et al. 2014). Um trabalho apontou que o polyomavirus aparenta não causar doenças nos morcegos que os hospedam (Misra et al. 2009). Sabe-se que moscas ectoparasitas de algumas aves são as responsáveis pela transmissão vertical de *Polyomavirus* (Potti et al. 2007); com base nisso é especulado se a transmissão do vírus entre os morcegos também ocorreria via ectoparasitas (Misra et al. 2009).

A espécie de morcego *Glossophaga soricina*, que utiliza o pólen e o néctar como principais alimentos, apresentou a segunda maior diversidade viral, atendendo ao esperado, pois essa espécie, também utiliza, mesmo que esporadicamente, insetos como alimento, levando à pressuposição de que a diversidade viral hospedada nestes morcegos seja menor que a de *N. laticaudatus* e maior que de *D. rotundus*. Doze genomas virais, pertencentes a três diferentes famílias, foram identificados em *G. soricina*, sendo que quatro dos vírus encontrados nessa espécie não estão indexados em nenhuma família ou gênero, e apresentam similaridade com vírus descritos associados a plantas, provavelmente oriundos da alimentação dessa espécie.

Semelhantemente à espécie *G. soricina*, *Artibeus lituratus* pode eventualmente se alimentar de insetos, que se encontram nos frutos (Gardner 1977). De hábito predominantemente frugívoro, esta espécie de Phyllostomidae foi a terceira a apresentar a maior diversidade viral. Seis novos vírus, pertencentes a três famílias, foram identificados em *A. lituratus*: três novos Torque Teno vírus (*Anelloviridae*), um novo vírus circovirus (*Circoviridae*), ainda sem gênero, um parvovirus (*Parvoviridae*) e um vírus ssDNA não classificado.

A espécie *A. lituratus* foi a única a apresentar vírus da família *Parvoviridae*. Parvovírus possuem genoma de DNA fita simples (ssDNA) e são divididos em duas subfamílias: *Parvovirinae*, cujos vírus possuem hospedeiros vertebrados, como mamíferos e aves, e *Densovirinae*, cujos vírus se hospedam em artrópodes (Cotmore et al. 2014; Han et al. 2007; Schirtzinger et al. 2015). Essa família de vírus já foi descrita em morcegos frugívoros e insetívoros, nas Américas, Ásia e África. O vírus encontrado neste trabalho pertence ao gênero *Tetraparvovirus*, da subfamília *Parvovirinae* (Cotmore et al. 2014), permitindo inferir que *A. lituratus* está servindo de reservatório a estes vírus.

A espécie *Desmodus rotundus* apresentou a menor diversidade de vírus, com oito novos vírus identificados, sendo sete pertencentes à família *Anelloviridae* e um sem classificação familiar. Existem apenas três espécies de morcegos de hábito exclusivamente hematófagos, todos pertencentes à subfamília Desmodontidae: *Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* e *Diaemus*

*youngi* (Aguiar 2007). A literatura relata que *Diphylla ecaudata* e *Diaemus youngi* têm preferência pelo sangue de aves, embora o último também se alimente de mamíferos (Aguiar 2007; Castilho et al. 2010). Como anteriormente citado, *Desmodus rotundus* têm preferência pelo sangue de mamíferos, especialmente de animais de produção, pelo fácil acesso a estes animais (Aguiar 2007; Gardner 1977). No entanto, um estudo recentemente conduzido em áreas rurais da Amazônia brasileira, verificou que entre as cinco presas comumente utilizadas por *D. rotundus* (gado, porcos, cachorros, humanos e galinhas), porcos são os preferidos e galinhas são utilizadas como recurso secundário (Bobrowiec et al. 2015).

Foi encontrado um *Gemycirculavirus* no intestino de *D. rotundus*. Apesar de já ter sido descrito em mamíferos, plantas, fungos e insetos (Male et al. 2016; Wu et al. 2016), infere-se que *D. rotundus* esteja atuando como reservatório natural desse vírus, uma vez que sua dieta é restrita à sangue, não havendo explicação para o achado de vírus de plantas, fungos ou insetos em seu intestino.

Dos sete vírus encontrados, pertencentes à família *Anelloviridae*, quatro são novos Torque Teno e os outros três pertencem ao gênero *Gyrovirus*, sendo dois ainda não reconhecidos pelo International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV. O ICTV reconhece apenas uma única espécie de *Gyrovirus*, o vírus da Anemia Infecciosa das galinhas – CAV (Ge et al. 2011). O CAV pode ser encontrado em todo o mundo e causar depleção linfóide, imunossupressão e anormalidades em galinhas, gerando prejuízos econômicos (Ge et al. 2011; Lima et al. 2015; Schat 2009; Smyth et al. 2006). Vírus semelhantes ao CAV já foram descritos em codornas (Farkas et al. 1998). Outros *Gyrovirus*, embora ainda não oficialmente reconhecidos, já foram descritos em diferentes espécies como ferrets, gatos e humanos, mas nunca em morcegos (Fehér et al. 2015; He et al. 2013; Ye et al. 2015; Zhang et al. 2012; Zhang et al. 2014). Esse é o primeiro registro desse vírus em morcegos (Figura 4) e, especialmente, em um morcego hematófago.

O fato de um vírus de ave ser encontrado no intestino de *D. rotundus*, cujo hábito alimentar preferencial é o sangue de mamíferos, corrobora o encontrado por (Bobrowiec et al. 2015), que apontaram as galinhas como recurso alimentar secundário na região da Amazônia. Assim, *D. rotundus* pode preda aves em uma região de Cerrado, no Planalto Central. Deve-se enfatizar que a detecção de DNA viral do vírus da Anemia Infecciosa das galinhas - CAV no intestino destes morcegos, não garante que esteja ocorrendo replicação viral, podendo ser uma mera passagem do sangue digerido pelo trato digestivo dos morcegos. Mais estudos são necessários para afirmar se *D. rotundus* estaria atuando como um simples reservatório de vírus ou se teria algum papel na transmissão de CAV.

As quatro espécies de morcegos estudadas neste trabalho, tiveram o Torque Teno vírus (*Anelloviridae*) presente em seus intestinos. O Torque Teno, é, não apenas, um vírus normalmente encontrado em mamíferos, como também apresenta evidências de coevolução com diversos mamíferos ao redor do mundo (Manzin et al. 2015; Okamoto 2009), levando à conclusão que as quatro espécies de morcegos servem de reservatório natural para este vírus. Essa informação reforça a comprovação da hipótese de que o hábito alimentar influencia na diversidade viral dos morcegos, pois os demais vírus encontrados, responsáveis pelas variações nas diversidades virais entre as quatro espécies, parecem ser fruto dos diferentes hábitos alimentares dos morcegos. Cabe ressaltar, que assim como no trabalho de Cibulski et al. (2014), que identificaram o Torque Teno pela primeira em morcegos (*Tadarida brasiliensis*), as sequencias de genomas identificadas nos morcegos do presente trabalho, apresentam pouca identidade com os genomas já existentes na família *Anelloviridae*, sugerindo que os Torque Teno vírus de morcegos formariam um novo gênero (Figura 4).

Os polyomavirus (*Polyomaviridae*) encontrados no intestino de *N. laticaudatus* e *G. soricina* parecem não derivar da dieta destes morcegos, pois são vírus que normalmente utilizam as aves e os mamíferos como hospedeiros naturais, tendo coevoluido com os mesmos. A análise filogenética da família *Polyomaviridae*, reforça esta informação, uma vez que tanto o polyomavirus de

*Nyctinomops* como o de *Glossophaga*, foram agrupados em clados com outras espécies de morcegos, sendo o vírus de *N. laticaudatus* agrupado com os de outras espécies de Molossidae e o polyomavirus de *G. soricina*, agrupado com vírus de outro morcego frugívoro da família Phyllostomidae, sugerindo coevolução entre polyomavirus e morcegos (Figura 5).

Apesar da diversidade viral encontrada em *N. laticaudatus*, *G. soricina* e *A. lituratus* ser diferente é interessante comparar os vírus encontrados nessas três espécies, uma vez que elas têm em comum o hábito de predação de insetos, mesmo que eventualmente. As três espécies apresentaram em comum, três grupos de vírus, a saber: Torque Teno vírus, vírus ssDNA não classificados e vírus pertencentes à família *Circovirus*. Como já discutido, a presença do Torque Teno vírus nestas espécies é explicado por este vírus utilizar mamíferos como hospedeiro natural.

Os vírus ssDNA não classificados encontrados nas três espécies de morcego supracitadas, provavelmente são vírus de insetos e plantas. Um trabalho realizado em 2010 na Califórnia e no Texas encontrou diversos vírus de insetos e plantas no guano de morcegos insetívoros (Li et al. 2010b). A presença de tais vírus no intestino das espécies confirma que o hábito alimentar influencia na diversidade viral e que morcegos nectarívoros e frugívoros podem sim utilizar como alimento, além de plantas, os insetos. Os resultados comparados da diversidade viral e do número de espécies de vírus encontrados nas espécies insetívora e frugívora corroboram com o que foi observado em um trabalho realizado em províncias chinesas entre os anos de 2010 e 2013, sendo o viroma encontrado nos morcegos insetívoros mais abundante do que o encontrado nos frugívoros (Wu et al. 2016).

Analisando os vírus da família *Circoviridae*, presentes nas três espécies de morcegos, *N. laticaudatus*, *G. soricina* e *A. lituratus*, é possível observar que vírus do gênero *Circovirus* estão presentes em *N. laticaudatus* e *G. soricina*, ao passo que vírus pertencentes ao gênero *Cyclovirus* foram encontrados apenas em morcegos da espécie *N. laticaudatus*. As três espécies apresentaram vírus ainda não classificados na família *Circoviridae*. Os vírus do gênero *Circovirus* encontrados

neste trabalho, se agruparam com vírus de aves e outros mamíferos (Figura 5), não permitindo inferir se estariam presentes em *N. laticaudatus* e *G. soricina* oriundos do hábito alimentar destes morcegos ou se estariam naturalmente hospedados nestas espécies. Já os quatro *Cyclovirus* encontrados em *N. laticaudatus*, se agrupam em clados com outros vírus de insetos. Este dado, associado ao fato de *Cyclovirus* serem comumente descritos em insetos e já terem sido encontrados em outra espécie de morcego Molossidae, faz pressupor que o achado de tais vírus no intestino de *N. laticaudatus*, se deva ao hábito alimentar insetívoro da espécie. Vírus ainda não classificados da família *Circoviridae* foram identificados nas três espécies de morcegos, sendo que tais vírus se agruparam com vírus de artrópodes aquáticos (*Acartia tonsa*), de equinodermos marinhos (*Lytechinus variegatus*), ou vírus encontrados em estuários (Figura 5), permitindo inferir que tais vírus estariam presentes no intestino destas espécies, devido ao hábito alimentar, tendo sido, provavelmente ingeridos com a água.

O fato de *D. rotundus* ter apresentado a menor diversidade viral já era esperado, uma vez que seu hábito alimentar é muito restrito. Porém não era esperado encontrar o vírus da anemia infecciosa das galinhas – CAV, vírus de importância econômica e típico de aves. Mais estudos são necessários para confirmar se *D. rotundus* atua como hospedeiro do CAV ou se o vírus está apenas de passagem pelo intestino.

O resultado da análise multidimensional (MDS) reforçou a comprovação tanto da hipótese de que o hábito alimentar dos morcegos exerce influência sobre a sua diversidade viral, uma vez que as quatro espécies não apresentaram um perfil similar; como a negação da hipótese de que quanto maior a especialização da dieta dos morcegos, menor a diversidade viral encontrada, uma vez que houve considerável distância de similaridades dos perfis das duas únicas espécies com dieta especializada neste estudo, *D. rotundus* e *N. laticaudatus*. Pode-se afirmar, com base na análise da Figura 8 que a dieta é um fator importante na definição de similaridade entre os viromas presentes no intestino das quatro espécies.

Por fim, cabe ressaltar que o estudo de vírus em hospedeiros pode servir de ferramenta de amostragem para futuros estudos sobre a ecologia dos morcegos. Sabe-se que os vírus evoluem mais rápido que os seus hospedeiros, podendo funcionar como potenciais marcadores genéticos de populações, embora esse potencial venha sendo pouco explorado no estudo de populações de animais selvagens (Biek et al. 2006). Um trabalho conduzido com Pumas (*Puma concolor*) infectados por um tipo específico de vírus da imunodeficiência felina – FIV mostrou que através de análises genéticas do vírus da FIV foi possível obter informações sobre a história recente dos felinos, informações que não seriam obtidas através da análise genética do próprio hospedeiro (Biek et al. 2006). Conhecer melhor a relação entre vírus e morcegos pode abrir precedentes para futuros trabalhos sobre a ecologia de populações dos indivíduos.

Membros do Segundo Encontro Internacional de Morcegos em Berlim, “Biologia dos Morcegos e Doenças Infeciosas”, realizado em fevereiro de 2010, ressaltaram que a percepção das pessoas sobre os morcegos é alimentada pelo medo de contrair uma doença como o Ebola, febre hemorrágica ou a raiva e é de responsabilidade da academia científica promover uma melhor compreensão dos riscos reais, bem como ressaltar que é possível a coexistência pacífica entre humanos e morcegos, e que esses exercem importância global para o ecossistema, mesmo carregando potenciais patógenos (Wibbelt et al. 2010).

Dessa forma, além de aumentar o conhecimento sobre a diversidade de vírus em mamíferos, estudar a relação entre vírus e morcegos pode contribuir para a preservação dos morcegos, uma vez que, sabendo quais vírus se hospedam nos indivíduos, é possível conhecer o que esses indivíduos estão utilizando como alimento, ressaltando desta forma os efeitos benéficos dos morcegos ao meio ambiente, como o controle de insetos e seu papel como polinizadores (Li et al. 2010b).

## 2.5 REFERÊNCIAS

- Aguiar LMS (2007) Subfamília Desmodontinae. In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, de Lima IP (eds) Morcegos do Brasil. Technical Books, Londrina, Paraná, pp 39-43.
- Aguiar LMS, Marinho-Filho JS (2007) Bat Frugivory in a Remnant of Southeastern Brazilian Atlantic Forest. *Acta Chiropterologica* 9:251-260.
- Allan GM, Ellis JA (2000) Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 12:3-14.
- Altringham JD, Fenton MB (2003) Sensory ecology and communication in the Chiroptera. In: Kunz TH, Fenton MB (eds) *Bat ecology*. The University of Chicago press., Chicago and London., pp 90-127.
- Anthony SJ, Epstein JH, Murray KA, Navarrete-Macias I, Zambrana-Torrel CM, Solowayov A, et al. (2013) A strategy to estimate unknown viral diversity in mammals. *MBio* 4:e00598-00513.
- Avila-Flores R, Flores-Martínez JJ, Ortega J (2002) *Nyctinomops laticaudatus*. *Mammalian Species*. 697.
- Bassami MR, Berryman D, Wilcox GE, Raidal SR (1998) Psittacine beak and feather disease virus nucleotide sequence analysis and its relationship to porcine circovirus, plant circoviruses, and chicken anaemia virus. *Virology* 249:453-459.
- Biek R, Drummond AJ, Poss M (2006) A virus reveals population structure and recent demographic history of its carnivore host. *Science* 311:538-541.
- Blinkova O, Victoria J, Li Y, Keele BF, Sanz C, Ndjango JB, Peeters M, Travis D, Lonsdorf EV et al. (2010) Novel circular DNA viruses in stool samples of wild-living chimpanzees. *J Gen Virol* 91:74-86.
- Bobrowiec PED, Lemes MR, Gribel R (2015) Prey preference of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*, Chiroptera) using molecular analysis. *Journal of Mammalogy* 96:54-63. doi: 10.1093/jmammal/gyu002.

- Boonnak K, Suttitheptumrong A, Jotekratok U, Pattanakitsakul SN (2015) Phylogenetic analysis reveals genetic variations of Dengue virus isolated from field mosquitoes in Bangkok and surrounding regions. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 46:207-214.
- Boyles JG, Cryan PM, McCracken GF, Kunz TH (2011) Economic importance of bats in agriculture. *Science* 332:41-42.
- Buck CB, Van Doorslaer K, Peretti A, Geoghegan EM, Tisza MJ, An P, Katz JP et al. (2016) The Ancient Evolutionary History of Polyomaviruses. *PLoS Pathog* 12:e1005574.
- Bredt A, Uieda W, Magalhães E D (1999). Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(3): 731-770.
- Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T (2006) Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 19:531-545.
- Castilho JG, Carnieli P, Oliveira RN, Fahl WO, Cavalcante R, Santana AA, Rosa WL, Carrieri ML, Kotait I, (2010) A comparative study of rabies virus isolates from hematophagous bats in Brazil. *J Wildl Dis* 46:1335-1339.
- Chua KB, Belini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, Ksiazek TH et al. (2000) Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science* 288:1432-1435.
- Cibulski SP, Teixeira TF, de Sales Lima FE, do Santos HF, Franco AC, Roehe PM (2014) A Novel Anelloviridae Species Detected in *Tadarida brasiliensis* Bats: First Sequence of a Chiropteran Anellovirus. *Genome Announc* 2.
- Cleveland CJ, Betke M, Federico P, Frank JD, Hallam TG, Horn J, López Jr JD, McCracken GF, Medellín RA, Moreno-Valdez A, Sansone CG, Westbrook JK, Kunz TH (2006) Economic value of the pest control service provided by Brazilian free-tailed bats in south-central Texas. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4:238-243.

- Cole CN (1996.) Polyomavirinae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DN, Howley PM (eds) *Fundamental Virology.*, 3rd. edn. Lippincott, Williams & Wilkins., Philadelphia., pp 917-946.
- Cotmore SF, Agbandje-Mckenna M, Chiorini JA, Mukha DV, Pintel DJ, Qiu J, Soderlund-Venermo M, Tattersall P, Tijssen P, Gatherer D, Davison AJ (2014) The family Parvoviridae. *Arch Virol* 159:1239-1247.
- Dayaram A, Potter KA, Pailes R, Marinov M, Rosenstein DD, Varsani A (2015) Identification of diverse circular single-stranded DNA viruses in adult dragonflies and damselflies (Insecta: Odonata) of Arizona and Oklahoma, USA. *Infection Genetics and Evolution* 30:278-287.
- Delos SE, Montross L, Moreland RB, Garcea RL (1993) Expression of the polyomavirus VP2 and VP3 proteins in insect cells: coexpression with the major capsid protein VP1 alters VP2/VP3 subcellular localization. *Virology* 194:393-398.
- Escobar LE, Peterson AT, Favi M, Yung V, Medina-Vogel G (2015) Bat-borne rabies in Latin America. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 57:63-72..
- Fabian ME, Gregorin R (2007) Família Molossidae. In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP (eds) *Morcegos do Brasil. Divisões de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.*, Londrina, Brasil.
- Fagrouch Z, Sarwari R, Lavergne A, Delaval M, de Thoisy B, Lacoste V, Verschoor EJ (2012) Novel polyomaviruses in South American bats and their relationship to other members of the family Polyomaviridae. *J Gen Virol* 93:2652-2657.
- Farkas T, Maeda K, Sugiura H, Kai K, Hirai K, Otsuki K, Hayashi T (1998) A serological survey of chickens, Japanese quail, pigeons, ducks and crows for antibodies to chicken anaemia virus (CAV) in Japan. *Avian Pathol* 27:316-320.
- Fatholahi M, Bouzari M (2015) Torque Teno Midi Virus/Small Anellovirus in Sera of Healthy, HIV/HCV and HIV Infected Individuals in Lorestan Province, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 8.

- Fehér E, Pazár P, Lengyel G, Phan TG, Bányai K (2015) Sequence and phylogenetic analysis identifies a putative novel gyrovirus 3 genotype in ferret feces. *Virus Genes* 50:137-141.
- Fenton MB (1982.) Echolocation, Insect Hearing, and Feeding Ecology of Insectivorous Bats. In: Kunz TH (ed) *Ecology of Bats*. Plenum Press., New York and London., pp 261-285.
- Fenton MB, Simmons NB (2015) *Bats, a world of science and mystery*. The University of Chicago Press, Brooklyn, New York. pp: 333.
- Fleming TH (1982a) Foraging strategies of plant-visiting bats. In: Kunz TH (ed) *Ecology of Bats*. Plenum Press, New York, pp 287-325.
- Fleming TH (1982b) Foraging strategies of plant-visiting bats. In: Kunz TH (ed) *Ecology of bats*. Plenum Press, New York and London, pp 287-325
- Fleming TH, Heithaus ER (1981) Frugivorous bats, seed shadows and the structure of tropical forests. *Biotropica* 13:45-53.
- Gardner AL (1977) Feeding habits. In: Baker RJ, Jones JK, Carter DC (eds) *Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae, Part II*. Special Publ. The Museum Texas Tech University., Lubbock, Texas, pp 293-350.
- Garigliany MM, Börstler J, Jöst H, Badusche M, Desmecht D, Schmidt-Chanasit J, Cadar D (2015) Characterization of a novel circo-like virus in *Aedes vexans* mosquitoes from Germany: evidence for a new genus within the family *Circoviridae*. *J Gen Virol* 96:915-920.
- Ge X, Li J, Peng C, Wu L, Yang X, Wu Y, Zhang Y, Shi Z (2011) Genetic diversity of novel circular ssDNA viruses in bats in China. *J Gen Virol* 92:2646-2653.
- George DB, Webb CT, Farnsworth ML, O'Shea TJ, Bowen RA, Smith DL, Stanley TR, Ellison LE, Rupprecht CE (2011) Host and viral ecology determine bat rabies seasonality and maintenance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:10208-10213.
- Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52:696-704.

- Halpin K, Hyatt AD, Plowright RK, Epstein JH, Daszak P, Field HE, Wang L, Daniels PW, Henipavirus Ecology Group (2007) Emerging viruses: coming in on a wrinkled wing and a prayer. *Clin Infect Dis* 44:711-717.
- Han HJ, Wen HL, Zhou CM, Chen FF, Luo LM, Liu JW, Yu XL (2015) Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. *Virus Res* 205:1-6.
- Han X, Yao Q, Gao L, Wang YJ, Bao F, Chen KP (2007) [Replication of *Bombyx mori* Densonucleosis Virus (Zhenjiang isolate) in different silkworm strains]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao* 23:145-151.
- Harper CJ, Swartz SM, Brainerd EL (2013) Specialized bat tongue is a hemodynamic nectar mop. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 110, pp 8852-8857.
- He B, Li Z, Yang F, Zhenq J, Feng Y, Guo H, Li Y, Wang Y, Su N, Zhang F, Fan Q, Tu C (2013) Virome profiling of bats from Myanmar by metagenomic analysis of tissue samples reveals more novel Mammalian viruses. *PLoS One* 8:e61950.
- Helversen OV, Winter Y (2003) Glossophagine bats and their flowers: costs and benefits for plants and pollinators. In: Kunz TH, Fenton MB (eds) *Bat ecology*. The University of Chicago Press., Chicago and London., pp 346-397.
- Hino S, Miyata H (2007) Torque teno virus (TTV): current status. *Rev Med Virol* 17:45-57.
- Hu Z, Zhang X, Liu W, Zhou Q, Zhang Q, Li G, Yao Q (2016) Genome segments accumulate with different frequencies in *Bombyx mori* bidensovirus. *J Basic Microbiol.*
- Imperiale MJ (2001.) The human polyoma viruses: an overview. In: Khalili K, Stoner GL (eds) *Human Polyomaviruses: molecular and clinical perspectives*. Wiley-Liss, New York., pp 53-71.
- Inoue-Nagata AK, Albuquerque LC, Rocha WB, Nagata T (2004) A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage phi29 DNA polymerase. *J Virol Methods* 116:209-211.

- Ito K, Shimura S, Katsuma S, Tsuda Y, Kobayashi J, Tabunoki H, Yokoyama T, Shimada T, Kadono-Okuda K (2016) Gene expression and localization analysis of Bombyx mori bidensovirus and its putative receptor in B. mori midgut. *J Invertebr Pathol* 136:50-56.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30:3059-3066.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S et al. (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analyses of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647-1649.
- Kobayashi S, Sasaki M, Nakao R, Setiyono A, Handharyani E, Orba Y, Rahmadani I, Taha S, Adiani S et al. (2015) Detection of novel polyomaviruses in fruit bats in Indonesia. *Arch Virol* 160:1075-1082.
- Koopman KF (1976) Zoogeography. In: Baker RJ, Jones JK, Carter DC (eds) *Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae Part. I. Special Publ. Mus. Texas Tech University, Lubbock, Texas*, p 218.
- Krumbholz A, Bininda-Emonds OR, Wutzler P, Zell R (2009) Phylogenetics, evolution, and medical importance of polyomaviruses. *Infect Genet Evol* 9:784-799.
- Kunz TH, Torrez EB, Bauer D, Lobova T, Fleming TH (2011) Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223: 1-38.
- Li L, Kapoor A, Slikas B, Bamidele OS, Wang C, Shaikat S, Masroor MA, Wilson ML, Ndango JB, Peeters M, et al. (2010a) Multiple diverse circoviruses infect farm animals and are commonly found in human and chimpanzee feces. *J Virol* 84:1674-1682.
- Li L, Victoria JG, Wang C, Jones M, Fellers GM, Kunz TH, Delwart E (2010b) Bat guano virome: predominance of dietary viruses from insects and plants plus novel mammalian viruses. *J Virol* 84:6955-6965.
- Li W, Gu Y, Shen Q, Yang S, Wang X, Wan Y, Zhang W (2015) A novel gemycircularvirus from experimental rats. *Virus Genes* 51:302-305.

- Lima FE, Cibulski SP, Dos Santos, HF, Teixeira TF, Varela AP, Roehe PM, Delwart E, Franco AC (2015) Genomic characterization of novel circular ssDNA viruses from insectivorous bats in Southern Brazil. PLoS One 10:e0118070.
- Luis AD, Hayman DT, O'Shea TJ, Cryan PM, Gilbert AT, Polliam JR, Mills JN, Timonin ME, et al. (2013) A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? Proc Biol Sci 280:20122753. \
- Maganga GD, Bourgarel M, Vallo P, Dallo TD, Ngoagouni C, Drexler JF, Drosten C, Nakouné ER, Leroy EM, Morand S (2014) Bat distribution size or shape as determinant of viral richness in african bats. PLoS One 9:e100172.
- Male MF, Kraberger S, Stainton D, Kami V, Varsani A (2016) Cycloviruses, gemycircularviruses and other novel replication-associated protein encoding circular viruses in Pacific flying fox (*Pteropus tonganus*) faeces. Infect Genet Evol 39:279-292
- Manzin A, Mallus F, Macera L, Maggi F, Blois S (2015) Global impact of Torque teno virus infection in wild and domesticated animals. J Infect Dev Ctries 9:562-570.
- Matthews AK, Neiswenter SA, Ammerman LK (2010) Trophic ecology of the Free-tailed bats *Nyctinomopos femorosaccus* and *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) in Big Bend National Park, Texas. . The Southwestern Naturalist 55:340-346.
- Mayen F (2003) Haematophagous bats in Brazil, their role in rabies transmission, impact on public health, livestock industry and alternatives to an indiscriminate reduction of bat population. Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health 50:469-472.
- Misra V, Dumonceaux T, Dubois J, Willis C, Nadin-Davis S, Severini A, Wandeler A, Lindsay R, Artsob H (2009) Detection of polyoma and corona viruses in bats of Canada. J Gen Virol 90:2015-2022.

- Montross L, Watkins S, Moreland RB, Mamon H, Caspar DL, Garcea RL (1991) Nuclear assembly of polyomavirus capsids in insect cells expressing the major capsid protein VP1. *J Virol* 65:4991-4998.
- Murray K, Selleck P, Hooper P, Hyatt A, Gould A, Gleeson L, Westbury H, Hiley L, Selvey L, Rodwell B, et al. (1995) A morbillivirus that caused fatal disease in horses and humans. *Science* 268:94-97.
- Okamoto H (2009) TT viruses in animals. *Curr Top Microbiol Immunol* 331:35-52.
- Peretti A, FitzGerald PC, Bliskovsky V, Pastrana DV, Buck CB (2015) Genome Sequence of a Fish-Associated Polyomavirus, Black Sea Bass (*Centropristis striata*) Polyomavirus 1. *Genome Announc* 3.
- Phan TG, Mori D, Deng X, Rajindrajith S, Ravawaka U, Fan Ng TF, Bucardo-Rivera F, Orlandi P, Ahmed K, Delwart E (2015) Small circular single stranded DNA viral genomes in unexplained cases of human encephalitis, diarrhea, and in untreated sewage. *Virology* 482:98-104.
- Plowright RK, Eby P., Hudson PJ, Smith IL,, Westcott D, Bryden WL, Middleton D, Reid PA et al. (2015) Ecological dynamics of emerging bat virus spillover. *Proc Biol Sci* 282:20142124.
- Potti J, Blanco G, Lemus JA, Canal D (2007) Infectious offspring: how birds acquire and transmit an avian polyomavirus in the wild. *PLoS One* 2:e1276.
- Regier JC, Zwick A, Cummings MP, Kawahara AY, Cho S, Weller S, Roe A, Baixeras J et al. (2009) Toward reconstructing the evolution of advanced moths and butterflies (Lepidoptera: Ditrysia): an initial molecular study. *BMC Evol Biol* 9:280
- Rosario K, Capobianco H, Ng TF, Breitbart M, Polston JE (2014) RNA viral metagenome of whiteflies leads to the discovery and characterization of a whitefly-transmitted carlavirus in North America. *PLoS One* 9:e86748.
- Rupprecht CE, Hanlon CA, Hemachudha T (2002) Rabies re-examined. *Lancet Infect Dis* 2:327-343.

- Schat KA (2009) Chicken anemia virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 331:151-183.
- Schirtzinger EE, Suddith AW, Hause BM, Hesse RA (2015) First identification of porcine parvovirus 6 in North America by viral metagenomic sequencing of serum from pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virology* 12:170.
- Simmons NB (2005) Order Chiroptera. In: Wilson DER, D.M. (ed) *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Smithsonian Institution Press, Washington, pp 312-529.
- Smyth JA, Moffett DA, Connor TJ, McNulty MS (2006) Chicken anaemia virus inoculated by the oral route causes lymphocyte depletion in the thymus in 3-week-old and 6-week-old chickens. *Avian Pathol* 35:254-259.
- Tang MB, Yu CP, Chen SC, Chen CH (2014) Co-infection of Adenovirus, Norovirus and Torque Teno virus in stools of patients with acute gastroenteritis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 45:1326-1336.
- Tao Y Shi M, Conrardy C, Kuzmin IV, Recuenco S, Agwanda B, Alvarez DA, Ellison JA, Gilbert AT, Moran D, et al. (2013) Discovery of diverse polyomaviruses in bats and the evolutionary history of the Polyomaviridae. *J Gen Virol* 94:738-748.
- Todd D, Weston JH, Soike D, Smyth JA (2001) Genome sequence determinations and analyses of novel circoviruses from goose and pigeon. *Virology* 286:354-362.
- van den Brand JMA, van Leeuwen M, Schapendonk CM, Simon JH, Haagmans BL, Osterhaus AD, Smits SL (2012) Metagenomic Analysis of the Viral Flora of Pine Marten and European Badger Feces. *Journal of Virology* 86:2360-2365..
- Vizzoto LD, Taddei VA (1973) Chave para determinação dos quirópteros brasileiros. *Revista da Faculdade de filosofia e letras de São José do Rio Preto. Boletim de ciências*. 1:1-72.
- Wang LF, Walker PJ, Poon LLM (2011) Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats 'special' as reservoirs for emerging viruses? *Current opinion in Virology*. 1:649-657..

- White MK, Khalili K (2004) Polyomaviruses and human cancer: molecular mechanisms underlying patterns of tumorigenesis. *Virology* 324:1-16.
- Wibbelt G, Moore MS, Schountz T, Voigt CC (2010) Emerging diseases in Chiroptera: why bats? *Biol Lett* 6:438-440.
- Winter Y, Helversen OV (2003) Operation tong length in Phyllostomid nectar feeding bats. *Journal of Mammalogy*. 84:886-896.
- Wu Z, Yang L, Ren X, He G, Zhang J, Yang J, Qian Z, Dong J, Sun L, Zhu Y, Du J, Yang F, et al. (2016) Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *ISME J* 10:609-620.
- Wynne JW, Wang LF (2013) Bats and viruses: friend or foe? *PLoS Pathog* 9:e1003651
- Xie L, Xie Z, Zhao G, Liu J, Pang Y, Deng X, Xie Z, Fan Q (2012) Complete genome sequence analysis of a duck circovirus from Guangxi pockmark ducks. *J Virol* 86:13136.
- Ye J, Tian X, Xie Q, Zhang Y, Sheng Y., Zhanq Z, Wang C, Zhu H, Wang Y, Shao H, Qin A (2015) Avian Gyrovirus 2 DNA in Fowl from Live Poultry Markets and in Healthy Humans, China. *Emerg Infect Dis* 21:1486-1488.
- Yu X, Li B, Fu Y, Jiang D, Ghabrial SA, Li G, Peng Y, Xie J, Cheng J, Huanq J, Yi X (2010) A geminivirus-related DNA mycovirus that confers hypovirulence to a plant pathogenic fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:8387-8392.
- Yuan L, Li M, Li L, Monagin C, Chmura AA, Schneider BS, Epstein JH, Mei X, Shi Z, Daszak P, Chen J (2014) Evidence for retrovirus and paramyxovirus infection of multiple bat species in china. *Viruses* 6:2138-2154..
- Zhang H, Todd S, Tachedjian M, Barr JA, Luo M, Yu M, Marsh GA, Crameri G, Wang LF (2012) A novel bat herpesvirus encodes homologues of major histocompatibility complex classes I and II, C-type lectin, and a unique family of immune-related genes. *J Virol* 86:8014-8030.

Zhang X, Liu Y, Ji J, Chen F, Sun B, Xue C, Ma J, Bi Y, Xie Q (2014) Identification of a chicken anemia virus variant-related gyrovirus in stray cats in china, 2012. *Biomed Res Int* 2014:313252.

Zheng XY, Qiu M, Chen SW, Xiao JP, Ma LZ, Liu S, Zhou JH, Zhang QH, Li X, Chen Z et al. (2016) High prevalence and diversity of viruses of the subfamily Gammaherpesvirinae, family Herpesviridae, in fecal specimens from bats of different species in southern China. *Arch Virol* 161:135-140.

## CONCLUSÕES

A maior parte do conhecimento sobre vírus em morcegos se concentra nos continentes do Velho Mundo: Ásia, África e Europa. No continente americano e no Brasil, a maioria dos estudos é sobre o vírus da raiva e a família Phyllostomidae é a mais estudada. No capítulo 1 foi possível constatar que existe uma escassez de dados sobre vírus em morcegos no continente americano, e mais especificamente, no Brasil, não havendo também dados suficientes na literatura que permita correlacionar o hábito alimentar dos morcegos com a sua diversidade viral. O estudo realizado no capítulo 2 possibilitou a descoberta de 54 novos vírus nas quatro espécies de morcegos selecionadas, *Artibeus lituratus*, *Desmodus rotundus*, *Glossophaga soricina*, *Nyctinomops laticaudatus*, reforçando que pouco se conhece sobre vírus em morcegos. Foi possível confirmar a hipótese inicialmente proposta de que o hábito alimentar dos morcegos exerce influência sobre a sua diversidade viral. No entanto, a hipótese de que quanto maior a especialização da dieta dos morcegos, menor a diversidade viral encontrada, foi refutada. O presente estudo permitiu ainda identificar um vírus típico de aves, o vírus da Anemia Infeciosa das Galinhas – CAV, no intestino de *Desmodus rotundus*, permitindo inferir que esses morcegos, conhecidos por predação de mamíferos, estejam se alimentando também de aves. Os resultados apontam uma necessidade urgente de se conhecer mais sobre a relação entre os morcegos e os seus vírus, contribuindo desta forma para a preservação dos morcegos.

## APÊNDICE

**Tabela 1.** Famílias de vírus descritas em morcegos ao redor do mundo, por continente.

AMÉRICA				
Família vírus	Número de identificações	Família Morcego	Espécie Morcego	Dieta
<i>Adenoviridae</i>	1	Phyllostomidae	<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago
<i>Anelloviridae</i>	1	Molossidae	<i>Tadarida Brasiliensis</i>	Insetívoro
<i>Bunyaviridae</i>	2	Phyllostomidae	<i>Diphylla ecaudata</i>	Hematófago
			<i>Anoura caudifer</i>	Nectarívoro
<i>Circoviridae</i>	2	Molossidae	<i>Tadarida Brasiliensis</i>	Insetívoro
			<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro
<i>Coronaviridae</i>	22	Molossidae	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	Insetívoro
			<i>Tadarida Brasiliensis</i>	Insetívoro
			<i>Molossus currentium</i>	Insetívoro
			<i>Molossus rufus</i>	Insetívoro
		Mormoopidae	<i>Pteronotus parnellii</i>	Insetívoro
			<i>Pteronotus davyi</i>	Insetívoro
		Phyllostomidae	<i>Carollia sowelli</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus phaeotis</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus lituratus</i>	Frugívoro
			<i>Carollia brevicaudata</i>	Frugívoro
			<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro
			<i>Lonchorhina aurita</i>	Nectarívoro
			<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro
			<i>Anoura geoffroyi</i>	Nectarívoro
			<i>Phyllostomus discolor</i>	Onívoro
		Vespertilionidae	<i>Eptesicus fuscus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis volans</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus subflavus</i>	Insetívoro
<i>Myotis velifer</i>	Insetívoro			
<i>Myotis lucifugus</i>	Insetívoro			
<i>Flaviviridae</i>	10	Molossidae	<i>Nyctinomops macrotis</i>	Insetívoro
		Mormoopidae	<i>Pteronotus parnellii</i>	Insetívoro

		Phyllostomidae	<i>Sturnira lilium</i>	Frugívoro
			<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus glaucus</i>	Frugívoro
			<i>Sturnira ludovici</i>	Frugívoro
			<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago
			<i>Glossophaga commissarisi</i>	Nectarívoro
			<i>Trachops cirrhosus</i>	Onívoro
<i>Hepadnaviridae</i>	1	Phyllostomidae	<i>Uroderma bilobatum</i>	Frugívoro
<i>Hepeviridae</i>	1	Phyllostomidae	<i>Vampyrodes caraccioli</i>	Frugívoro
<i>Herpesviridae</i>	3	Phyllostomidae	<i>Lonchophylla thomasi</i>	Nectarívoro
		Vespertilionidae	<i>Eptesicus fuscus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis velifer</i>	Insetívoro
<i>Orthomyxoviridae</i>	2	Phyllostomidae	<i>Sturnira lilium</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus planirostris</i>	Frugívoro
<i>Paramyxoviridae</i>	6	Mormoopidae	<i>Pteronotus parnellii</i>	Insetívoro
		Phyllostomidae	<i>Carollia brevicaudata</i>	Frugívoro
			<i>Sturnira lilium</i>	Frugívoro
			<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro
			<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago
			<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro
<i>Parvoviridae</i>	1	Phyllostomidae	<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frugívoro
<i>Picornaviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Eptesicus fuscus</i>	Insetívoro
<i>Polyomaviridae</i>	8	Molossidae	<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro
		Mormoopidae	<i>Pteronotus davyi</i>	Insetívoro
			<i>Pteronotus parnellii</i>	Insetívoro
		Phyllostomidae	<i>Carollia perspicillata</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus planirostris</i>	Frugívoro
			<i>Sturnira lilium</i>	Frugívoro
			<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago
		Vespertilionidae	<i>Myotis lucifugus</i>	Insetívoro
<i>Poxviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Eptesicus fuscus</i>	Insetívoro
		Molossidae	<i>Molossus abrasus</i>	Insetívoro
<i>Rhabdoviridae</i>	54		<i>Tadarida Brasiliensis</i>	Insetívoro
			<i>Eumops bonariensis</i>	Insetívoro

			<i>Eumops patagonicus</i>	Insetívoro
			<i>Molossus molossus</i>	Insetívoro
			<i>Eumops glaucinus</i>	Insetívoro
			<i>Nyctinomops macrotis</i>	Insetívoro
			<i>Cynomops abrasus</i>	Insetívoro
			<i>Eumops auripendulus</i>	Insetívoro
			<i>Eumops perotis</i>	Insetívoro
			<i>Molossops neglectus</i>	Insetívoro
			<i>Molossus rufus</i>	Insetívoro
			<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	Insetívoro
			<i>Tadarida laticaudata</i>	Insetívoro
		Phyllostomidae	<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus fimbriatus</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus lituratus</i>	Frugívoro
			<i>Artibeus planirostris</i>	Frugívoro
			<i>Desmodus rotundus</i>	Hematófago
			<i>Diaemus youngi</i>	Hematófago
			<i>Glossophaga soricina</i>	Nectarívoro
			<i>Phyllostomus rufatus</i>	Onívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis keenii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis californicus</i>	Insetívoro
			<i>Lasiurus blossevillii</i>	Insetívoro
			<i>Lasiurus ega</i>	Insetívoro
			<i>Histiotus montanus</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus diminutus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis nigricans</i>	Insetívoro
			<i>Lasionycteris noctivagans</i>	Insetívoro
			<i>Lasiurus borealis</i>	Insetívoro
			<i>Myotis evotis</i>	Insetívoro
			<i>Myotis lucifugus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis chiloensis</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus Brasiliensis</i>	Insetívoro
			<i>Antrozous pallidus</i>	Insetívoro
		<i>Corynorhinus townsendii</i>	Insetívoro	

			<i>Euderma maculatum</i>	Insetívoro
			<i>Lasiurus intermedius</i>	Insetívoro
			<i>Lasiurus xanthinus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis austroriparius</i>	Insetívoro
			<i>Myotis ciliolabrum</i>	Insetívoro
			<i>Myotis thysanodes</i>	Insetívoro
			<i>Myotis velifer</i>	Insetívoro
			<i>Nycticeius humeralis</i>	Insetívoro
			<i>Parastrellus herperus</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus subflavus</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus fuscus</i>	Insetívoro
			<i>Lasiurus cinereus</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus furinalis</i>	Insetívoro
			<i>Histiotus velatus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis yumanensis</i>	Insetívoro
			<i>Myotis levis</i>	Insetívoro
<b>Total</b>	<b>116</b>			

ÁFRICA				
Família vírus	Número de identificações	Família Morcego	Espécie Morcego	Dieta
<i>Adenoviridae</i>	1	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
<i>Bunyaviridae</i>	4	Nycteridae	<i>Nycteris hispida</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Micropteropus pusillus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros caffer</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Neoromicia nanus</i>	Insetívoro
<i>Coronaviridae</i>	14	Megadermatidae	<i>Cardioderma cor</i>	Insetívoro
		Molossidae	<i>Chaerephon pumilus</i>	Insetívoro
			<i>Mops condylurus</i>	Insetívoro
			<i>Mops midas</i>	Insetívoro
			<i>Otomops martiensseni</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Eidolon dupreanum</i>	Frugívoro
			<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus rufus</i>	Frugívoro
<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro			

		Vespertilionidae	<i>Miniopterus africanus</i>	Insetívoro		
			<i>Miniopterus inflatus</i>	Insetívoro		
			<i>Miniopterus natalensis</i>	Insetívoro		
			<i>Neoromicia capensis</i>	Insetívoro		
			<i>Scotoecus sp.</i>	Insetívoro		
<i>Filoviridae</i>	4	Pteropodidae	<i>Epomops franqueti</i>	Frugívoro		
			<i>Myonycteris torquata</i>	Frugívoro		
			<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro		
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros caffer</i>	Insetívoro		
<i>Flaviviridae</i>	11	Molossidae	<i>Mops condylurus</i>	Insetívoro		
			<i>Otomops martiensseni</i>	Insetívoro		
			<i>Tadarida limbata</i>	Insetívoro		
		Pteropodidae	<i>Cynopterus brachyotis</i>	Frugívoro		
			<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro		
			<i>Epomophorus labiatus</i>	Frugívoro		
			<i>Megaloglossus woermanni</i>	Frugívoro		
					<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro
				Rhinolophidae	<i>Hipposideros vittatus</i>	Insetívoro
				Vespertilionidae	<i>Scotoecus sp.</i>	Insetívoro
		<i>Scotophilus dinganii</i>	Insetívoro			
<i>Hepadnaviridae</i>	2	Rhinolophidae	<i>Hipposideros ruber</i>	Insetívoro		
			<i>Rhinolophus alcyone</i>	Insetívoro		
<i>Hepeviridae</i>	1	Rhinolophidae	<i>Hipposideros abae</i>	Insetívoro		
<i>Herpesviridae</i>	3	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro		
			<i>Pteropus lylei</i>	Frugívoro		
			<i>Eidolon dupreanum</i>	Frugívoro		
<i>Papillomaviridae</i>	1	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro		
<i>Paramyxoviridae</i>	29	Emballonuridae	<i>Coleura afra</i>	Insetívoro		
			<i>Coleura kibomalandy</i>	Insetívoro		
		Molossidae	<i>Mops leucostigma</i>	Insetívoro		
			<i>Mops midas</i>	Insetívoro		
			<i>Mormopterus acetabulosus</i>	Insetívoro		
			<i>Mormopterus francoismoutoui</i>	Insetívoro		
			<i>Mormopterus jugularis</i>	Insetívoro		

			<i>Chaerephon leucogaster</i>	Insetívoro
			<i>Otomops madagascariensis</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
			<i>Epomophorus gambianus</i>	Frugívoro
			<i>Hypsignathus monstrosus</i>	Frugívoro
			<i>Megaloglossus woermanni</i>	Frugívoro
			<i>Myonycteris torquata</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus lylei</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus rufus</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro
			Rhinolophidae	<i>Hipposideros abae</i>
		<i>Hipposideros caffer</i>		Insetívoro
		<i>Hipposideros ruber</i>		Insetívoro
		<i>Paratriaenops furculus</i>		Insetívoro
		<i>Triaenops menamena</i>		Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus gleni</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus griveaudi</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus inflatus</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus mahafaliensis</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus sororculus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis goudoti</i>	Insetívoro
			<i>Neoromicia nanus</i>	Insetívoro
<i>Parvoviridae</i>	1	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
<i>Piconaviridae</i>	3	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
		Vespertilionidae	<i>Glauconycteris sp.</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus magnater</i>	Insetívoro
<i>Polyomaviridae</i>	3	Megadermatidae	<i>Cardioderma cor</i>	Insetívoro
		Molossidae	<i>Otomops martiensseni</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus africanus</i>	Insetívoro
<i>Poxviridae</i>	1	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
<i>Retroviridae</i>	1	Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
<i>Rhabdoviridae</i>	7	Nycteridae	<i>Nycteris thebaica</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Eidolon helvum</i>	Frugívoro
			<i>Epomophorus wahlbergi</i>	Frugívoro

			<i>Micropteropus pusillus</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus eloquens</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus hildebrandtii</i>	Insetívoro
<b>Total</b>	<b>86</b>			

ÁSIA				
Família vírus	Número de identificações	Família Morcego	Espécie Morcego	Dieta
<i>Adenoviridae</i>	8	Pteropodidae	<i>Pteropus dasymallus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros armiger</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Ia io</i>	Insetívoro
			<i>Myotis horsfieldii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro
			<i>Scotophilus kuhlii</i>	Insetívoro
<i>Astroviridae</i>	24	Emballonuridae	<i>Taphozous melanopogon</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
		Pteropodidae	<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros armiger</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros cineraceus</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros larvatus</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros pomona</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus affinis</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus pearsonii</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus pusillus</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus rouxii</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus sinicus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Ia io</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus fuliginosus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus magnater</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus pusillus</i>	Insetívoro
Vespertilionidae	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro		

		Vespertilionidae	<i>Myotis chinensis</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis horsfieldii</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Pipistrellus abramus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Scotophilus kuhlii</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Tylonycteris robustula</i>	Insetívoro
<i>Bunyaviridae</i>	9	Emballonuridae	<i>Taphozous melanopogon</i>	Insetívoro
		Molossidae	<i>Charephon plicatus</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros pomona</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus affinis</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus monoceros</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus sinicus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis blythii</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Pipistrellus abramus</i>	Insetívoro
<i>Caliciviridae</i>	1	Rhinolophidae	<i>Hipposideros pomona</i>	Insetívoro
<i>Circoviridae</i>	6	Pteropodidae	<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros armiger</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus luctus</i>	Insetívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus pusillus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
<i>Coronaviridae</i>	40	Emballonuridae	<i>Taphozous melanopogon</i>	Insetívoro
			<i>Taphozous perforatus</i>	Insetívoro
		Megadermatidae	<i>Megaderma lyra</i>	Carnívoro
		Molossidae	<i>Charephon plicatus</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Cynopterus brachyotis</i>	Frugívoro
			<i>Cynopterus sphinx</i>	Frugívoro
			<i>Dobsonia moluccensis</i>	Frugívoro
			<i>Megaerops kusnotoi</i>	Frugívoro
			<i>Ptenochirus jadori</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
Rhinolophidae	<i>Hipposideros armiger</i>	Insetívoro		

			<i>Hipposideros cineraceus</i>	Insetívoro
			<i>Hipposideros larvatus</i>	Insetívoro
			<i>Hipposideros lekaguli</i>	Insetívoro
			<i>Hipposideros pomona</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus affinis</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus macrotis</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus pearsonii</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus pusillus</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus shameli</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus sinicus</i>	Insetívoro
		Rhinopomatidae	<i>Rhinopoma hardwickii</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus fuliginosus</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus fuscus</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus magnater</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus pusillus</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
			<i>Murina leucogaster</i>	Insetívoro
			<i>Myotis daubentonii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis davidii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus abramus</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus kuhlii</i>	Insetívoro
			<i>Scotophilus heathii</i>	Insetívoro
			<i>Scotophilus kuhlii</i>	Insetívoro
			<i>Tylonycteris pachypus</i>	Insetívoro
		<i>Vespertilio sinensis</i>	Insetívoro	
<i>Filoviridae</i>	1	Pteropodidae	<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
<i>Flaviviridae</i>	7	Pteropodidae	<i>Cynopterus brachyotis</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus affinis</i>	Insetívoro
Vespertilionidae	<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro		
<i>Hepadnaviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Miniopterus fuliginosus</i>	Insetívoro

<i>Herpesviridae</i>	7	Pteropodidae	<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus fuliginosus</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro
			<i>Scotophilus kuhlii</i>	Insetívoro
			<i>Tylonycteris robustula</i>	Insetívoro
<i>Paramyxoviridae</i>	11	Emballonuridae	<i>Taphozous melanopogon</i>	Insetívoro
		Molossidae	<i>Charephon leucogaster</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Acerodon celebensis</i>	Frugívoro
			<i>Eonycteris spelaea</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus hypomelanus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus lylei</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus vampyrus</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros armiger</i>	Insetívoro
			<i>Hipposideros cineraceus</i>	Insetívoro
<i>Parvoviridae</i>	12	Pteropodidae	<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros larvatus</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus affinis</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus macrotis</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus sinicus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Miniopterus fuliginosus</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis daubentonii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis myotis</i>	Insetívoro
			<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro
			<i>Scotophilus kuhlii</i>	Insetívoro
		<i>Picornaviridae</i>	6	Rhinolophidae
<i>Hipposideros armiger</i>	Insetívoro			
<i>Rhinolophus sinicus</i>	Insetívoro			
Vespertilionidae	<i>Ia io</i>			Insetívoro
	<i>Miniopterus pusillus</i>			Insetívoro

			<i>Miniopterus magnater</i>	Insetívoro
<i>Polyomaviridae</i>	5	Pteropodidae	<i>Acerodon celebensis</i>	Frugívoro
			<i>Dobsonia moluccensis</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus giganteus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus vampyrus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Hipposideros pomona</i>	Insetívoro
<i>Reoviridae</i>	4	Pteropodidae	<i>Pteropus hypomelanus</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus hipposideros</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus pusillus</i>	Insetívoro
<i>Retroviridae</i>	11	Emballonuridae	<i>Taphozous melanopogon</i>	Insetívoro
		Megadermatidae	<i>Megaderma lyra</i>	Carnívoro
		Pteropodidae	<i>Eonycteris spelaea</i>	Frugívoro
			<i>Rousettus leschenaultii</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus affinis</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus pearsonii</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus pusillus</i>	Insetívoro
Vespertilionidae	<i>Myotis ricketti</i>	Insetívoro		
Vespertilionidae	<i>Myotis blythii</i>	Insetívoro		
<i>Rhabdoviridae</i>	4	Rhinolophidae	<i>Rhinolophus cornutus</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Murina leucogaster</i>	Insetívoro
			<i>Myotis mystacinus</i>	Insetívoro
<b>Total</b>	<b>157</b>			

EUROPA				
Família vírus	Número de identificações	Família Morcego	Espécie Morcego	Dieta
<i>Adenoviridae</i>	3	Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Nyctalus noctula</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
<i>Astroviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Myotis myotis</i>	Insetívoro
<i>Bornaviridae</i>	2	Vespertilionidae	<i>Myotis nattereri</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
<i>Bunyaviridae</i>	2	Vespertilionidae	<i>Pipistrellus kuhlii</i>	Insetívoro

			<i>Myotis mystacinus</i>	Insetívoro
<i>Coronaviridae</i>	21	Rhinolophidae	<i>Rhinolophus blasii</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus euryale</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus hipposideros</i>	Insetívoro
			<i>Rhinolophus mehelyi</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis dasycneme</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus serotinus</i>	Insetívoro
			<i>Hypsugo savii</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis bechsteinii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis blythii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis daubentonii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis myotis</i>	Insetívoro
			<i>Myotis nattereri</i>	Insetívoro
			<i>Nyctalus lasiopterus</i>	Insetívoro
			<i>Nyctalus noctula</i>	Insetívoro
			<i>Nyctaus leisleri</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus kuhlii</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus nathusii</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>	Insetívoro			
<i>Flaviviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
<i>Hepeviridae</i>	3	Vespertilionidae	<i>Eptesicus serotinus</i>	Insetívoro
			<i>Myotis bechsteinii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis daubentonii</i>	Insetívoro
<i>Herpesviridae</i>	8	Pteropodidae	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis nattereri</i>	Insetívoro
			<i>Nyctalus noctula</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus nathusii</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
			<i>Plecotus auritus</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus serotinus</i>	Insetívoro
<i>Eptesicus isabelinus</i>	Insetívoro			

<i>Papilomaviridae</i>	3	Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Eptesicus isabelinus</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus serotinus</i>	Insetívoro
<i>Paramyxoviridae</i>	7	Vespertilionidae	<i>Myotis alcaethoe</i>	Insetívoro
			<i>Myotis bechsteinii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis capaccinii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis daubentonii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis myotis</i>	Insetívoro
			<i>Myotis mystacinus</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
<i>Parvovirinae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
<i>Picornaviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
<i>Reoviridae</i>	8	Molossidae	<i>Tadarida teniotis</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Pteropus vampyrus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus hipposideros</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis mystacinus</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus kuhlii</i>	Insetívoro
			<i>Plecotus auritus</i>	Insetívoro
			<i>Vespertilio murinus</i>	Insetívoro
<i>Retroviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Eptesicus serotinus</i>	Insetívoro
<i>Rhabdoviridae</i>	14	Pteropodidae	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis nattereri</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus isabelinus</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus nilssoni</i>	Insetívoro
			<i>Eptesicus serotinus</i>	Insetívoro
			<i>Hypsugo savii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis dasycneme</i>	Insetívoro
			<i>Myotis daubentonii</i>	Insetívoro
			<i>Myotis myotis</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus nathusii</i>	Insetívoro
			<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Insetívoro
			<i>Plecotus auritus</i>	Insetívoro
<i>Vespertilio murinus</i>	Insetívoro			

<b>Total</b>	<b>76</b>			
--------------	-----------	--	--	--

<b>OCEANIA</b>				
<b>Família vírus</b>	<b>Número de identificações</b>	<b>Família Morcego</b>	<b>Espécie Morcego</b>	<b>Dieta</b>
<i>Caliciviridae</i>	1	Mystacinidae	<i>Mystacina tuberculata</i>	Onívoro
<i>Coronaviridae</i>	6	Miniopteridae	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
			<i>Miniopterus australis</i>	Insetívoro
		Mystacinidae	<i>Mystacina tuberculata</i>	Onívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus megaphyllus</i>	Insetívoro
			<i>Rhinonictes aurantia</i>	Insetívoro
		Vespertilionidae	<i>Myotis macropus</i>	Insetívoro
<i>Herpesviridae</i>	1	Vespertilionidae	<i>Miniopterus schreibersii</i>	Insetívoro
<i>Paramyxoviridae</i>	3	Pteropodidae	<i>Pteropus alecto</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus conspicillatus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus poliocephalus</i>	Frugívoro
<i>Reoviridae</i>	2	Pteropodidae	<i>Pteropus poliocephalus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus scapulatus</i>	Frugívoro
<i>Retroviridae</i>	2	Pteropodidae	<i>Pteropus alecto</i>	Frugívoro
		Rhinolophidae	<i>Rhinolophus megaphyllus</i>	Insetívoro
<i>Rhabdoviridae</i>	4	Emballonuridae	<i>Saccolaimus flaviventris</i>	Insetívoro
		Pteropodidae	<i>Pteropus poliocephalus</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus alecto</i>	Frugívoro
			<i>Pteropus scapulatus</i>	Frugívoro
<b>Total</b>	<b>19</b>			