

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PARANÁ, *CAMPUS* DE UNIÃO DA VITÓRIA
COLEGIADO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CELI DE ARAUJO RIEPER

ESTUDO COM MARCADORES CROMOSSÔMICOS EM UMA POPULAÇÃO
SUL-PARANAENSE DE *Sturnira lilium* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE)

UNIÃO DA VITÓRIA

2024

CELI DE ARAUJO RIEPER

ESTUDO COM MARCADORES CROMOSSÔMICOS EM UMA POPULAÇÃO
SUL-PARANAENSE DE *Sturnira lilium* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao colegiado de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Estadual do Paraná, *Campus* de União da Vitória, como requisito parcial à obtenção do título de licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Bueno Noletto
Coorientador: Prof. Dr. Alan Deivid Pereira

UNIÃO DA VITÓRIA

2024



Anexo X - ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 05 dias do mês de dezembro de 2024, a acadêmica Celi de Araujo Rieper apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado ESTUDO COM MARCADORES CROMOSSÔMICOS EM UMA POPULAÇÃO SUL-PARANAENSE DE *Sturnira lilium* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE),

para avaliação da banca composta pelo orientador, Prof. Dr. Rafael Bueno Noleto, Prof. Dr. Marcos Otávio Ribeiro e Profa. Dra. Thais Aparecida Dulz.

Após a apresentação do TCC pelo(a) acadêmico(a) e arguição pela banca, a mesma deliberou pela:

Quadro de notas:

Avaliador	Nota
1	6,25
2	7,3
3	8,2
Média Final	7,2

Aprovação

Aprovação com reformulações

Reprovação

A nota final da acadêmica foi igual a: 7,2.

União da Vitória, 05 de fevereiro de 2025.

Documento assinado digitalmente

gov.br

RAFAEL BUENO NOLETO

Data: 04/02/2025 14:15:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Presidente da banca – Orientador
Prof. Dr. Rafael Bueno Noleto

Documento assinado digitalmente

gov.br

MARCOS OTAVIO RIBEIRO

Data: 05/02/2025 15:27:20-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro Avaliador 1
Prof. Dr. Marcos Otávio Ribeiro

Documento assinado digitalmente

gov.br

THAIS APARECIDA DULZ

Data: 05/02/2025 21:26:31-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro Avaliador 2
Profa. Dra. Thais Aparecida
Dulz

Dedico à Vivi,
pelo apoio de uma vida toda.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão aos meus pais Alexandre e Rita, que me proporcionaram estar aqui hoje e sempre me ofereceram todo o apoio necessário para seguir meu caminho acadêmico.

Agradeço à minha irmã Julia, que está sempre disposta a ajudar e apoiar quando preciso.

À minha irmã Vivi, que, ao longo da minha vida, me apoiou de todas as maneiras possíveis e impossíveis. Sem você, não seria quem sou hoje.

Sou grata à minha namorada Bea, que esteve ao meu lado em todos os momentos, me apoiando e ajudando a atravessar essa jornada acadêmica. Sua presença foi fundamental para que eu não desistisse, enfrentando todos os obstáculos comigo.

Agradeço também às minhas amigas de turma, Maria, Luana e Fernanda. Apesar das nossas diferenças, vocês estiveram comigo durante todo esse tempo, contribuindo para que eu chegasse até aqui.

Agradeço de coração à minha amiga Karine, que sempre esteve ao meu lado, disposta a oferecer apoio e consolo. Sua capacidade de me fazer rir tornou essa jornada muito mais leve e agradável.

Um agradecimento especial aos professores do colegiado de Ciências Biológicas, que nunca negaram sua ajuda e apoio ao longo desses anos.

Agradeço ao meu coorientador, Prof. Dr. Alan Deivid Pereira, por me apresentar ao fascinante mundo dos morcegos e por sua imensa paciência em nos ensinar tudo o que sabe sobre esse universo.

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Bueno Noletto, pela paciência, ajuda e cuidado ao compartilhar seus ensinamentos. Sou muito grata por ter sido aceita sob sua orientação e tenho orgulho de ter sido sua orientada. Admiro profundamente seu profissionalismo e o cuidado que dedica a tudo o que faz.

Por último, agradeço à Universidade Estadual do Paraná, por ter sido minha casa durante todo esse tempo e por me proporcionar experiências inesquecíveis.

RESUMO

Morcegos são mamíferos com a capacidade real de voo, desempenham um papel crucial nos sistemas ecológicos. A família Phyllostomidae, a maior e mais diversificada na região Neotropical, caracterizada por morcegos com uma estrutura em forma de folha ao redor das narinas, conhecida como folha nasal, fundamental para o sistema de ecolocalização. O gênero *Sturnira*, atualmente com quatro espécies no Brasil, é considerado um grupo ainda não completamente resolvido filogeneticamente. Discordâncias entre marcadores moleculares e morfológicos são observadas, a ponto de se considerar *Sturnira lilium* como um possível complexo de espécies diante de sua plasticidade morfológica. O presente estudo teve como objetivo utilizar dados cromossômicos para identificar possíveis marcadores citotaxonômicos e investigar novos padrões cariotípicos da espécie. Um indivíduo de cada sexo foi coletado em União da Vitória, localizada na região centro-sul do Paraná. Após a coleta, os cromossomos foram analisados por métodos convencionais e moleculares de citogenética, incluindo a hibridização fluorescente *in situ* (FISH). A coloração convencional indicou que a espécie possui $2n=30$ cromossomos com morfologias metacêntrica, submetacêntrica e subtelocêntrica, além da presença de cromossomos sexuais do tipo XX/XY. Esta estrutura cariotípica é semelhante à encontrada em outras populações previamente estudadas, com variações sutis na morfologia de alguns pares cromossômicos, resultado de reposicionamentos centroméricos observados em diferentes grupos populacionais. Os blocos GC+ foram observados nas regiões teloméricas da maioria dos cromossomos, na região pericentromérica do cromossomo X, e coincidentes com as Regiões Organizadoras de Nucléolo (RONs). Bandas heterocromáticas foram evidenciadas nas seguintes regiões: (1) centrômero e suas proximidades de todos os cromossomos; (2) intersticial no braço longo do par 4; (3) locus do rDNA 45S (par 7). A análise por FISH utilizando uma sonda de rDNA 18S confirmou o número e a localização das RONs.

Palavras-chave: Cariótipo. FISH. Cromossomos. Morcegos. rDNA.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Espécie *Sturnira lilium* (É. Geoffroy, 1810), sendo seu nome popular Morcego-fruteiro. 17
- Figura 2.** Cariótipo de *Sturnira lilium* em coloração convencional, evidenciando os cromossomos sexuais de exemplares macho e fêmea 21
- Figura 3.** Metáfases de *Sturnira lilium* submetidas a: (A) coloração com nitrato de prata, a seta indica o par 7 associado pela região das RONS; (B) dupla coloração com CMA3/DAPI: regiões ricas em pares de base AT (azuis) e regiões ricas em GC (verdes). Em destaque o par 7 e a composição molecular do locus do rDNA 45S (setas). 22
- Figura 4.** Hibridização fluorescente *in situ* com uma sonda de rDNA 18S, mapeando os genes ribossômicos no par 7. Barra = 10µm. 23
- Figura 5.** Cariótipo da espécie *Sturnira lilium* submetido à técnica de bandamento C 23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO GERAL	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1	CONSIDERAÇÕES: ORDEM CHIROPTERA	12
3.2	FAMÍLIA PHYLLOSTOMIDAE	13
3.3	SUBFAMÍLIA STENODERMATINAE E O GÊNERO <i>Sturnira</i>	13
3.4	ASPECTOS CROMOSSÔMICOS E EVOLUTIVOS DOS FILOSTOMÍDEOS	14
4	MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1	TIPO DE PESQUISA	16
4.2	ÁREA DE ABRANGÊNCIA	16
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	17
4.3.1	Preparações cromossômicas (Ford; Hamerton, 1956)	17
4.3.2	Detecção de Heterocromatina Constitutiva (bandas-CBG) (Sumner, 1972)	18
4.3.3	Dupla coloração Cromomicina A3/DAPI (Schweizer, 1980)	18
4.3.4	Detecção das Regiões Organizadoras de Nucléolo (Howell; Black, 1980)	18
4.3.5	Hibridização Fluorescente <i>in situ</i> (FISH) (Pinkel, Straume; Gray, 1986)	18
4.3.6	Análises Cromossômicas	19
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
7	REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

No último século, foram registrados no Brasil pouco mais de 80 espécies de morcegos das 186 conhecidas hoje, distribuídas em 68 gêneros e 9 famílias (Garbino *et al.*, 2022), sendo elas: Emballonuridae, Phyllostomidae, Mormoopidae, Noctilionidae, Furipteridae, Thyropteridae, Natalidae, Molossidae e Vespertilionidae. Das 1.474 espécies descritas no mundo todo (Mammal Diversity, 2024), 13 dessas são exclusivas do território nacional (Garbino *et al.*, 2022). Na região sul do Brasil já se tem descrito um total de 70 espécies de morcegos, com o Paraná apresentando a maior riqueza (64 espécies), seguido pelo estado de Santa Catarina (47) e Rio Grande do Sul (40), sendo as três famílias mais representadas, Phyllostomidae, Vespertilionidae e Molossidae (Passos *et al.*, 2010).

Esses pequenos mamíferos têm hábitos noturnos, fazendo com que sejam pouco notados pela população. Além de serem animais muito diversos, os morcegos também apresentam uma ampla variedade alimentar, podendo ser: frugívoros, insetívoros, nectarívoros, carnívoros, piscívoros e hematófagos (Reis *et al.*, 2017).

A família Phyllostomidae é notável pela sua grande variedade de espécies e por diferentes comportamentos alimentares. Esses morcegos, frequentemente mencionados na literatura científica, são considerados fundamentais para a manutenção das florestas tropicais, atuando como dispersores de sementes, especialmente das plantas desta região (Tavoloni, 2006). Os morcegos da subfamília Stenodermatinae, pertencentes à família Phyllostomidae, são reconhecidos por sua especialização em uma dieta frugívora (Nowak, 1994). De acordo com Reis *et al.* (2000), esta subfamília é a mais representativa dentre os filostomídeos, reunindo um total de 67 espécies. A espécie *Sturnira lilium* é um dos representantes mais abundantes, sendo amplamente distribuída, especialmente nas florestas de montanha do sudeste brasileiro (Marinho-Filho; Vasconcellos-Neto, 1994)

No Brasil, os primeiros estudos sobre o número e morfologia dos cromossomos de espécies de morcegos foram conduzidos por Beçak *et al.*, (1969), Yonenaga *et al.*, (1969) e Toledo (1973). Por volta de 1989, apenas 25% das espécies registradas em nosso território tinham seus cariótipos descritos a partir de espécimes capturados no Brasil (Varella-Garcia *et al.*, 1989), quadro que vem mudando lentamente, indicando que a quiropterofauna brasileira carece ainda de estudos mais aprofundados nessa área (Reis *et al.*, 2017). Os marcadores cromossômicos representam ferramentas fundamentais para a análise genômica e a compreensão da diversidade biológica das espécies. Esses marcadores, que incluem mapeamento de genes específicos, sequências repetitivas e regiões cromossômicas distintas,

desempenham um papel fundamental em estudos de genética, evolução e conservação. Igualmente podem ser informativos marcadores citotaxonômicos, no caso de espécies crípticas e/ou complexo de espécies. Em um contexto evolutivo, a análise de marcadores cromossômicos pode auxiliar na elucidação de relações filogenéticas entre diferentes grupos taxonômicos (Ferguson-Smith; Trifonov, 2007).

Compreender as mudanças cromossômicas ao longo da evolução de um grupo é essencial para reconstruir a história genômica e entender os eventos que moldaram a diversidade biológica observada hoje. O gênero *Sturnira*, no Brasil com quatro espécies, é caracterizado como um grupo ainda não resolvido filogeneticamente, apresentando discordâncias quanto à marcadores moleculares e morfológicos. Um exemplo é o táxon *Sturnira lilium* que, diante de sua plasticidade morfológica, é reconhecido como um possível complexo de espécies. Assim, o objetivo principal do presente estudo foi a partir de dados cromossômicos, contribuir com possíveis marcadores citotaxonômicos, além de buscar descrever novos padrões cariotípicos para a espécie, até então com ausência de dados cromossômicos para o sul do Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A partir de dados cromossômicos, contribuir para melhor esclarecer algumas lacunas taxonômicas, além de buscar descrever possíveis novos padrões cariotípicos para a espécie.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a estrutura cariotípica da espécie *Sturnira lilium* baseada em marcadores citogenéticos clássicos e moleculares;
- Analisar o sistema de determinação do sexo XX/XY;
- Discutir os resultados sob enfoques taxonômicos e evolutivos comparando-os com dados disponíveis na literatura.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CONSIDERAÇÕES: ORDEM CHIROPTERA

A denominação Chiroptera, derivada do grego *cheir* (mão) e *pteron* (asa), refere-se à adaptação morfológica fundamental observada nesses animais, caracterizados por possuírem asas como membros anteriores. Constituem um dos grupos de mamíferos mais diversificados do mundo. O alongamento dos ossos metacarpais e falanges para suporte e controle de uma membrana alar chamada patágio, foi um marco crucial no desenvolvimento do voo sustentado exibido por esses organismos (Sotero-Caio, 2008). Tradicionalmente, são classificados em duas subordens: Microchiroptera e Megachiroptera. A subordem Microchiroptera é a única que ocorre no Brasil, sendo encontrada em diversas regiões do mundo, exceto nas áreas polares (Reis *et al.*, 2007). Rivalizam em diversidade apenas com os roedores, sendo mais abundantes nas regiões tropicais e subtropicais (Sigrist, 2012).

Esses pequenos mamíferos adquiriram a habilidade de se pendurar para repouso, de cabeça para baixo, agarrando-se a superfícies como cavernas, troncos e galhos, com suas unhas afiadas e curvas semelhantes a ganchos de cabides. Suas vértebras cervicais, que sustentam a cabeça durante o voo, também os mantêm elevados durante o repouso, proporcionando uma sensação de ambiente não invertido (Reis *et al.*, 2007). Possuem ecolocalização, que implica na emissão de sinais de alta frequência e na detecção do eco resultante ao interagir com vários obstáculos. Esse processo permite que os morcegos determinem distâncias e dimensões. Assim, esses animais podem ocupar abrigos menos vulneráveis à predação e competição. Além disso, essa habilidade lhes permite explorar de maneira eficiente os recursos do ambiente (Calixto, 2008).

Formam um dos conjuntos mais variados de mamíferos em relação aos seus hábitos alimentares (Reis *et al.*, 2017), podendo se alimentar de frutos, sangue, néctar, insetos e até outros pequenos animais. São considerados bioindicadores eficazes da qualidade ambiental em ecossistemas naturais (Fenton, 1992) e desempenham um papel extremamente importante para os seres humanos, sendo utilizados em estudos epidemiológicos e no desenvolvimento de vacinas que exploram mecanismos de resistência a doenças (Yalden; Morris, 1975).

3.2 FAMÍLIA PHYLLOSTOMIDAE

A família Phyllostomidae inclui espécies insetívoras, carnívoras, frugívoras, polinívoro-nectarívoras, granívoras, folívoras, hematófagas e onívoras. Possui o maior número de gêneros e é a família de morcegos mais diversa no território brasileiro. Apresentam uma folha nasal membranosa proeminente que desempenha um papel crucial na orientação dos ultrassons liberados pelas narinas (Neuweiler, 2000). No processo de ecolocalização, emitem sons de alta frequência pela boca ou pelo nariz, os quais são refletidos pela superfície do ambiente, fornecendo informações sobre a direção e a distância relativa dos objetos (Fenton, 1992). É assim que os insetívoros se desviam dos obstáculos noturnos e caçam pequenos insetos em pleno voo (Reis *et al.*, 2007).

3.3 SUBFAMÍLIA STENODERMATINAE E O GÊNERO *Sturnira*

A subfamília Stenodermatinae, sendo a mais diversa entre as subfamílias dos filostomídeos no Brasil, contendo cerca 37 espécies que pertencem a 14 gêneros (Garbino *et al.*, 2022). Se distribui do México ao Uruguai, passando pelo Peru e pela América Central, incluindo também as Índias Orientais (Koopman, 1994), sendo morcegos frugívoros que em sua maioria são dispersores de sementes (Reis *et al.*, 2017). Apresentam folha nasal de tamanho médio e ausência da cauda livre. O uropatágio, quando presente, não excede o comprimento dos membros inferiores, podendo estar ausente em determinadas espécies.

Já o gênero *Sturnira* conta com quatro espécies: *Sturnira giannae* Velazco; Patterson, 2019, *Sturnira liliium* (É. Geoffroy, 1810), *Sturnira magna* de la Torre, 1966 e *Sturnira tildae* de la Torre, 1959 (Garbino *et al.*, 2022). *Sturnira giannae*, conhecido como morcego de ombros amarelos de Gianna, exibe uma pelagem ventral uniformemente colorida, variando de marrom a marrom-avermelhado (García-Restrepo, 2023). Sua ocorrência é restrita às vertentes orientais da Cordilheira dos Andes, estendendo-se do território colombiano até a Bolívia, e também se encontra nas regiões de baixa altitude da Venezuela, Guiana e Brasil. A espécie habita uma diversidade de formações florestais situadas a altitudes abaixo de 2000 metros (Pilatasig, 2022).

No Brasil, a distribuição de *Sturnira liliium* abrange as regiões Norte, Sul, Sudeste e parte do Centro-Oeste (Velazco; Patterson, 2014). A espécie demonstra uma notável capacidade de adaptação às modificações do habitat, sendo amplamente encontrada em ambientes alterados ao longo de sua área de ocorrência. Sua pelagem exibe variação

cromática, indo do tom pardo ao alaranjado. Em termos de tamanho corporal, *S. lilium* é considerado de porte intermediário quando comparado às demais espécies do gênero *Sturnira* (Reis *et al.*, 2017). Além disso, *S. lilium* apresenta cúspides linguais e adota um hábito alimentar predominantemente frugívoro. Embora não possua adaptações específicas para a nectarivoria, a espécie pode, de maneira ocasional, atuar como polinizador de determinadas plantas (Vieira; Carvalho-Okano, 1996).

A espécie *Sturnira magna* é endêmica da América do Sul, com distribuição geográfica que abrange o oeste do Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador e Peru (Gardner, 2008). Entre as espécies do gênero *Sturnira* presentes no país, *S. magna* é a maior, apresentando uma pelagem que varia entre tons de amarelo, pardo e cinza (Reis *et al.*, 2017). Embora a espécie seja amplamente distribuída, não há informações disponíveis sobre sua dieta ao longo de toda a área de ocorrência. No Brasil, sua presença foi registrada no estado do Acre, conforme estudo de Nogueira *et al.* (1999).

Já *Sturnira tildae* encontra-se amplamente distribuída na maioria dos estados, conforme descrito por Reis *et al.* (2017). Embora apresente características externas semelhantes às de *Sturnira lilium*, geralmente possui um porte maior, o que pode ser observado em medidas como o comprimento do antebraço, que varia entre 44 e 48 mm, sendo ligeiramente superior ao de *S. lilium* (Reis *et al.*, 2017; Simmons; Voss, 1998). Contudo, no campo, a distinção entre as duas espécies pode ser desafiadora. Nesse contexto, a morfologia das cúspides linguais dos primeiros e segundos molares inferiores revela-se um critério taxonômico relevante. Em *S. lilium*, essas cúspides apresentam-se elevadas e com entalhes profundos, enquanto em *S. tildae* são mais baixas e exibem entalhes menos pronunciados, conforme destacado por Simmons; Voss (1998).

3.4 ASPECTOS CROMOSSÔMICOS E EVOLUTIVOS DOS FILOSTOMÍDEOS

A descrição das espécies de morcegos tem se baseado principalmente em características morfológicas, especialmente no crânio, contudo, por se encaixarem ao grupo de mamíferos mais antigos, a identificação de relações filogenéticas é desafiadora, dependendo apenas de detalhes ligados à adaptação (Barros, 2006). Os morcegos filostomídeos experimentaram uma diversificação há cerca de 35 milhões de anos, notavelmente, muitas espécies desse grupo se diversificaram rapidamente em um período evolutivo relativamente curto, ocorrendo entre 10 e 5 milhões de anos atrás (Amador *et al.*, 2018).

A reconstrução da história evolutiva da família Phyllostomidae tem passado por modificações, especialmente nas relações entre suas subfamílias. Essas mudanças são geradas pela rápida diversificação e pelos significativos acúmulos de mudanças adaptativas (Silva, 2020). O tamanho e a organização da estrutura dentária dos morcegos, ajustados aos seus hábitos alimentares (como frutos, insetos, pólen ou sangue), podem refletir mais adaptações a recursos alimentares específicos do que relações de parentesco. Dessa forma, informações celulares e genéticas tornam-se fundamentais para caracterizar grupos taxonômicos e compreender padrões evolutivos entre e dentro das espécies (Santos; Faria, 2024). Portanto, a análise de marcadores é crucial, destacando-se os cromossômicos, que possibilita avaliar padrões da evolução cromossômica na ordem (Varella-Garcia Taddei, 1989).

Os morcegos desta família possuem números diploides ($2n$) entre 14 e 46, enquanto o número de braços cromossômicos (número fundamental = NF) varia de 20 a 60. As ocorrências mais comuns incluem $2n=32$ e $NF=56$ (Baker, 1970). Embora o sistema simples de determinação cromossômica do sexo $XX:XY$ seja predominante em mamíferos, incluindo morcegos, observa-se frequentemente nos Phyllostomidae um sistema múltiplo $XX:XY1Y2$. Nesse arranjo, $Y1$ representa o cromossomo Y genuíno, enquanto $Y2$ é o homólogo ao autossomo translocado para o cromossomo X , que tem sido descrito nas subfamílias Carollinae, Glossophaginae e Stenodermatinae (Tucker, 1986). O modo predominante de evolução cromossômica é a translocação Robertsoniana em qualquer direção (isto é, fusões ou fissões), de acordo com comparações cariotípicas baseadas em padrões de bandas G (Baker; Bickham, 1980). Variações cromossômicas geográficas, que em muitos casos não se correlacionam com variações no fenótipo, estão sendo cada vez mais detectadas. As análises comparativas de cariótipos utilizando várias técnicas de citogenética, permitem reconhecer diferentes constituições cariotípicas que podem corresponder a polimorfismos cromossômicos, representar citótipos distintos e restritos a determinadas localidades ou serem apenas variantes esporádicas (Kasahara, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE PESQUISA

A pesquisa experimental baseia-se em determinar um objeto de estudo e observar o mesmo sob condições e variáveis que podem influenciá-lo, definindo formas de controle e observação dos efeitos que a variável produz no objeto. Possui as seguintes propriedades: manipulação, controle e distribuição aleatória (Gil, 2002).

4.2 ÁREA DE ABRANGÊNCIA

O estudo foi desenvolvido com dois indivíduos sendo um macho e uma fêmea da espécie *Sturnira lilium* (Figura 1) coletados em campo no município de União da Vitória, localizado na região sul do estado do Paraná, em uma área alterada para uso como pastagem e piscicultura: o Centro de Pesquisas e Extensão em Aquicultura Ildo Zago (CEPEA), o qual está vinculado a Universidade Estadual do Paraná - UNESPAR (26°13'12.8'S e 51°07'50.9''W). A captura foi realizada utilizando redes de neblina, distribuídas em pontos estratégicos, em seguida, os animais foram levados vivos ao laboratório de pesquisa do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Paraná, *Campus* de União da Vitória, identificados, protocolados com número, sexo e origem. A pesquisa é amparada pelas seguintes autorizações de coleta para finalidade científica: Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) N° 87088-1 e Comissão de Ética no Uso de Animais (Processo CEUA 2023/008) da Universidade Estadual do Paraná.

Figura 1. Espécie *Sturnira lilium* (É. Geoffroy, 1810), sendo seu nome popular Morcego-fruteiro.



Fonte: a autora

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.3.1 Preparações cromossômicas (Ford; Hamerton, 1956)

1. Injetar na cavidade abdominal do animal 0,2 ml de solução de levedura glicosilada para cada 25g de peso corporal;
2. Após 24 horas injetar na cavidade abdominal do animal 0,2 ml de solução de colchicina 0,5% para cada 25g de peso corporal, deixando agir por 40 minutos a 8 horas;
3. Eutanasiar o animal com isoflurano e dissecá-lo, retirando os úmeros;
4. Realizar a hipotonização com cloreto de potássio (KCl) 0,075M em estufa a 37 °C por 40 minutos;
5. Proceder a pré-fixação com 10 gotas de fixador Carnoy (3 metanol : 1 ácido acético);
6. Após centrifugar à 1300 rpm por 8 minutos, descartar o sobrenadante e adicionar 6 mL de fixador Carnoy;
7. Ressuspender levemente e centrifugar novamente por 8 minutos a 1300 rpm;
8. Repetir os itens 6 e 7 por duas vezes. Após a última centrifugação e descarte do sobrenadante, acondicionar o material em microtubos e armazenar em freezer -20 °C;

4.3.2 Detecção de Heterocromatina Constitutiva (bandas-CBG) (Sumner, 1972)

1. Lavar as lâminas contendo o material celular em ácido clorídrico 0,2M a 37°C durante 15 minutos e, em seguida, lavar com água destilada;
2. Incubar as lâminas em solução de hidróxido de bário a 5%, recém preparada e filtrada, a 25°C, durante 2 minutos;
3. Mergulhar as lâminas em solução de ácido clorídrico 0,2M, lavando-as em seguida com água destilada;
4. Incubar em solução salina 2xSSC, a 50°C, durante 30 minutos;
5. Corar com solução de Giemsa a 5%, em tampão fosfato com pH de 6,8 durante 15 minutos.

4.3.3 Dupla coloração Cromomicina A3/DAPI (Schweizer, 1980)

1. Colocar 50 µL de solução de Cromomicina A3 (CMA3) (0,5 mg/mL) sobre cada lâmina, cobrir com uma lamínula e deixar por 3 horas em câmara escura gelada;
2. Em seguida escorrer a lamínula e lavar a lâmina com água, secando levemente;
3. Adicionar 50 µL de solução DAPI/Antifading 2 µg/mL sobre cada lâmina, cobrir com uma lamínula e deixar por 1 dia em câmara escura gelada antes de analisar.

4.3.4 Detecção das Regiões Organizadoras de Nucléolo (Howell; Black, 1980)

1. Sobre as preparações cromossômicas, coloca-se 2 gotas de solução de gelatina acidificada (1%) e 4 gotas de solução aquosa de nitrato de prata – AgNO₃ (50%), misturando levemente com a lamínula;
2. Cobre-se a lâmina com uma lamínula (60x20mm), mantendo-a em estufa/banho-maria a 60°C, sendo o tempo necessário para que os cromossomos e núcleos apresentassem uma coloração marrom dourada e presença de micro bolhas;
3. Posteriormente remove-se a lamínula com um jato de água destilada, e a lâmina será deixada secando ao ar.

4.3.5 Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH) (Pinkel, Straume; Gray,1986)

As sondas do rDNA 18S foram marcadas com digoxigenina por nick translation de acordo com as instruções do fabricante (Roche Applied Science). A detecção e amplificação dos sinais de hibridização foram realizadas usando o anticorpo anti-digoxigenina conjugado com rodamina (Roche Applied Science). Os cromossomos foram contracorados com DAPI e

analisados usando o software de captura de imagem digital ZEN acoplado a um microscópio Carl Zeiss AxioLab A1.

4.3.6 Análises Cromossômicas

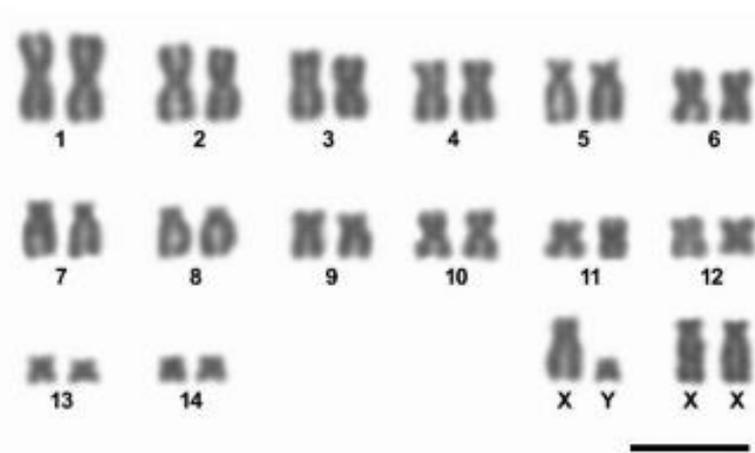
As preparações foram analisadas em microscópio óptico comum. As contagens cromossômicas e observações mais detalhadas foram fotografadas em microscópio de campo claro e epifluorescência Carl Zeiss AxioLab A1 acoplado à câmera CCD AxioCam ICc 1 de 1,4 megapixel capturadas através do software ZEN. A montagem cariotípica foi realizada através do software Photoshop® 7.0. A classificação cromossômica utilizada será a proposta por Green; Sessions (1991) baseada na relação de braços cromossômicos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A coloração convencional mostrou que a espécie apresenta $2n=30$ cromossomos. O complemento autossômico é constituído por 10 pares cromossomos metacêntricos (1–4, 6, 10–14), dois pares de submetacêntricos (5 e 9) e dois pares de subtlocêntricos (7 e 8), totalizando assim $NF = 60$. O cromossomo X é um subtlocêntrico de tamanho médio e o Y é um pequeno metacêntrico (Figura 2). Tal estrutura cariotípica é similar à de outras populações já estudadas, mas com pequenas diferenças na morfologia de alguns pares, reflexo de reposicionamentos centrômeros ocorrendo em diferentes populações. Os morcegos da família Phyllostomidae possuem $2n$ entre 14 e 46, enquanto o número de braços cromossômicos NF varia de 20 a 60. A estrutura cariotípica de maior frequência é o $2n=32$ e $NF=56$. (Baker, 1970).

O cariótipo ancestral proposto para a família tem um $2n = 46$, $NF = 60$, e apenas a espécie *Macrotus waterhousii* manteve esse suposto estado ancestral (Patton; Baker, 1978; Baker, 1979). A maioria das subfamílias, por outro lado, tem um cariótipo altamente derivado. Portanto, é proposto que a evolução cariotípica entre os filostomídeos pode ter levado a uma redução dos números diploides através de eventos de fusão cêntrica (Baker, 1973), levando à redução do número diploide, mas o NF permanece o mesmo. As translocações são fenômenos comuns na evolução cromossômica dos mamíferos, particularmente as Robertsonianas, que levam à formação de cromossomos com dois braços (meta-submetacêntricos ou subtlocêntricos) a partir da fusão cêntrica de dois elementos acrocêntricos. A atuação desse tipo de translocação pode ser observada em toda a ordem Chiroptera, particularmente na família Phyllostomidae, que é intensamente estudada sob o enfoque citogenético. Quanto aos cromossomos sexuais, Tucker (1986) descreveu o mecanismo sexual das espécies dos gêneros *Vampyrops* (*Platyrrhinus*), *Chiroderma*, *Sturnira*, *Uroderma* e *Vampyressa* como do tipo Neo-XY. Este sistema composto teria sido derivado de fusão entre os cromossomos Y1 e Y2 (sistema múltiplo) resultando na formação de um Y metacêntrico.

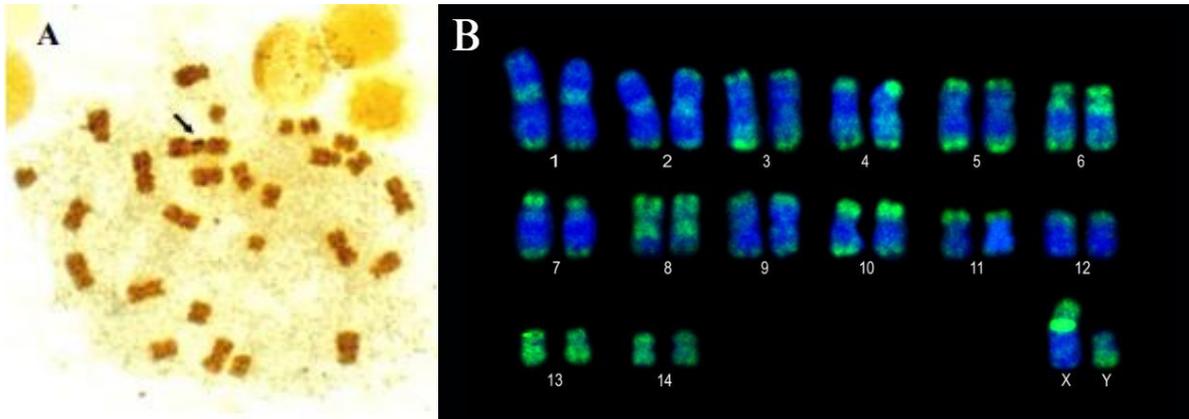
Figura 2. Cariótipo de *Sturnira lilium* em coloração convencional com giemsa, evidenciando os cromossomos sexuais de exemplares macho e fêmea. Barra = 10 µm.



Fonte: a autora

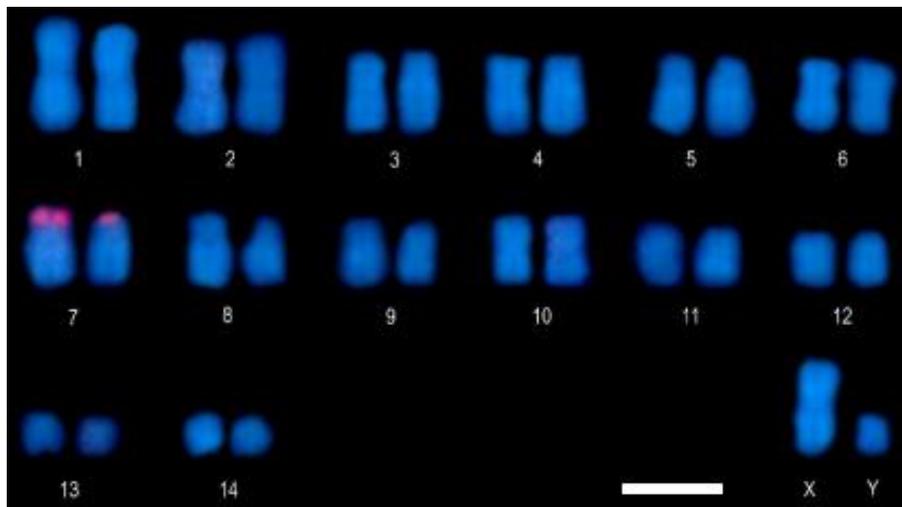
A coloração com nitrato de prata mapeou o rDNA 45S em *S. lilium*, localizando as Regiões Organizadoras de Nucléolo (RONs) na região terminal do braço curto do par 7, se apresentando geralmente associadas (Figura 3A). RONS simples (apenas um par portador) representam uma condição ancestral não só para a família Phyllostomidae, mas para vertebrados como um todo. O número e a localização dessa família multigênica foram confirmados pela hibridização fluorescente *in situ* (FISH), independente da sua expressão gênica (Figura 4). Além disso, a correspondência entre as regiões CMA3 positivas e os sítios marcados pelo nitrato de prata (Figura 3B) indicou uma predominância de bases GC, características comumente presentes nas regiões intergênicas das RONS (Santos *et al.*, 2002; Leite-Silva *et al.*, 2003). No entanto, há relatos de casos em que essas regiões podem ser ricas em bases AT ou não apresentarem nenhuma riqueza específica (Amemiya; Gold, 1986).

Figura 3. Metáfases de *Sturnira lilium* submetidas a: (A) coloração com nitrato de prata, a seta indica o par 7 associado pela região das RONS; (B) dupla coloração com CMA3/DAPI: regiões ricas em pares de base AT (azuis) e regiões ricas em GC (verdes). Em destaque o par 7 e a composição molecular do locus do rDNA 45S (setas).



Fonte: a autora

Figura 4. Hibridização fluorescente *in situ* com uma sonda de rDNA 18S, mapeando os genes ribossômicos no par 7. Barra = 10 μ m.

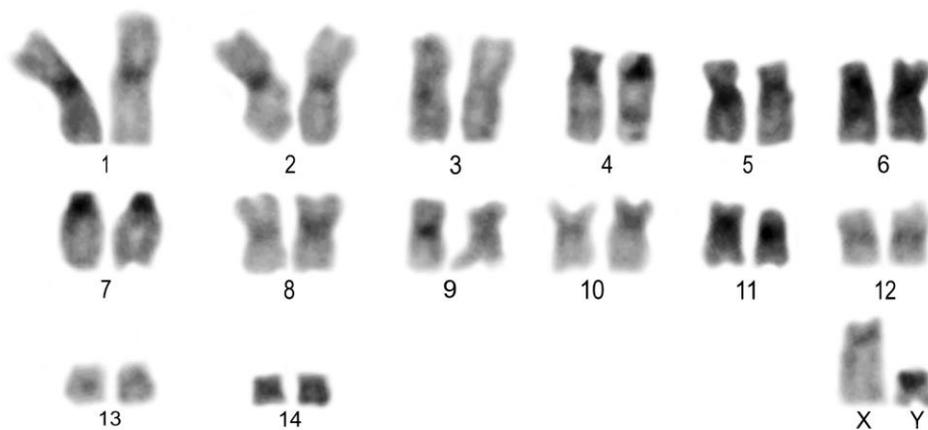


Fonte: a autora

A técnica de bandamento C, conforme destacado por Noletto (2009), revela padrões distintos de heterocromatina, auxiliando na identificação de marcadores cromossômicos importantes. Essas heterocromatinas correspondem às regiões de cromatina mais condensada, cuja composição de bases pode ser evidenciada por fluorocromos. Bandas heterocromáticas foram evidenciadas em *S. lilium* (Figura 5) nas seguintes regiões: (1) centrômero e suas proximidades de todos os cromossomos; (2) intersticial no braço longo do par 4; (3) locus do rDNA 45S (par 7). A dupla coloração CMA3/DAPI evidenciou blocos GC⁺ em regiões

teloméricas da maioria dos cromossomos, na região pericentromérica do cromossomo X, e coincidente com as Regiões Organizadoras de Nucléolo (par 7) (Figura 3B).

Figura 5. Cariótipo da espécie *Sturnira lilium* submetido à técnica de bandamento C.



Fonte: a autora

Em morcegos, a coloração com fluorocromos geralmente induz um padrão de bandamento da eucromatina e tem revelado uma composição diferencial da heterocromatina (Pieczarka *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2002; Schmid *et al.*, 2002; Leite-Silva *et al.*, 2003; Frehner-Kavalco *et al.*, 2004). O grande bloco CMA3 positivo na região pericentromérica do cromossomo X em *S. lilium*, indicando uma heterocromatina diferencial, que pode ser considerada como um marcador cariotípico para essa espécie. Este marcador cromossômico representa uma característica de alguns representantes de Stenodermatinae, particularmente do gênero *Artibeus* (Santos; Souza, 1998; Santos *et al.*, 2002). A dupla coloração CMA3/DAPI evidencia padrões de bandas R (ricas em GC) com a CMA3, revelando uma coloração uniforme ao longo dos cromossomos ou um fraco padrão de bandas G (ricas em AT) com o DAPI (Ruedas *et al.*, 1990; Santos; Souza, 1998). As respostas diferenciais aos fluorocromos base-preferenciais CMA3 e DAPI obtidas em *S. lilium* confirmam a heterogeneidade da heterocromatina quanto à sua composição nesse representante de Phyllostomidae.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A estrutura cariotípica de *Sturnira lilium* de uma população no centro-sul do Paraná apresentou semelhanças com outras populações, incluindo o número e a localização dos genes ribossômicos 45S, além do sistema de cromossomos sexuais XX/XY. A dupla coloração CMA3/DAPI revelou, entre outros sítios cromossômicos, um bloco rico em GC no cromossomo X, o qual representa um bom marcador para esta espécie. Isto vem de encontro a contribuir na resolução de lacunas taxonômicas, as quais têm colocado *Sturnira lilium* como um possível complexo de espécies.

Há muito a se pesquisar ainda sobre o gênero *Sturnira*. O mapeamento de sequências repetitivas de DNA pode ser útil para explorar uma diversidade críptica, especialmente entre grupos que parecem compartilhar uma macroestrutura cariotípica preservada, fornecendo um número maior de informações, que vêm contrariar a ideia de cariótipos conservados. Detalhadas descrições de novas variações cromossômicas geográficas permitem dar coesão às interpretações sobre a evolução cromossômica e estabelecer hipóteses sobre a mesma. Portanto, quantos mais dados disponíveis, os eventos cromossômicos envolvidos na modelagem dos cariótipos atuais serão melhor compreendidos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADOR, Lucila. I.; ARÉVALO, R. Leticia Moyer; ALMEIDA, Francisca C.; CATALANO, Santiago A.; GIANNINI, Norberto P. Bat systematics in the light of unconstrained analyses of a comprehensive molecular supermatrix. **Journal of Mammalian Evolution**, v. 25, n. 1, p. 37-70, 2018.

AMEMIYA, Chris T.; GOLD, John R. Chromomycin A 3 stains nucleolus organizer regions of fish chromosomes. **Copeia**, v. 1986, n. 1, p. 226-231, 1986.

BAKER, Robert J.; HSU T. C. Further studies on the sex-chromosome systems of the American leaf-nosed bats (Chiroptera, Phyllostomatidae). **Cytogenetic and Genome Research**, v. 9, n. 2, p. 131-138, 1970.

BAKER, Robert J. Comparative cytogenetics of the New World leaf-nosed bats (Phyllostomatidae). **Periodicum Biologorum**, v. 75, n. 1, p. 37-45, 1973.

BAKER, Robert J.; Karyology. *In: Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae*; Part, III; Baker, R.J., Jones, J.K., Carter, D.C., Eds.; Special Publications; The Museum: Lubbock, TX, USA, pp. 107–155. 1979.

BAKER, Robert J.; BICKHAM, John W. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. **Systematic Biology**, v. 29, n. 3, p. 239-253, 1980.

BARROS, Helen Maria do Rêgo. **Análise cariotípica em *Lonchorhina aurita* e *Trachops cirrhosus* (Chiroptera: Phyllostomidae) usando diferentes técnicas citogenéticas**. Orientadora: Maria José de Souza Lopes. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2006.

BEÇAK, M. L.; BATISTIC, R. F.; VIZOTTO, L. D.; BEÇAK, W. Sex determining mechanism XY1 Y2 in *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae). **Experientia**, v. 25, p. 81-83, 1969.

CALIXTO, Merilane Silva. **Análise Citogenética Comparativa entre *Glossophaga soricina*, *Platyrrhinus lineatus* e *Sturnira lilium* (Phyllostomidae, Chiroptera).** Orientadora: Maria José de Souza Lopes. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2008.

FENTON, M. B. Bats. New York: Facts on File. **Inc.(265)**, 1992.

FENTON, M. B; ACHARIA, L.; HICKEY, M. B. C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M. K.; SYME, D. M. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the Neotropics. **Biotropica**, Washington, v. 24, n. 3, p. 440-446, 1992.

FERGUSON-SMITH, Malcolm A.; TRIFONOV, Vladimir. Mammalian karyotype evolution. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 12, p. 950-962, 2007.

FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicine hypotonic citrate squash sequence for Mammalian chromosomes. **Stain technology**, v. 31, p. 247-251, 1956.

FREHNER KAVALCO, Karine; PAZZA, R.; BERTOLLO, Antonio Carlos Lima; MOREIRA-FILHO, O. Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes). **Hereditas**, 141, 237--242. 2004.

GARCÍA-RESTREPO, Sebastián; AMÓRTEGUI-HERNÁNDEZ, Daniela; ARENAS, Camilo; CARRASQUILLA FERRO, Maria Cristina; GONZÁLEZ, Camila. Geographic distribution extension of *Anoura cadenai* and comments on *Sturnira giannae* distribution in Colombia. **Therya Notes**, v. 4, p. 105-113, 2023.

GARBINO, Guilherme S. T.; GREGORIN, Renato; LIMA, Issac P.; LOUREIRO, Livia O.; MORAS Ligiane M.; MORATELLI, Ricardo; NOGUEIRA, Marcelo R.; PAVAN, Ana Carolina; TAVARES, Valéria da C.; NASCIMENTO, Maria Clara; NOVAES, Roberto Leonan M.; PERACCHI, Adriano L. **Updated checklist of Brazilian bats: versão 2020.** Comitê da Lista de Morcegos do Brasil—CLMB. Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (Sbeq), 2022.

GARDNER, A. L.; CREIGHTON, G. K. Genus *Micoureus* Lesson, 1842: 74-82 (in) GARDNER, AL (ed.) **Mammals of South America**. Volume 1. Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats. 2008.

GIL, Antônio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. Editora Atlas SA, 2002.

GREEN, David. M.; SESSIONS, Stanley K. Amphibian Cytogenetics and Evolution. **Academic Press**, v. 1, p. 431-432, 1991.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v. 36, n. 8, p. 1014-1015, 1980.

KASAHARA, Sanae. Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados. **Sociedade Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, p. 160, 2009.

KOOPMAN, Karl F. Chiroptera: systematics. **Handbook of zoology**, p. 1-217, 1994.

LEITE-SILVA, Cleide; SANTOS, Neide; FAGUNDES, Valéria; YONENAGA-YASSUDA, Yatiyo; SOUZA, Maria José. Karyotypic characterization of the bat species *Molossus ater*, *M. molossus* and *Molossops planirostris* (Chiroptera, Molossidae) using FISH and banding techniques. **Hereditas**, 138:94-100. 2003.

MAMMAL DIVERSITY. Disponível em: <https://www.mammaldiversity.org/>. Acessado em 30 de setembro de 2024.

MARINHO-FILHO, Jader; VASCONCELLOS-NETO, João. Dispersão de sementes de *Vismia cayennensis* (Jacq.) Pers.(Guttiferae) por morcegos na região de Manaus, Amazonas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 8, p. 87-96, 1994.

NEUWEILER, Gerhard. **The biology of bats**. Oxford University Press, USA, 2000.

NOGUEIRA, M. R.; POL, A.; PERACCHI, A. L. New records of bats from Brazil with a list of additional species for the chiropteran fauna of the state of Acre, western Amazon basin. **Mammalia**, v. 63, n. 3, p. 363-367, 1999.

NOLETO, Rafael Bueno. **Cariótipo e mapeamento cromossômico de sequências repetitivas em peixes marinhos com ênfase em Tetraodontiformes do litoral paranaense**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Genética) – Programa de Pós-Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

NOWAK, Ronald M. Walker's bats of the world Johns Hopkins University Press. **Baltimore**. pp, 1994.

PASSOS, Fernando C.; MIRANDA, J. M. D.; BERNARDI, Itiberê P.; KAKU-OLIVEIRA, Nathalia Y.; MUNSTER, Luana C. Morcegos da Região Sul do Brasil: análise comparativa da riqueza de espécies, novos registros e atualizações nomenclaturais (Mammalia, Chiroptera). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 100, p. 25-34, 2010.

PATTON, John C.; BAKER, Robert J. Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoid bats. **Systematic Zoology**, v. 27, n. 4, p. 449-462, 1978.

PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y.; MUNIZ, J. A.; BARROS, R. M.; MATTEVI, M. S. Restriction enzyme and fluorochrome banding analysis of the constitutive heterochromatin of *Saguinus* species (Callitrichidae, Primates). **Cytobios**, v. 105, n. 408, p. 13-26, 2001.

PILATASIG, Ana Lucía. Primer reporte del parasitismo de *Ixodes luciae* Sénevet, 1940 (Acari: Ixodidae) sobre dos especies de murciélagos *Sturnira giannae* y *Glossophaga soricina* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Revista Argentina de Parasitología**, v. 11, 2022.

PINKEL, Daniel; STRAUME, Tore; GRAY, Joe W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 9, p. 2934-2938, 1986.

REIS, Nélio Roberto dos; PERACCHI, Adriano Lúcio; SEKIAMA, Margareth Lumy; LIMA, Isaac Passos de. Diversidade de morcegos (Chiroptera, Mammalia) em fragmentos florestais no estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, p. 697-704, 2000.

REIS, Nélio Roberto dos; PERACCHI, Antonio L.; PEDRO, Walther A.; DE LIMA, Igor P. **Morcegos do Brasil**. Londrina, 2007.

REIS, Nélio Roberto dos; PERACCHI, Adriano Lúcio; BATISTA, Carolina Blefari; DE LIMA, Isaac Passos; PEREIRA, Alan Deivid. **História natural dos morcegos brasileiros: chave de identificação de espécies**. Technical Books Editora, 2017.

RUEDAS, Luis A.; LEE, Thomas E.; BICKHAM, John W.; SCHLITTER, Duane A. Chromosomes of five species of vespertilionid bats from Africa. **Journal of Mammalogy**, v. 71, n. 1, p. 94-100, 1990.

SANTOS, Adriano Silva dos; FARIA, Karina de Cassia. Criaturas noturnas: investigando os cromossomos e a diversidade de morcegos no Brasil. **Genética na Escola**, v. 19, n. 1, p. 15-23, Sociedade Brasileira de Genética. 2024.

SANTOS, Neide; DE SOUZA, Maria José. Use of fluorochromes chromomycin A3 and DAPI to study constitutive heterochromatin and NORs in four species of bats (Phyllostomidae). **Caryologia**, v. 51, n. 3-4, p. 265-278, 1998.

SANTOS, Neide; FAGUNDES, Valéria; YONENAGA-YASSUDA, Yatiyo; SOUZA, Maria José. Localization of rRNA genes in Phyllostomidae bats reveals silent NORs in *Artibeus cinereus*. **Hereditas**, v. 136, n. 2, p. 137-143, 2002.

SCHMID, M.; HAAF, T.; STEINLEIN, C.; NANDA, I.; MAHONY, M. Chromosome banding in Amphibia XXV. Karyotype evolution and heterochromatin characterization in Australian Mixophyes (Anura, Myobatrachidae). **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 97, n. 3-4, p. 239-253, 2002.

SCHWEIZER, D. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 27, n. 2-3, p. 190-193, 1980.

SIGRIST, Tomas. **Mamíferos do Brasil: uma visão artística**. Avisbrasilis Editora, 2012.

SIMMONS, Nancy B.; VOSS, Robert S. **mammals of Paracou, French Guiana, a neotropical lowland rainforest fauna**. 1998.

SILVA, João Carlos Farias Santana da. **Caracterização genética de *Tonatia bidens* (Chiroptera: Phyllostomidae)**. Orientadora: Neide Santos. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2020.

SOTERO-CAIO, Cibele Gomes. **Estudo Cromossômico em Morcegos Hematófagos: Zoo-FISH com Sondas Cromossômicas de *Carollia brevicauda* e *Phyllostomus hastatus* (Phyllostomidae - Chiroptera)**. Orientador: Neide Santos. Dissertação (Mestrado em genética) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2008.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental cell research**, v. 75, n. 1, p. 304-306, 1972.

TOLEDO, L. A. **Estudos citogenéticos em morcegos brasileiros (Mammalia Chiroptera)**. Doctorship Thesis, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, USP, Botucatu, São Paulo, Brasil, 90pp, 1973.

TUCKER, P. K. Sex chromosome-autosome translocations in the leaf-nosed bats, family Phyllostomidae: I. Mitotic analyses of the subfamilies Stenodermatinae and Phyllostominae. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 43, n. 1-2, p. 19-27, 1986.

TAVOLONI, Patrícia. Diversidade e frugivoria de morcegos filostomídeos (Chiroptera, Phyllostomidae) em habitats secundários e plantios de *Pinus* spp., no município de Anhembi-SP. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 2, 2006.

VARELLA-GARCIA, Marileila; TADDEI, Valdir Antonio. Citogenética de Quirópteros: Métodos e Aplicações. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 6, n. 2, p. 297-323, 1989.

VELAZCO, Paúl M.; PATTERSON, Bruce D. Two new species of yellow-shouldered bats, genus *Sturnira* Gray, 1842 (Chiroptera, Phyllostomidae) from Costa Rica, Panama and western Ecuador. **ZooKeys**, n. 402, p. 43, 2014.

VIEIRA, Milene Faria; DE CARVALHO-OKANO, Rita M. Pollination biology of *Mabea fistulifera* (Euphorbiaceae) in southeastern Brazil. **Biotropica**, p. 61-68, 1996.

YALDEN, D. W.; MORRIS, P. A. **The lives of bats**. London: Red Wood Burn, 1975. 247 p.

YONENAGA, Yatiyo; FROTA-PESSOA, Oswaldo; LEWIS, Kenneth R. Karyotypes of seven species of Brazilian bats. **Caryologia**, v. 22, n. 1, p. 63-79, 1969.