

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**IMPLICAÇÕES DA DIVERSIDADE GENÉTICA NA
TAXONOMIA DE *Myotis nigricans* (CHIROPTERA:
VESPERTILIONIDAE)**

João Felipe Moreira de Souza

Vitória, ES
Fevereiro, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**IMPLICAÇÕES DA DIVERSIDADE GENÉTICA NA
TAXONOMIA DE *Myotis nigricans* (CHIROPTERA:
VESPERTILIONIDAE)**

João Felipe Moreira de Souza

Orientadora: Sarah Maria Vargas

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal.

Vitória, ES
Fevereiro, 2018

Implicações da diversidade genética na taxonomia de *Myotis nigricans* (Chiroptera: Vespertilionidae)

João F. M. de Souza*¹; Sarah M. Vargas¹; Bruna S. Fonseca¹; Albert D. Ditchfield¹

Universidade Federal do Espírito Santo, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

*correspondente: joaofelipe15@hotmail.com

Resumo

Estudos de complexos de espécies crípticas tem grande importância para a biologia evolutiva, pois permitem uma estimativa mais precisa da diversidade biológica assim como auxiliam que os dados biológicos, como ecologia e comportamento, sejam atribuídos à entidade biológica correta. A identificação de espécies crípticas também permite estudos sobre partição e compartilhamento de nichos nestes grupos. Historicamente, dentre as espécies de morcegos, *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) apresenta várias incertezas taxonômicas devido a muitos exemplares sul-americanos do gênero *Myotis* terem sido por muito tempo mal identificados, usualmente como *M. nigricans*, devido a problemas por chaves de identificação pouco precisas. Este problema na identificação dos indivíduos dificultou a determinação da distribuição geográfica dessa espécie, além da determinação dos limites entre as espécies do gênero. Pesquisas recentes têm mostrado que a abordagem molecular pode ser uma ferramenta poderosa na identificação de linhagens não reconhecidas pela taxonomia tradicional. Diante do cenário descrito, este estudo tem o intuito de determinar a diversidade genética de exemplares de morcegos identificados como *M. nigricans* e inferir as relações filogenéticas intraespecíficas de modo a auxiliar na resolução da identidade taxonômica dessa espécie. Para tal, foram obtidas e utilizadas sequências do marcador molecular mitocondrial *Cytochrome c oxidase 1* (COI). Este estudo irá auxiliar na estimativa da diversidade genética, na compreensão da estrutura genética do grupo na América do Sul, assim como na classificação taxonômica da espécie em estudo.

Palavras chave: Filogeografia, Taxonomia, *Myotis*, Vespertilionidae, Diversidade genética

AGRADECIMENTOS

Diversas pessoas devem aqui serem lembradas, sejam aquelas cujo apoio foi psicológico, físico, com estudos ou materiais, alguns da família, outros amigos e até mesmo vários colegas de faculdade, tentarei lembrar de todos e daqueles que não lembrar saibam que sua importância foi de grande valia seja ela qual tenha sido, são eles:

Primeiramente à minha mãe por tudo que ela fez por mim, por ter me dado forças durante meus momentos mais difíceis, por nunca ter deixado de me apoiar e incentivar a realizar meus sonhos. Infelizmente, ela não pode acompanhar todo o meu caminho acadêmico, mas tenho certeza que onde quer que ela esteja neste momento ela estará orgulhosa e feliz por este momento.

À minha vó, Emilia Gomes, que por 15 anos morou comigo, cuidou de mim, assim como muitos dizem foi minha mãe duas vezes. E agora, depois de anos morando longe dela, ela me acolheu novamente, e tem me dado força e sido compreensiva por todos os momentos que tenho passado.

À Amanda Kirmse, minha namorada, companheira, amiga, confidente, conselheira e noiva. Sem sua ajuda não teria conquistado muitas coisas, e serei grato a suas ajudas desde o ensino fundamental, com trabalhos, provas, na faculdade e agora no mestrado por me incentivar, não deixar de estudar e dar o meu melhor em todos os momentos.

À Dr^a Sarah Maria Vargas, que aceitou minha orientação durante a graduação e topou continuar durante o mestrado. Sou extremamente grato a todo o apoio e dedicação que tem comigo e com os demais alunos, sei que nem sempre pode ajudar da melhor forma seja devido ao tempo corrido ou a não conhecer algo específico, mas sempre mostrou “o caminho das pedras” para que pudemos traçar o caminho certo.

Ao Dr^o Albert David Ditchfield, coorientador e inspirador pelos morcegos, por ter sido um excelente professor durante a graduação e a pós, todos seus ensinamentos foram essenciais para a minha formação, e espero poder aprender muito mais em breve. Também agradeço por ter sido parte das amostras que puderam tornar este trabalho viável, além das contribuições intelectuais para discussão do trabalho.

À Bruna Fonseca, que foi minha coorientadora na graduação, professora, mestre e amiga, saiba que todos os seus ensinamentos, e puxões de orelha ajudaram e serão lembrados para sempre.

Ao Dr^o Ricardo Moratelli, por sua inestimável contribuição ao grupo de estudo, por toda sua dedicação com os morcegos e com a Sociedade Brasileira de Quirópteros nos últimos anos, a qual foi presidente. Também agradeço imensamente por ter aceitado participar da banca, sua contribuição sempre será apreciada.

Ao Dr^o Yuri Luiz Leite, primeiramente por ter aceitado participar da banca, sua escolha foi primordial dado suas grandes contribuições na minha formação durante a Graduação e durante o Mestrado, sou eternamente grato por tudo.

Aos professores da UFES/PPGBAN, que foram de extrema importância para minha formação, e em especial para alguns professores que são excelentes profissionais, cujo empenho e dedicação ao trabalho inspiram-nos, alguns nomes se destacaram dentre estes Yuri Leite, Albert Ditchfield, Roberta Paresque, Frederico Falcão, Valéria Fagunes, entre outros.

Ao NGACB, Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade, por ter fornecido o espaço físico e materiais para realização de meu trabalho.

À Juliana Justino, técnica do NGACB, por sempre se dedicar a este, e estar disposta a ajudar os membros e alunos do mesmo.

À toda minha família, por estarem presentes e terem ajudado nos momentos mais difíceis. Em especial, aos meus tios que sempre foram quase como meus pais e terem sido exemplos de pessoas de caráter a serem seguidos.

Em especial, à minha tia Marlene, minha segunda mãe, que abria suas portas para passar as férias de fim de ano quase todos os anos, por ter sido sempre companheira, amiga, conselheira, e tudo mais. Nunca esquecerei de tudo o que fez por mim, por minha mãe e meu irmão.

À outros amigos que passaram e se foram, outros que voltaram, alguns distantes e outros próximos que mesmo pouco, mas ajudaram de alguma forma durante meu trajeto de vida.

Todos vocês citados são pessoas especiais em minha vida, e sempre serão lembrados por mim.

Além disso agradeço a CAPES por ter financiado minha formação durante o Mestrado, as contribuições das empresas de fomento são de fundamental importância para a continuidade da formação acadêmica de diversos alunos do Brasil inteiro e o comprometimento da CAPES com os mesmos foi sempre excelente.

1. Introdução

A resolução de complexos de espécies minimamente diferentes tem importância para biologia evolutiva, pois evita a subestimativa da diversidade biológica e permite compreender a ecologia e comportamento de espécies de uma forma em que o comportamento e demais dados biológicos são atribuídos a uma entidade biológica correta (MAYR, 1970). A identificação de espécies crípticas permite atrair atenção a grupos de espécies que são morfologicamente muito semelhantes, levantando a questão de como ocorre o compartilhamento de nicho neste grupo (PARIS *et al.*, 1989).

O gênero *Myotis* Kaup, 1829 possui revisões taxonômicas, incluindo as espécies sul-americanas, publicadas por Miller e Allen (1928), LaVal (1973) e, mais recentemente, por Wilson (2008). Dentre as espécies deste gênero, a espécie *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) possui incertezas taxonômicas originadas há muitos anos. LaVal (1973), em sua revisão das espécies neotropicais do gênero *Myotis*, salientou que muitos exemplares dessa região foram mal identificados, usualmente como *Myotis nigricans*. Este problema na identificação dos indivíduos tornou difícil a determinação da real distribuição geográfica da espécie em questão, além da determinação dos limites entre as espécies.

Desse modo, novos trabalhos têm sido realizados a fim de compreender melhor os limites entre as espécies, além das suas respectivas distribuições geográficas. Moratelli *et al.* (2011), após descreverem duas novas espécies a partir do complexo de espécies *M. nigricans*, sugeriram que esta espécie ainda possa compreender à um complexo. Em outro estudo, Moratelli *et al.* (2013) corroborou sua hipótese descrevendo uma nova espécie, *M. izecksohni*, com ocorrência na região sul da Mata Atlântica, a partir do complexo de espécies *M. nigricans*, porém acreditando que novas espécies crípticas ainda devem ser investigadas e descritas a partir deste complexo.

Pesquisas recentes têm mostrado que a abordagem molecular é uma poderosa ferramenta no reconhecimento de clados que podem ter escapado do reconhecimento pela taxonomia tradicional devido a sua convergência morfológica e na resolução de relações filogenéticas (YU *et al.*, 2000; LARSEN *et al.*, 2012; TEELING *et al.*, 2005). Dois exemplos podem ser citados com espécies de morcegos, o primeiro em *Carollia*, que é um gênero de difícil diferenciação morfológica (PINE, 1972; MCLELLAN, 1984) e que há alguns anos compreendia apenas quatro espécies. Com a implementação de ferramentas moleculares, cinco espécies adicionais foram descritas, utilizando a morfologia como dado secundário em sua diferenciação (SOLARI & BAKER, 2006). No segundo exemplo, análises moleculares revelaram que *Pipistrellus pipistrellus* consiste em duas espécies biológicas crípticas, que podem ser diferenciadas por chamadas de ecolocalização e caracteres externos sutis (BARRATT *et al.*, 1997; HAUSSLER *et*

al., 2000). *Myotis nigricans* pode ser considerado um terceiro exemplo, visto que algumas espécies já foram descritas utilizando morfologia, porém as divergências genéticas entre exemplares indicam que ainda podem haver mais espécies crípticas.

Em 2011, Moratelli *et al.* descreveram duas novas espécies com ocorrência na região da Mata Atlântica, sendo estas *M. lavalii* e *M. izecksohni*. Os espécimes identificados destas novas espécies haviam sido previamente identificados como *M. nigricans*. *Myotis lavalii* foi descrito a partir de espécimes capturados em localidades no nordeste do Brasil em regiões de Caatinga, sendo possivelmente restrito ao nordeste brasileiro (MORATELLI *et al.*, 2011). Já para *M. izecksohni*, a descrição ocorreu a partir de espécimes do Rio de Janeiro e Paraná em localidades de Mata Atlântica com altitude entre 760m e 1000m, sendo que, segundo o autor, as elevadas altitudes seriam características da espécie. Entretanto, para essa última espécie espera-se a ocorrência em outras localidades no sul e sudeste do Brasil, assim como Uruguai (MORATELLI *et al.*, 2011).

Muitos estudos mostram que a diversidade de Chiroptera é maior no Neotrópico, onde linhagens tradicionalmente reconhecidas na América do Sul possuem mais de 5% de divergência entre espécies, enquanto para a América do Norte estes valores são tipicamente menores que 2% (SIMMONS, 2005; LIM, 2009, CLARE *et al.*, 2007). Análises de diversas espécies do gênero *Myotis*, a partir de dados genéticos, evidenciaram que *M. nigricans* não representa um grupo monofilético e que possui pelo menos 12 linhagens com divergência acima de 5%, podendo representar espécies distintas e, levanta a hipótese de que a espécie *M. nigricans* estaria restrita a uma região menor, especificamente ao sudeste do Brasil (LARSEN *et al.*, 2012).

Diante do cenário descrito, este estudo teve o intuito de entender as relações filogenéticas intraespecíficas, a diversidade e estrutura genética do morcego *Myotis nigricans* e compreender como estas influenciam na resolução da identidade taxonômica da espécie.

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostragem

As amostras de DNA foram obtidas a partir de tecidos hepático ou muscular de espécimes previamente identificados como *M. nigricans* depositadas no banco de tecidos do Laboratório de Estudos de Quirópteros (LABEQ) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), além de sequências depositadas no banco de dados genéticos Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Adicionalmente, foram analisadas sequências de algumas espécies conhecidamente próximas cuja relações filogenéticas são controversas, sendo estas *M. oxyotus*, *M. riparius* e *M. albescens*. (Tabela 1 e Tabela 4- Material Suplementar).

2.2. Obtenção das sequências

2.2.1. Extração do DNA

O DNA total foi extraído utilizando o protocolo descrito por Bruford *et al.* (1992), e para verificar as condições do DNA obtidas foram corados com corante Blue Green® (LGC Biotecnologia) e visualizados em gel de agarose 1% sob luz ultravioleta.

2.2.2. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi feita para o fragmento do gene mitocondrial citocromo c oxidase I (COI). O fragmento do gene COI foi amplificado utilizando o par de *primers* LCO 1490 e HCO 2198 (FOLMER *et al.*, 1994). A reação de PCR foi feita com mix de 15µl incluindo: 1 µL de DNA genômico (~40ng), 1X de tampão Tris-KCl (ThermoFisher), 2,5mM de MgCl₂ (ThermoFisher), 200µM de dNTP's, 0.4mM de cada primer e 0.7U de Taq DNA Polimerase (ThermoFisher). O perfil utilizado para a PCR, consistiu de 5 passos. 1- Desnaturação inicial da molécula de DNA, com temperatura de 94°C por 1 minuto. 2- Desnaturação, com temperatura de 94°C por 30 segundos. 3- Anelamento dos primers, com temperatura de 50°C por 40 segundos. 4- Extensão, com temperatura de 72°C por 1 minuto. Os passos 2, 3 e 4 foram repetidos em ciclo por 35 vezes. Após os 35 ciclos, as amostras ficaram por 1 minuto em 72°C, sendo este o passo 5- Extensão Final. Todos as etapas do protocolo de amplificação seguiram o Clare *et al.* (2007).

O sucesso da reação e verificação do tamanho dos produtos da PCR foram estimados utilizando gel de agarose 1% e marcador molecular de 1 Kb (Invitrogen, Inc.) e visualizados sob luz UV.

Para a purificação dos produtos de PCR foram utilizadas as enzimas do kit Exo-Sap-IT (USB-Corporation) a fim de eliminar potenciais inibidores do sequenciamento, como excesso de *primers*, dNTPs e outras possíveis impurezas.

2.2.3. Sequenciamento

As reações de sequenciamento foram realizadas em um sequenciador automático ABI 377 (Applied Biosystems), para todas as amostras nas direções “forward” utilizando-se o primer utilizado para amplificação do gene COI (LCO 1490).

Todos estes procedimentos foram realizados no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade (NGACB) da UFES.

2.3. Análise dos dados

2.3.1. Análises gerais

O programa MEGA (TAMURA *et al.*, 2013) foi utilizado para alinhar as sequências obtidas de cada indivíduo através do algoritmo Clustal W. Para cada sequência foi conduzida uma pesquisa comparativa de similaridade no GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) utilizando a ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a fim de se verificar a ocorrência de contaminação e checar se os fragmentos correspondem aos genes de interesse desta pesquisa.

Para a verificação do grau de saturação das bases nucleotídicas dentro das sequências foi usado o programa DAMBE de XIA & XIE (2001). O programa DnaSP 5.10 (LIBRADO & ROZAS, 2009) foi utilizado para gerar os haplótipos do DNA mitocondrial. Foram computados o número e frequência de haplótipos, diversidade haplotípica e nucleotídica.

2.3.2 Análises filogenéticas e populacionais

As análises filogenéticas foram realizadas por meio dos métodos Máxima Verossimilhança (MV) através da plataforma Cipres (phylo.org) (STAMATAKIS, 2014) e Inferência Bayesiana (IB) pelo programa Mr.Bayes 3.2 (RONQUIST *et al.*, 2012). Foram utilizados como grupos externos sequências das espécies *M. septentrionalis* e *M. ciliolabrum* (números de referência na Tabela 1 do Material suplementar). As árvores foram visualizadas e editadas através do programa FigTree v.1.3.1 (RAUMBAUT, 2007). As análises de distâncias genéticas dentro e entre grupos foram obtidas através do programa MEGA 6.0 (TAMURA *et al.*, 2013), utilizando *p-distance* e o modelo de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (KIMURA, 1980; TAMURA *et al.*, 2013).

3. Resultados

Inicialmente, a fim de avaliar como está distribuída a diversidade genética no gênero *Myotis* como um todo, foi realizado um cálculo de distância a partir de sequências de COI disponíveis no GenBank com 515 pares de base a partir de 621 espécimes representando 11 espécies (Tabela 1 e Tabela 4- Material suplementar). A análise mostrou que o grupo *M. nigricans* possui altos valores de distância intraespecíficas quando analisado como um todo (incluindo amostras do GenBank) alcançando valores de 8-8,9%, enquanto a média para as demais espécies ficou em torno de 2% (Tabela 2). Além disto, os grupos *M. riparius* e *M. volans* também apresentaram valores elevados, 7% e 4,5%, respectivamente, porém é reconhecida suas problemáticas taxonômicas e estão em processo de avaliação.

Após a primeira etapa de avaliação, foram selecionadas e analisadas sequências parciais de COI de 515pb de 192 indivíduos representando 4 espécies filogeneticamente próximas (*M. nigricans*, *M. riparius*, *M. albescens*, *M. oxyotus* – Tabelas 1 e 3) definindo 10 haplogrupos com suporte estatístico considerável, sendo que apenas *M. oxyotus* e *M. albescens* se mostraram monofiléticos (Figura 1).

As análises filogenéticas mostraram que os espécimes depositados como *M. nigricans* representam seis distintas linhagens (Figura 1). Dentre estas, três possuem grande sobreposição de distribuição geográfica, ocorrendo em diferentes localidades pelo sul da Mata Atlântica (Espírito Santo, São Paulo, Minas Gerais e Paraná), sendo que apenas uma possui distribuição também ao norte do Rio Doce (Bahia e Paraíba). A linhagem com distribuição mais ampla na região da Mata Atlântica foi referida como *M. nigricans* (M.A. Norte/Sul) e as demais, *M. cf. nigricans*. Assim como *M. nigricans*, o grupo *M. riparius* não apresenta monofiletismo, tendo duas linhagens distintas. Os grupos *M. oxyotus* e *M. albescens* mostraram-se monofiléticos.

Todas as linhagens possuem moderado ou forte suporte estatístico para análise de máxima verossimilhança (suporte alto para bootstrap $\geq 75\%$; moderado para bootstrap $50\% \geq e \leq 75\%$), entretanto alguns grupos não obtiveram suporte para inferência bayesiana (suporte alto para probabilidade posterior $\geq 95\%$).

Adicionalmente às reconstruções filogenéticas, os valores de distância genética reforçam o suporte às linhagens encontradas, dados os elevados valores de distância genética entre grupos (3,7-14,5%) e baixos dentro de cada um deles (0,0-3,1%) (Tabela 3). Estes dados demonstram uma forte coesão dentro de cada linhagem e os valores de divergência genética entre espécies estão dentro do previsto para quirópteros, cujas linhagens interespecíficas possuem em média 2% de divergência na América do Norte e 5% na América do Sul (LARSEN *et al.*, 2012).

4. Discussão

Os haplogrupos dos espécimes identificados como *Myotis nigricans* encontrados na Mata Atlântica possuem grande sobreposição de distribuição e estão restritos à região sudeste e sul do Brasil, com exceção de um único grupo, cuja distribuição se estende ao nordeste do Brasil, grupo este referido como *M. nigricans* no presente trabalho (Figura 1).

A existência de várias linhagens filogenéticas no complexo *M. nigricans*, sendo apenas uma linhagem com distribuição ampla e cinco com distribuição restrita, torna menos provável que tais diferenças genéticas entre as linhagens sejam relativas a variações populacionais apenas, e sim diferenças interespecíficas e é provável que não esteja ocorrendo fluxo gênico entre essas seis linhagens. Além disso, os valores de distância genética entre essas linhagens são altos a nível interespecífico (3,7%-14,3%), sendo que valores semelhantes são encontrados entre espécies como entre *M. lucifugus* e *M. evotis* (3,8%) e entre *M. thysanodes* e *M. albescens* (14,5%).

A presença de fluxo gênico entre as linhagens do complexo *M. nigricans* permitiria o compartilhamento das mutações entre os indivíduos com distribuição próxima, de forma a criar um gradiente contínuo de variação entre toda a distribuição, porém, não é o que pode ser observado entre as seis linhagens. Esse gradiente contínuo pode ser observado apenas dentro do grupo referido como *M. nigricans*, onde há dois subgrupos formados por exemplares do Sul e Norte da Mata Atlântica com distância genética entre os mesmos de 2%, mas sem suporte estatístico consistente (dados não apresentados).

Entretanto, há a possibilidade de que estas populações tenham passado por fases de distribuição disjunta e estejam em contato secundário, não tendo decorrido tempo suficiente para compartilhamento de tais mutações e não formando um gradiente. A ocorrência desta distribuição disjunta e posterior contato secundário nesta região pode ter acontecido durante os períodos de Máxima Glacial e Interglaciais dos últimos milhares de anos. Tais acontecimentos tendem a serem explicados a partir da Hipótese dos Refúgios.

A Hipótese dos Refúgios foi originalmente proposta por Haffer (1969) para explicar eventos de especiação em pássaros na região da Amazônia. Esta hipótese sugere que flutuações climáticas durante o Pleistoceno poderiam causar a fragmentação de formações florestais intermediadas por formações de áreas abertas e secas, como savanas. Esses fragmentos restantes de florestas ficariam isolados, formando “refúgios”, e nestes locais as populações de plantas e animais estariam isoladas até um futuro contato secundário durante uma nova fase de expansão, em momentos com condições favoráveis (HAFFER, 2008).

Segundo este mesmo autor, se durante este período de separação as populações alcançarem isolamentos sexuais e/ou ecológicos das populações dos fragmentos vizinhos, estas poderiam posteriormente dispersar-se amplamente no atual contínuo hábitat, antes que períodos

de fases climáticas adversas fragmentasse novamente essa extensão abrangente. Durante estes períodos de contração e expansão do hábitat, e com os diversos contatos secundários, estas espécies poderiam sofrer processos de especiação ou formarem populações com diferenças genéticas intraespecíficas marcantes.

Carnaval & Moritz (2008) geraram simulações climáticas e cruzaram seus resultados com estudos de filogeografia e paleopalinologia. A partir disto, um cenário foi descrito onde a MA teria suportado uma floresta tropical em sua área central (entre o Rio São Francisco/PE e o Rio Doce/ES) mesmo durante as condições mais secas do Quaternário. O modelo de Carnaval-Moritz (C-M) também prevê que, no litoral ao sul do Rio Doce, as condições climáticas não dariam suporte a formação de um grande e contínuo fragmento florestal. Foi sugerido então que, em sua distribuição ao sul, a Mata Atlântica provavelmente foi dividida em diferentes fragmentos menores.

A fragmentação ao sul da Mata Atlântica durante o último período de glaciação pode ter resultado nas diferentes linhagens encontradas neste estudo, de forma que as populações estariam isoladas em cada fragmento e, em um posterior período de expansão, teria ocorrido contato secundário mantendo-se as diferenças genéticas entre as linhagens. Quanto à única linhagem com distribuição também ao norte da Mata Atlântica (*M. nigricans* M.A. Norte/Sul – Figura 1), esta poderia ter habitado tanto o refúgio do Norte quanto do Sul da Mata Atlântica e, posteriormente, foi capaz de se dispersar para a região subsequente mantendo o fluxo gênico entre as populações distribuídas ao longo da Mata Atlântica.

Entretanto, alguns pesquisadores contradizem a Hipótese dos Refúgios em alguns pontos. Leite *et al.* (2016) apoiam uma hipótese alternativa, chamada de Mata Atlântida, onde pequenos mamíferos especialistas de florestas sofreram expansão durante ambas a Última Máxima Glacial (“Last Glacial Maximum” - LGM) e o Último Período Interglacial (“Last Interglacial” – LIG) e sugerem que a Mata Atlântica também tenha se expandido durante estes períodos, principalmente durante a exposição da plataforma continental durante o LGM.

Além disso, segundo estes mesmos autores, uma subdivisão entre Norte e Sul da Mata Atlântica seria o resultado das diferenças topográficas presentes na costa leste da América do Sul, mais especificamente a plataforma continental brasileira variando de muito estreita ao norte para muito ampla ao sul, além da presença do Embaiamento de Tubarão (“Tubarão Bight” – TB) e das montanhas do Espírito Santo formarem uma das áreas mais estreitas na costa brasileira. Esta divisão foi encontrada apenas para o haplogrupo *M. nigricans* como uma subdivisão, mas sem suporte estatístico consistente. Porém, esta divisão pode ter influenciado na divisão entre os demais grupos da Mata Atlântica e o clado *M. nigricans* isolando-os entre Norte e Sul com posterior dispersão para o ambiente subsequente, desta forma a Hipótese da Mata Atlântida seria uma hipótese alternativa para a Hipótese de Refúgios.

Em 2016, Moratelli *et al.* analisando sequências do Citocromo b de espécies próximas do gênero *Myotis*, provenientes de localidades como Bolívia e Paraguai, Equador, Peru, Suriname e Tobago, demonstraram que *M. nigricans* representa 5 distintos grupos. Com isso, Moratelli *et al.* (2016) sugerem que a hipótese proposta por Larsen *et al.* (2012) esteja correta, sendo *M. nigricans* restrito ao sul da América do Sul, retendo então o nome da espécie para o haplogrupo Bolívia + Paraguai por causa da maior proximidade à localidade-tipo da espécie (Seropédica, Rio de Janeiro) e, propondo que futuramente os demais 4 grupos recebam novos nomes.

Esta divisão entre espécimes de diferentes localidades na América do Sul também foi encontrada neste estudo, onde exemplares da Guiana, Suriname e Equador formam três linhagens distintas dos demais espécimes com ocorrência na Mata Atlântica possuindo distâncias entre grupos variando de 6% a 14%.

Entretanto, consideramos que a proposta de Moratelli *et al.* (2016) de retenção do nome *Myotis nigricans* para o haplogrupo Bolívia + Paraguai não deve ser validada, visto que os exemplares de uma das linhagens com distribuição no sudeste do Brasil deveriam reter o nome *M. nigricans* dada a maior proximidade à localidade-tipo. Com isso, a espécie *M. nigricans* estaria restrita apenas à região da Mata Atlântica, com ocorrência no Sul e Sudeste do Brasil (possivelmente norte da Mata Atlântica) e os espécimes das demais linhagens devem passar por reavaliação e descrição como espécies novas (Demais linhagens – Figura 1).

Uma das linhagens de *M. nigricans* possui uma problemática a mais. Diferentemente das demais, esta não se agrupa formando um grupo com as outras identificadas como *M. nigricans*. Esta linhagem, *M. cf. nigricans* 5, com distribuição na Guiana e Suriname, possui maior semelhança com exemplares de *M. riparius*, o que a torna uma das principais linhagens passíveis de reavaliação e reidentificação.

Os exemplares de *M. riparius* representam duas linhagens distintas e, como citado acima, uma destas possui maior semelhança com o grupo *M. cf. nigricans* 5. Tais linhagens de *M. riparius* possuem grande divergência genética, com valores próximos aos 12%, o que também os torna possíveis linhagens de espécies distintas.

Já os grupos *M. albescens* e *M. oxyotus* apresentam monofiletismo e baixos valores dentro dos grupos (1% e 0%, respectivamente), o que pode significar uma taxonomia acurada destas espécies ou um viés causado por um baixo número de indivíduos analisados (n=28 e n=8, respectivamente).

Este estudo mostrou que a história evolutiva do gênero *Myotis* foi bem mais complexa do que se conhecia e que este grupo possui diversas problemáticas taxonômicas vigentes, em especial na espécie *M. nigricans* e demais espécies da América do Sul. Além disso, pudemos observar que os estudos genéticos, utilizando-se mais marcadores, mitocondriais e nucleares podem auxiliar na identificação destas problemáticas, mas não as resolver. Identificar quais são os grupos incertos permite que novos trabalhos taxonômicos específicos sejam planejados a fim

de solucionar tais incongruências e, com isso, evitar subestimativas do número de espécies do gênero *Myotis*.

5. Referências Bibliográficas

- BARRATT, E. M.; DEAVILLE, R.; BURLAND, T. M.; BRUFORD, M. W.; JONES, G.; RACEY, P. A.; WAYNE, R. K. DNA answers the call of pipistrelle bat species. **Nature**. 387, 138–139. 1997.
- BORISENKO, A.V.; LIM, B.K.; IVANOVA, N.V.; HANNER, R.H.; HEBERT, P.D.N. DNA barcoding in surveys of small mammal communities: a field study in Suriname. **Molecular Ecology Resources**, n. 8, p. 471-479, 2016.
- BRUFORD, M.W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J.F.Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: **Molecular genetic analyses of populations: A practical Approach**. Oxford. 1992.
- CARNAVAL, A.C.; MORITZ, C. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**. v. 35, p. 1187-1201, 2008.
- CHAVERRI, G.; GARIN, I.; ALBERDI, A.; JIMENEZ, L.; CASTILLO-SALAZAR, C.; ALHARTZA, J. Unveiling the hidden bat diversity of a neotropical montane forest. **Plos one**, n. 11, p. 1-19, 2016.
- CLARE, E.L.; LIM, B.K.; ENGSTROM, M.D.; EGER, J.L.; HEBERT, P.D. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. **Molecular Ecology Notes**. v. 7, p. 184-190, 2007.
- CLARE, E.L.; LIM, B.K.; FENTON, M.B.; HEBERT, P.D.N. Neotropical bats: estimating species diversity barcodes. **Plos one**, n. 6, p. 1-14, 2011.
- FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, n. 3, p. 294-297. 1994.
- HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, v.165, p. 131-137, 1969.
- HAFFER, J. Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, p. 917-947, 2008.
- HAUSSLER, U.; NAGEL, A.; BRUAN, M.; ARNOLD, A. External characters discriminating sibling species of European pipistrelles, *Pipistrellus pipistrellus* (Schreber, 1774) and *P. pygmaeus* (Leach, 1825). **Myotis**, 37: 27–40. 2000.
- KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, n. 16, p. 111-120. 1980.
- KLIPPEL, A.H.; OLIVEIRA, P.V.; BRITTO, K.B.; FREIRE, B.F.; MORENO, M.R.; SANTOS, A.R.; BANHOS, A.; PANETO, G.G. Using DNA barcodes to identify road-killed animals in two atlantic forest nature reserves, Brazil. **Plos one**, n. 10, p. 1-15, 2015.
- LARSEN, R.J.; KNAPP, M.C.; GENOWAYS, H.H.; KHAN, F.A.A.; LARSEN, P.A.; WILSON, D.E.; BAKER, R.J. Genetic Diversity of Neotropical Myotis (Chiroptera:Vespertilionidae) with an Emphasis on South American Species. **Plos One**, v.7, p. 9, 2012.

LaVAL, R. K. A revision of the neotropical bats of the genus *Myotis*. **Natural History Museum Los Angeles County Science Bulletin**, v. 15, p. 1-54, 1973.

LEITE, Y.L.R.; COSTA, L.P.; LOSS, A.C.; ROCHA, R.G.; BATATA-FILHO, H.; BASTOS, A.C.; QUARESMA, V.S.; FAGUNDES, V.; PARESQUE, R.; PASSAMANI, M.; PARDINI, R. Neotropical forest expansion during the glacial period challenges refuge hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, p. 1008-1013, 2016.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1451-1452, 2009.

LIM, B.K. Review of the origins and biogeography of bats in South America. **Chiroptera Neotropical**. v. 15, p. 391-410, 2009.

MAYR, E. **Populations, Species and Evolution**. Boston, MA: Harvard University Press. 1970.

MCLELLAN, L. J. A morphometric analysis of *Carollia* (Chiroptera, Phyllostomidae). **American Museum Novitates**, n. 2791, p.1-35. 1984.

MILLER, G.S.; ALLEN, G.M. The American bats of the genera *Myotis* and *Pizonyx*. **Bulletin of the United States National Museum**. v. 144, p. 1-128, 1928.

MORATELLI, R.; PERACCHI, A.L.; DIAS, D.; OLIVEIRA, J.A. Geographic variation in South American populations of *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera, Vespertilionidae), with the description of two new species. **Mammalian Biology**, v. 76, p. 592-607, 2011.

MORATELLI, R.; GARDNER, A.L.; OLIVEIRA, J.A.; WILSON, D.E. Review of *Myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae) from Northern South America, Including Description of a New Species. **American Museum of Natural History**. v. 3780, p. 1-36, 2013.

MORATELLI, R., WILSON, D.E.; GARDNER, A.L.; FISHER, R.D.; GUTIÉRREZ, E.E. A new species of *Myotis* from Suriname (Chiroptera, Vespertilionidae). *Occasional papers, Museum of Texas Tech University*. v. 65, p. 49-63, 2016.

PARIS, C.A.; WAGNER, F.S.; WAGNER, JR., W.H. Cryptic Species, Species Delimitation, and Taxonomic Practice in the Homosporous Ferns. **American Fern Journal**, v.79, n. 2: 46-54. 1989.

PINE, R. H. **The bats of the genus *Carollia***. Technical Monograph 8, September. The Texas Agricultural Experiment Station, 125p. 1972.

RAUMBAUT, A. 2007. FigTree 1.3.1. Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D.L.; DARLING, A.; HOHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A.; HUELSENBECK, J.P. Mr. Bayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**. v. 61, p. 539-542, 2012.

SIMMONS, N.B. Order Chiroptera. *In*: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. (ed.) *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. **Johns Hopkins University Press**. v.1, ed. 3, p. 312-529, 2012.

SOLARI, S. & BAKER, R. J. Mitochondrial DNA sequence, karyotypic, and morphologic variation in the *Carollia castanea* species complex (Chiroptera: Phyllostomidae) with description of a new species. **Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University**. v. 254, p.1-16. 2006.

STAMATAKIS, A. RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analyses and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, 10.1093/bioinformatics/btu033

<http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/early/2014/01/21/bioinformatics.btu033.abstract>

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S.; 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v.30, p. 2725–2729, 2013.

TAYLOR, D.J.; DITTMAR, K.; BALLINGER, M.J.; BRUENN, J.A. Evolutionary maintenance of filovirus-like in bat genomes. **BMC Evolutionary Biology**, n. 11, p. 1-11, 2011.

TEELING, E.C; SPRINGER, M.S; MADSEN, O.; BATES, P.; O'BRIEN, S.J.; MURPHY, W.J. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. **Science**, n. 307, p. 580-584. 2005.

WALKER, F.M.; WILLIAMSON, C.H.D.; SANCHEZ, D.E.; SOBEK, C.J.; CHAMBERS, C.L. Species from feces: Order-wide identification of Chiroptera from guano and other non-invasive genetic samples. **Plos one**, n. 11, p. 1-22, 2016.

WILSON, D.E. Genus *Myotis* Kaup 1829. In: GARDNER, A.L. (Ed.). *Mammals of South America*. Chicago: **University of Chicago Press**, p. 468-481, 2008.

YU, N.; ZHENG, C.; ZHANG, Y.; LI, W. Molecular systematics of Pikas (Genus *Ochotona*) inferred from mitochondrial DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n. 16, p. 85-95. 2000.

XIA, X. & XIE, Z. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. **Journal of Heredity**, n. 92, p. 371-373, 2001.

FIGURAS E TABELAS

Tabela 1. Amostras de tecido disponíveis no LABEQ/UFES, sequências disponíveis no GenBank e correspondência das linhagens referentes à Figura 1. N/D: não determinado.

Espécie	Localidade	UFES	GENBANK	Linhagens (Figura 1)
<i>Myotis nigricans</i>	Paraíba	5	—	<i>M. nigricans</i>
	Bahia	2	—	<i>M. nigricans</i>
	Espírito Santo	7	—	<i>M. nigricans</i> ; <i>M. cf. nigricans</i> 1
	Minas Gerais	4	—	<i>M. nigricans</i> ; <i>M. cf. nigricans</i> 1 e 2
	São Paulo	3	—	<i>M. nigricans</i> ; <i>M. cf. nigricans</i> 2
	Paraná	6	—	<i>M. nigricans</i> ; <i>M. cf. nigricans</i> 2
	Equador	—	24	<i>M. cf. nigricans</i> 4
	Guiana	—	7	<i>M. cf. nigricans</i> 3 e 5
	Suriname	—	1	
<i>Myotis oxyotus</i>	Costa Rica	—	8	<i>M. oxyotus</i>
<i>Myotis riparius</i>	Brasil	—	8	<i>M. riparius</i> 1
	Costa Rica	—	4	<i>M. riparius</i> 1
	Equador	—	21	<i>M. riparius</i> 1 e 2
	Guiana	—	47	<i>M. riparius</i> 1 e 2
	Panamá	—	6	<i>M. riparius</i> 1 e 2
	Suriname	—	7	<i>M. riparius</i> 1 e 2
	N/D	—	3	<i>M. riparius</i> 2
<i>Myotis albescens</i>	Guiana	—	23	
	Suriname	—	5	<i>M. albescens</i>
	N/D	—	1	
TOTAL		27	165	

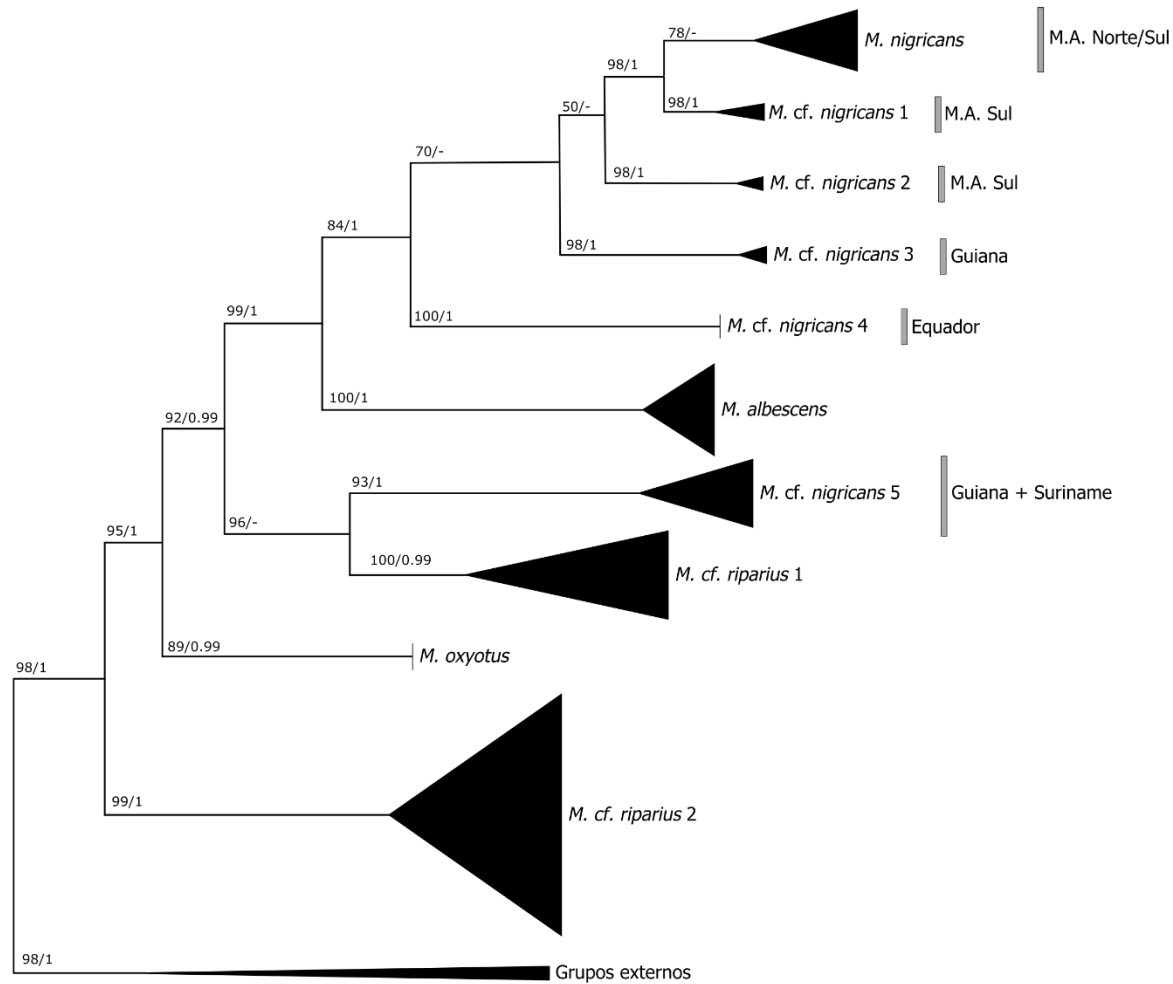
Tabela 2. Distância genética dentro e entre grupos de sequências. As análises de distância genética entre os grupos foram conduzidas usando os modelos Kimura-2-parâmetros (abaixo da diagonal) e *p*-distance (acima da diagonal). Os mesmos modelos foram utilizados para a análise de distância genética dentro dos grupos (diagonal). A análise envolveu 621 sequências nucleotídica de 11 espécies, e todas as posições contendo *gaps* ou dados faltando foram eliminadas. Em destaque, os maiores valores intraespecíficos.

K-2p/p-dist	Alb	Cil	Evo	Lei	Luc	Nig	Oxy	Rip	Sep	Thy	Vol
<i>M. albescens</i>	0,009/0,009	0,104	0,142	0,138	0,144	0,130	0,102	0,139	0,139	0,145	0,122
<i>M. ciliolabrum</i>	0,157	0,012/0,012	0,138	0,124	0,144	0,122	0,102	0,137	0,128	0,142	0,119
<i>M. evotis</i>	0,140	0,107	0,012/0,012	0,098	0,017	0,089	0,114	0,094	0,097	0,105	0,121
<i>M. leibii</i>	0,165	0,017	0,105	0,003/0,003	0,096	0,036	0,120	0,088	0,019	0,081	0,116
<i>M. lucifugus</i>	0,137	0,096	0,038	0,099	0,021/0,020	0,091	0,115	0,094	0,096	0,102	0,121
<i>M. nigricans</i>	0,116	0,163	0,158	0,166	0,148	0,089/0,080	0,118	0,085	0,042	0,080	0,113
<i>M. oxyotus</i>	0,112	0,128	0,135	0,129	0,132	0,114	0,025/0,023	0,121	0,124	0,138	0,093
<i>M. riparius</i>	0,134	0,136	0,130	0,136	0,127	0,138	0,102	0,070/0,064	0,087	0,092	0,123
<i>M. septentrionalis</i>	0,156	0,102	0,096	0,102	0,092	0,159	0,136	0,139	0,002/0,002	0,081	0,121
<i>M. thysanodes</i>	0,145	0,106	0,020	0,105	0,044	0,160	0,141	0,137	0,095	0,009/0,009	0,131
<i>M. volans</i>	0,163	0,116	0,088	0,113	0,087	0,168	0,159	0,150	0,100	0,088	0,045/0,042
Média inter	0,121/0,108										
Média intra	0,027/0,025										

Tabela 3. Distância genética dentro e entre grupos de sequências. As análises de distância genética entre os grupos foram conduzidas usando os modelos *p*-distance (abaixo da diagonal) e kimura 2-parâmetros (acima da diagonal). Para os valores de distância genética dentro dos grupos foi utilizado apenas o modelo *p*-distance (diagonal). A análise envolveu 191 sequências nucleotídica de 4 espécies, e todas as posições contendo *gaps* ou dados faltando foram eliminadas.

GRUPOS =	<i>M. nigricans</i>	<i>M. cf. nigricans 1</i>	<i>M. cf. nigricans 2</i>	<i>M. cf. nigricans 3</i>	<i>M. cf. nigricans 4</i>	<i>M. cf. nigricans 5</i>	<i>M. albescens</i>	<i>M. oxyotus</i>	<i>M. cf. riparius 1</i>	<i>M. cf. riparius 2</i>
<i>M. nigricans</i>	0.017	0.038	0.067	0.064	0.070	0.140	0.109	0.125	0.160	0.121
<i>M. cf. nigricans 1</i>	0.037	0.005	0.076	0.073	0.071	0.130	0.101	0.108	0.145	0.107
<i>M. cf. nigricans 2</i>	0.063	0.070	0.007	0.053	0.067	0.143	0.113	0.111	0.144	0.128
<i>M. cf. nigricans 3</i>	0.060	0.068	0.050	0.004	0.050	0.139	0.111	0.112	0.143	0.123
<i>M. cf. nigricans 4</i>	0.066	0.067	0.063	0.048	0.000	0.115	0.102	0.096	0.141	0.102
<i>M. cf. nigricans 5</i>	0.123	0.115	0.126	0.122	0.104	0.016	0.142	0.120	0.145	0.098
<i>M. albescens</i>	0.099	0.092	0.102	0.100	0.093	0.125	0.010	0.112	0.139	0.131
<i>M. oxyotus</i>	0.112	0.099	0.100	0.101	0.088	0.107	0.102	0.000	0.100	0.081
<i>M. cf. riparius 1</i>	0.140	0.128	0.128	0.127	0.125	0.127	0.124	0.092	0.026	0.135
<i>M. cf. riparius 2</i>	0.109	0.097	0.114	0.110	0.094	0.089	0.116	0.075	0.120	0.031

Figura 1. Reconstrução filogenética de máxima verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana a partir dos espécimes de *M. nigricans*, *M. riparius*, *M. albescens*, *M. oxyotus* e grupo externo. Os valores nos ramos representam os valores de suporte estatístico de bootstrap, para MV, e probabilidade posterior, para IB, respectivamente.



MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov).

* Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Nome	Espécie	Nº de Acesso	Localidade	Referências	Coord. Geográfica	
					Latitude	Longitude
Alb001	Myotis albescens	EF080487	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	3.750000	-59.300000
Alb002	Myotis albescens	EF080488	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.380000	-58.870000
Alb003	Myotis albescens	AEA89637	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.380000	-58.870000
Alb004	Myotis albescens	EF080489	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.320000	-57.330000
Alb005	Myotis albescens	EF080490	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	1.370000	-58.770000
Alb006	Myotis albescens	EF080484	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.670000	-58.680000
Alb007	Myotis albescens	EF080486	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.670000	-58.680000
Alb008	Myotis albescens	EF080485	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.670000	-58.680000
Alb009	Myotis albescens	JF448095	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	1.650000	-58.630000
Alb010	Myotis albescens	AEA89636	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	4.750000	-59.020000
Alb011	Myotis albescens	EF080491	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	4.750000	-59.020000
Alb012	Myotis albescens	AEA89634	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	4.280000	-58.520000
Alb013	Myotis albescens	AEA89635	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	4.280000	-58.520000
Alb014	Myotis albescens	JF455103	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb015	Myotis albescens	JF455102	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Alb016	Myotis albescens	AEA89633	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb017	Myotis albescens	AEA89632	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb018	Myotis albescens	AEA89631	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb019	Myotis albescens	AEA89630	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb020	Myotis albescens	AEA89629	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb021	Myotis albescens	AEA89628	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb022	Myotis albescens	JF455101	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	2.820000	-59.530000
Alb023	Myotis albescens	JF448094	Suriname	Clare <i>et al.</i> 2011	4.480000	-57.040000
Alb024	Myotis albescens	JF447689	Suriname	Clare <i>et al.</i> 2011	4.480000	-57.040000
Alb025	Myotis albescens	KX814412	Guiana	Chaverri <i>et al.</i> 2016	6.500000	-58.220000
Alb026	Myotis albescens	EU096807	Suriname	Borisenko <i>et al.</i> 2008	4.660000	-57.180000
Alb027	Myotis albescens	JN847706	-	Taylor <i>et al.</i> 2011	-	-
Alb028	Myotis albescens	HQ545684	Suriname	Não publicado	1.944000	-56.063000
Alb029	Myotis albescens	HQ545444	Suriname	Não publicado	1.944000	-56.063000
AD45	Myotis nigricans	-	Paraíba, BR	* Presente trabalho	-7.135600	-34.859800
AD46	Myotis nigricans	-	Paraíba, BR	*	-7.135600	-34.859800
AD49	Myotis nigricans	-	Paraíba, BR	*	-7.135600	-34.859800
AD50	Myotis nigricans	-	Paraíba, BR	*	-7.135600	-34.859800
AD52	Myotis nigricans	-	Paraíba, BR	*	-7.135600	-34.859800

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

AD169	Myotis nigricans	-	Bahia, BR	*	-11.945170	-38.082905
AD170	Myotis nigricans	-	Bahia, BR	*	-11.945170	-38.082905
AD373	Myotis nigricans	-	Minas Gerais, BR	*	-19.7896943	-42.1415731
AD374	Myotis nigricans	-	Minas Gerais, BR	*	-19.7896943	-42.1415731
AD388	Myotis nigricans	-	Minas Gerais, BR	*	-21.8398589	-43.7919951
AD395	Myotis nigricans	-	Minas Gerais, BR	*	-21.8398589	-43.7919951
AD443	Myotis nigricans	-	São Paulo, BR	*	-23.1857076	-46.8978057
AD453	Myotis nigricans	-	São Paulo, BR	*	-23.1857076	-46.8978057
AD457	Myotis nigricans	-	São Paulo, BR	*	-23.1857076	-46.8978057
AD674	Myotis nigricans	-	Paraná, BR	*	-25.4827475	-48.8290713
AD676	Myotis nigricans	-	Paraná, BR	*	-25.4827475	-48.8290713
AD678	Myotis nigricans	-	Paraná, BR	*	-25.4827475	-48.8290713
AD683	Myotis nigricans	-	Paraná, BR	*	-25.4827475	-48.8290713
AD684	Myotis nigricans	-	Paraná, BR	*	-25.4827475	-48.8290713
AD685	Myotis nigricans	-	Paraná, BR	*	-25.4827475	-48.8290713
AD919	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.29488451	-40.33497334
AD949	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.29488451	-40.33497334
AD950	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.29488451	-40.33497334
AD1031	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.6037524	-41.2035324

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

AD1043	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.6037524	-41.2035324
AD1077	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.6037524	-41.2035324
AD1078	Myotis nigricans	-	Espírito Santo, BR	*	-20.6037524	-41.2035324
Nig001	Myotis nigricans	EF080494	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.380000	-57.370000
Nig002	Myotis nigricans	EF080493	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.380000	-58.870000
Nig003	Myotis nigricans	EU096808	Suriname	Borisenko <i>et al.</i> 2008	4.540000	-56.930000
Nig004	Myotis nigricans	JQ601631	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Nig005	Myotis nigricans	JQ601630	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Nig006	Myotis nigricans	JQ601624	Equador	Não publicado	-0.633000	-76.450000
Nig007	Myotis nigricans	JQ601621	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Nig008	Myotis nigricans	JQ601620	Equador	Não publicado	-0.686000	-76.432000
Nig009	Myotis nigricans	JQ601612	Equador	Não publicado	-0.633000	-76.450000
Nig010	Myotis nigricans	JQ601611	Equador	Não publicado	-0.633000	-76.450000
Nig011	Myotis nigricans	JQ601600	Guiana	Não publicado	5.817000	-61.067000
Nig012	Myotis nigricans	JQ601590	Guiana	Não publicado	2.486000	-59.47600
Nig013	Myotis nigricans	JQ601589	Guiana	Não publicado	2.486000	-59.476000
Nig014	Myotis nigricans	JQ601588	Guiana	Não publicado	2.279000	-59.435000
Nig015	Myotis nigricans	JQ601587	Guiana	Não publicado	2.279000	-59.435000
Nig016	Myotis nigricans	JQ601586	Guiana	Não publicado	2.824000	-59.526000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Nig017	Myotis nigricans	JQ601582	Guiana	Não publicado	5.333000	-59.917000
Nig018	Myotis nigricans	JQ601580	Guiana	Não publicado	5.817000	-61.067000
Nig019	Myotis nigricans	JQ601579	Guiana	Não publicado	5.817000	-61.067000
Nig020	Myotis nigricans	JQ601575	Guiana	Não publicado	4.750000	-59.017000
Nig021	Myotis nigricans	JQ601574	Guiana	Não publicado	1.650000	-58.633000
Nig022	Myotis nigricans	JQ601573	Guiana	Não publicado	1.583000	-58.633000
Nig023	Myotis nigricans	JQ601572	Guiana	Não publicado	1.583000	-58.633000
Nig024	Myotis nigricans	JQ601571	Guiana	Não publicado	5.150000	-58.700000
Nig025	Myotis nigricans	JQ601570	Guiana	Não publicado	5.150000	-58.700000
Nig026	Myotis nigricans	JQ601569	Guiana	Não publicado	5.150000	-58.700000
Nig027	Myotis nigricans	JQ601562	Guiana	Não publicado	3.750000	-59.300000
Nig028	Myotis nigricans	JQ601561	Guiana	Não publicado	3.750000	-59.300000
Nig029	Myotis nigricans	JQ601560	Guiana	Não publicado	3.267000	-59.717000
Nig030	Myotis nigricans	JQ601559	Guiana	Não publicado	3.267000	-59.717000
Nig031	Myotis nigricans	JQ601558	Guiana	Não publicado	3.267000	-59.717000
Nig032	Myotis nigricans	JQ601557	Guiana	Não publicado	3.267000	-59.717000
Oxy002	Myotis oxyotus	KX814412	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.080000	-82.970000
Oxy003	Myotis oxyotus	KX814411	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.110000	-82.960000
Oxy004	Myotis oxyotus	KX814409	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.100000	-82.960000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Oxy005	Myotis oxyotus	KX814406	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.110000	-82.960000
Oxy006	Myotis oxyotus	KX814405	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.110000	-82.960000
Oxy007	Myotis oxyotus	KX814410	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.110000	-82.960000
Oxy008	Myotis oxyotus	KX814408	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.100000	-82.960000
Oxy009	Myotis oxyotus	KX814407	Costa Rica	Chaverri <i>et al.</i> 2016	9.110000	-82.960000
Rip001	Myotis riparius	EF080518	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.120000	-59.820000
Rip002	Myotis riparius	EF080517	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.120000	-59.820000
Rip003	Myotis riparius	EF080516	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.120000	-59.820000
Rip004	Myotis riparius	EF080515	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.330000	-60.770000
Rip005	Myotis riparius	EF080514	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.330000	-60.770000
Rip006	Myotis riparius	EF080513	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.330000	-60.770000
Rip007	Myotis riparius	EF080512	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.330000	-60.770000
Rip008	Myotis riparius	EF080511	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	3.270000	-58.780000
Rip009	Myotis riparius	EF080510	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	1.650000	-58.630000
Rip010	Myotis riparius	EF080509	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	1.580000	-58.630000
Rip011	Myotis riparius	EF080508	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.100000	-59.050000
Rip012	Myotis riparius	EF080507	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	3.270000	-58.780000
Rip013	Myotis riparius	EF080506	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	4.670000	-58.680000
Rip014	Myotis riparius	EF080505	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.250000	-59.610000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Rip015	Myotis riparius	EF080504	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip016	Myotis riparius	EF080503	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip017	Myotis riparius	EF080502	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip018	Myotis riparius	EF080501	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip019	Myotis riparius	EF080500	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip020	Myotis riparius	EF080499	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip021	Myotis riparius	EF080498	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	6.500000	-58.220000
Rip022	Myotis riparius	EF080497	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.250000	-59.610000
Rip023	Myotis riparius	EF080496	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.250000	-59.610000
Rip024	Myotis riparius	EF080495	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2007	5.380000	-59.970000
Rip025	Myotis riparius	KX755981	-	Walker <i>et al.</i> 2016	-	-
Rip026	Myotis riparius	JN847709	-	Taylor <i>et al.</i> 2011	-	-
Rip027	Myotis riparius	KT236205	-	Klippel <i>et al.</i> 2015	-	-
Rip028	Myotis riparius	HQ919740	Suriname	Não publicado	1.994000	-56.092000
Rip029	Myotis riparius	HQ919701	Suriname	Não publicado	1.994000	-56.092000
Rip030	Myotis riparius	JQ601645	Panama	Não publicado	8.867000	-82.750000
Rip031	Myotis riparius	JQ601629	Equador	Não publicado	-0.683000	-76.433000
Rip032	Myotis riparius	JQ601628	Equador	Não publicado	-0.783000	-76.433000
Rip033	Myotis riparius	JQ601627	Equador	Não publicado	-0.783000	-76.433000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Rip034	Myotis riparius	JQ601626	Equador	Não publicado	-0.683000	-76.433000
Rip035	Myotis riparius	JQ601625	Equador	Não publicado	-0.683000	-76.433000
Rip036	Myotis riparius	JQ601623	Equador	Não publicado	-0.683000	-76.433000
Rip037	Myotis riparius	JQ601622	Equador	Não publicado	-0.683000	-76.433000
Rip038	Myotis riparius	JQ601619	Equador	Não publicado	-0.837000	-76.334000
Rip039	Myotis riparius	JQ601618	Equador	Não publicado	-0.657000	-76.454000
Rip040	Myotis riparius	JQ601617	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip041	Myotis riparius	JQ601616	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip042	Myotis riparius	JQ601615	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip043	Myotis riparius	JQ601614	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip044	Myotis riparius	JQ601613	Equador	Não publicado	-0.633000	-76.450000
Rip045	Myotis riparius	JQ601610	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip046	Myotis riparius	JQ601609	Equador	Não publicado	-0.833000	-76.333000
Rip047	Myotis riparius	JQ601608	Equador	Não publicado	-0.617000	-76.467000
Rip048	Myotis riparius	JQ601607	Equador	Não publicado	-0.617000	-76.467000
Rip049	Myotis riparius	JQ601606	Equador	Não publicado	-0.683000	-76.433000
Rip050	Myotis riparius	JQ601605	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip051	Myotis riparius	JQ601604	Equador	Não publicado	-0.650000	-76.450000
Rip052	Myotis riparius	JQ601230	Suriname	Não publicado	2.289000	-56.607000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Rip053	Myotis riparius	JQ601201	Suriname	Não publicado	2.175260	-56.788000
Rip054	Myotis riparius	JQ601647	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip055	Myotis riparius	JQ601644	Panama	Não publicado	8.867000	-82.750000
Rip056	Myotis riparius	JQ601640	Panama	Não publicado	9.100000	-79.700000
Rip057	Myotis riparius	JQ601639	Panama	Não publicado	9.100000	-79.700000
Rip058	Myotis riparius	JQ601638	Panama	Não publicado	8.867000	-82.750000
Rip059	Myotis riparius	JQ601635	Panama	Não publicado	9.100000	-79.700000
Rip060	Myotis riparius	JQ601634	Suriname	Não publicado	4.950000	-55.183000
Rip061	Myotis riparius	JQ601633	Suriname	Não publicado	4.950000	-55.183000
Rip062	Myotis riparius	JQ601632	Suriname	Não publicado	4.950000	-55.183000
Rip063	Myotis riparius	JQ601603	Guiana	Não publicado	6.500000	-58.217000
Rip064	Myotis riparius	JQ601602	Guiana	Não publicado	6.500000	-58.217000
Rip065	Myotis riparius	JQ601601	Guiana	Não publicado	6.500000	-58.217000
Rip066	Myotis riparius	JQ601599	Guiana	Não publicado	1.367000	-58.767000
Rip067	Myotis riparius	JQ601598	Guiana	Não publicado	5.250000	-59.614000
Rip068	Myotis riparius	JQ601597	Guiana	Não publicado	5.250000	-59.614000
Rip069	Myotis riparius	JQ601596	Guiana	Não publicado	5.250000	-59.614000
Rip070	Myotis riparius	JQ601595	Guiana	Não publicado	5.067000	-59.867000
Rip071	Myotis riparius	JQ601594	Guiana	Não publicado	5.333000	-59.950000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Rip072	Myotis riparius	JQ601593	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip073	Myotis riparius	JQ601592	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip074	Myotis riparius	JQ601591	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip075	Myotis riparius	JQ601585	Guiana	Não publicado	5.175000	-59.481000
Rip076	Myotis riparius	JQ601584	Guiana	Não publicado	5.175000	-59.481000
Rip077	Myotis riparius	JQ601583	Guiana	Não publicado	5.166000	-59.493000
Rip078	Myotis riparius	JQ601581	Guiana	Não publicado	3.267000	-58.783000
Rip079	Myotis riparius	JQ601578	Guiana	Não publicado	5.800000	-61.100000
Rip080	Myotis riparius	JQ601577	Guiana	Não publicado	5.867000	-60.617000
Rip081	Myotis riparius	JQ601576	Guiana	Não publicado	4.733000	-58.850000
Rip082	Myotis riparius	JQ601568	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip083	Myotis riparius	JQ601567	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip084	Myotis riparius	JQ601566	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip085	Myotis riparius	JQ601565	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip086	Myotis riparius	JQ601564	Guiana	Não publicado	4.100000	-59.050000
Rip087	Myotis riparius	JQ601563	Guiana	Não publicado	4.333000	-58.850000
Rip088	Myotis riparius	JQ601556	Costa Rica	Não publicado	10.600000	-83.533000
Rip089	Myotis riparius	JQ601555	Costa Rica	Não publicado	10.600000	-83.533000
Rip090	Myotis riparius	JQ601554	Costa Rica	Não publicado	10.567000	-83.517000

Continuação Tabela 1. Sequências do marcador molecular COI utilizadas no presente trabalho, incluindo dados produzidos e dados armazenados na plataforma GenBank (ncbi.nlm.nih.gov). * Sequências obtidas no presente estudo. ** Valores aproximados a partir da localidade informada.

Rip091	Myotis riparius	JQ601553	Costa Rica	Não publicado	10.567000	-83.517000
Rip092	Myotis riparius	JQ601552	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip093	Myotis riparius	JQ601551	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip094	Myotis riparius	JQ601550	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip095	Myotis riparius	JQ601549	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip096	Myotis riparius	JQ601548	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip097	Myotis riparius	JQ601547	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Rip098	Myotis riparius	JQ601546	São Paulo, BR	Não publicado	-22.383000	-49.667000
Fur001	Eptesicus furinalis	JF454656	Guiana	Clare <i>et al.</i> 2011	4.100000	-59.050000
Fur002	Eptesicus furinalis	JF499012	Belize	Não publicado	17.764100**	-88.652200**
Fus001	Eptesicus fuscus	JF498646	Ontario, CAN	Não publicado	42.581300**	-80.395100**
Fus002	Eptesicus fuscus	JF498645	Ontario, CAN	Não publicado	42.581300**	-80.395100**
Fus003	Eptesicus fuscus	JF498644	Ontario, CAN	Não publicado	42.581300**	-80.395100**
Fus004	Eptesicus fuscus	JF498643	Ontario, CAN	Não publicado	42.581300**	-80.395100**