

Universidade Federal do Espírito Santo  
Centro de Ciências Humanas e Naturais  
Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas

**Diversidade Gênica Populacional para *Lonchophylla dekeyseri* (Taddei, Vizotto & Sazima, 1983)  
(Mammalia, Chiroptera)**

**Rafael Zerbini Coutinho**

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas.

Vitória, ES  
Junho, 2007



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

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Diversidade gênica populacional para *Lonchophylla dekeyseri* (Taddei, Vizotto & Sazima, 1983) (Mammalia, Chiroptera)"

AUTOR: RAFAEL ZERBINI COUTINHO

ORIENTADOR: Prof. Dr. Albert David Ditchfield

Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL, pela comissão examinadora:

Dr. Albert David Ditchfield  
Orientador

Dra. Maria do Carmo Pimentel Batitucci  
Membro Interno

Dra. Ludmilla Moura de Souza Aguiar  
Membro Externo

DATA DA REALIZAÇÃO: Vitória, 30 de maio de 2007.

Presidente da Comissão Examinadora  
Prof. Dr. Albert David Ditchfield

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

C871d Coutinho, Rafael Zerbini, 1982-  
Diversidade Gênica Populacional para *Lonchophylla dekeyseri* (Taddei, Vizotto & Sazima, 1983) (Mammalia, Chiroptera) / Rafael Zerbini Coutinho. - 2007.  
41 f. : il.

Orientador: Albert David Ditchfield.  
Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Genética de populações. 2. Genética animal. 3. Genética evolutiva. 4. Análise cladística. I. Ditchfield, Albert David. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

---

Universidade Federal do Espírito Santo  
Centro de Ciências Humanas e Naturais  
Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas

**Diversidade Gênica Populacional para *Lonchophylla dekeyseri* (Taddei, Vizotto & Sazima, 1983)  
(Mammalia, Chiroptera)**

**Rafael Zerbini Coutinho**

Orientador: Albert David Ditchfield

Vitória, ES  
Junho, 2007



*Lonchophylla dekeyseri*  
Foto: Daniela Coelho

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus.

O orientador e amigo Albert David Ditchfield por me proporcionar essa incrível experiência de brincar de fazer ciência e ter prazer em fazer pesquisa.

A Lislane Rocha Schaeffer por ter sido paciente e sempre presente.

O prof. Dr. Fabrício Rodrigues dos Santos, o amigo Rodrigo A. F. Redondo e demais colegas do LBEM-UFMG (Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular) por me fornecerem meios para seqüenciar e me ajudarem no momento mais difícil.

A prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Ludmilla Moura de Souza Aguiar por ter me presenteado com a oportunidade de aprender, pela confiança e paciência.

O CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelas bolsas concedidas.

O Iuri Drumond Louro por me permitir usar a máquina termocicladora do NGHM-UFES (Núcleo de Genética Humana e Molecular).

O amigo Cleber Vieira Rangel pela força durante toda a caminhada.

A Juliana Marge Pagnozzi pela ajuda na revisão e orientação do orientador.

Os amigos do Labeq-UFES (Laboratório de Estudos em Quirópteros) e NGHM-UFES pelo apoio e troca de informações.

Os amigos que sempre perguntaram “E o mestrado?” e entenderam a minha expressão facial e meu olhar como respostas.

Meus pais por entenderem que eu ainda tenho muito que aprender.

A banca examinadora pelo precioso tempo disponibilizado e pelas críticas imprescindíveis ao meu crescimento.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	06
INTRODUÇÃO.....	07
OBJETIVOS.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
ORIGEM DAS AMOSTRAS.....	13
EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA.....	14
ALINHAMENTO E ANÁLISES DAS SEQÜÊNCIAS DE DNA.....	16
RESULTADOS.....	19
DISCUSSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXO.....	37



## RESUMO

*Lonchophylla dekeyseri* é uma espécie de morcego nectarívoro endêmica ao Cerrado, considerada ameaçada. Devido à redução do tamanho de suas populações, de seus abrigos e áreas de forrageamento, *L. dekeyseri* talvez tenha se tornado uma espécie potencialmente susceptível à perda de diversidade gênica associada à fragmentação da área de distribuição. Dado que a variabilidade gênica é importante para a capacidade de sobrevivência de uma espécie frente a desafios ambientais, esse trabalho visa avaliar a diversidade gênica de *L. dekeyseri*. Por meio da análise de seqüências do gene que codifica o citocromo B (citB) do DNA mitocondrial foi testado se a diversidade gênica intraespecífica de *L. dekeyseri* é menor ou similar à diversidade encontrada em outras espécies de morcegos, além de comparar a diversidade entre as populações do Distrito Federal e Piauí.

## INTRODUÇÃO

*Lonchophylla dekeyseri* (Taddei, Vizotto & Sazima, 1983) é uma espécie endêmica ao Cerrado, considerada ameaçada, listada na categoria de vulnerável (A3c) na Lista Brasileira de Espécies Ameaçadas de Extinção porque há uma estimativa de redução no tamanho de sua população igual ou maior que 30%. Tal estimativa é projetada ou suspeita para os próximos 10 anos ou três gerações, sendo baseada e especificada em: (1) declínio na área de ocupação, (2) extensão de ocorrência e qualidade do hábitat que possui níveis reais ou potenciais de exploração e (3) flutuações extremas em sua extensão de ocorrência, área de ocupação, número de localidades ou subpopulações e número de indivíduos maduros. Na lista da International Union for Conservation of Nature (IUCN 2003), *L. dekeyseri* é considerada vulnerável (A2c) por haver uma redução de sua população em pelo menos 20% nos últimos 10 anos e por se estimar uma redução de 20% de sua área de ocupação para os próximos 10 anos.

*Lonchophylla dekeyseri* apresenta indivíduos com medidas de antebraço entre 34,7-37,7 mm e crânio curto entre 22,0-22,6 mm (Taddei et al. 1983). Aguiar (2000) descreve essa espécie com peso entre 10-12 gramas, pelagem dorsal mais escura que a pelagem da região ventral, focinho alongado, língua comprida com numerosas papilas na extremidade distal, dentes molares finos e alongados e cauda curta perfurando dorsalmente a membrana interfemural.

A descrição de *L. dekeyseri* foi feita por Taddei et al. (1983) com base em três exemplares machos, sendo dois coletados no Parque Nacional de Brasília, e outro coletado na Serra do Cipó, MG; e uma fêmea coletada em Sete Cidades, no Piauí.

A distribuição conhecida dessa espécie está resumida as áreas de Cerrado, sendo descrita como leste do Brasil por Simmons (2005) e assinalada também para Mato Grosso e Goiás por Reis (2006).

O fato de *L. dekeyseri* ser uma espécie de morcego restrita ao Cerrado implica num risco grande para essa espécie, pois esse bioma, o segundo maior do país, abrange uma área de 204 milhões de hectares, dividindo-se entre os estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal, Tocantins, Bahia, Piauí, Maranhão, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Porém, o Cerrado está particularmente ameaçado pela expansão da soja e pecuária, que têm causado destruição das florestas, matas ciliares e das fitofisionomias do Cerrado, destruição de nascentes e áreas de recarga, contaminação da água e dos solos por agrotóxicos e fertilizantes, redução da biodiversidade animal e vegetal (Klink e Machado 2005).

Morcegos do gênero *Lonchophylla* Thomas (1903) se abrigam em cavernas (Novak 1991), o que pode ser considerado um outro fator de risco para *L. dekeyseri*, pois a concentração da população numa determinada localidade pode sujeitá-la às atividades humanas, como mineração, expondo a espécie ao risco de extinguir-se localmente.

Todos os registros de *L. dekeyseri* no Distrito Federal estão restritos a áreas onde existem cavernas e cavidades naturais de diferentes dimensões. Nesta região, *L. dekeyseri* somente foi capturada em cavidades ou próxima a elas (Bredt et al. 1999).

Morcegos do gênero *Lonchophylla* eram considerados da subfamília Glossophaginae até Griffiths (1982) agrupá-los na subfamília Lonchophyllinae. As subfamílias Glossophaginae e Lonchophyllinae são consideradas grupos

taxonômicos formados por morcegos nectarívoros, mas essas espécies podem incluir em sua dieta néctar, partes florais, pólen, insetos e frutos como já evidenciados para vários gêneros dessas subfamílias (Gardner 1977, Heithaus et al. 1975, Lemke 1984, Wilson 1973). Espécies nectarívoras são importantes ecologicamente se considerarmos o fato que sem a interação de animais polinizando plantas, as sementes e as frutas que perfazem 80% da dieta humana não existiriam (Buchmann e Nabhan 1996). A perda de um polinizador em um bioma tão ameaçado quanto o Cerrado é preocupante, pois espécies vegetais dependentes do polinizador específico simplesmente extinguir-se-iam juntamente com seu polinizador. Os polinizadores no Cerrado são importantes para manter e ajudar a recuperar a cobertura vegetal em áreas degradadas.

As principais ameaças a *L. dekeyseri* são a redução do hábitat disponível para forrageamento, causado pela destruição da cobertura vegetal nativa do Cerrado e a pressão sobre os abrigos, possivelmente causada por atividades mineradoras. Essa espécie é nectarívora, depende de abrigos, polinizadora de plantas típicas do Cerrado e endêmica a um dos biomas mais ameaçados do país. Dentre as espécies de morcegos ameaçadas, *L. dekeyseri* pode ser, juntamente com *Lonchophylla bokermanni*, uma das mais susceptíveis ao desaparecimento (Arita & Santos-del-Prado 1999).

A variabilidade gênica é importante para a persistência evolutiva das espécies. Um exemplo característico é o da variabilidade (ou polimorfismo) das proteínas do sistema MHC. Essas proteínas fazem parte do sistema de reconhecimento de patógenos e são importantes na resposta imune às infecções. Um grau de polimorfismo alto do sistema MHC é favorecido na coevolução de organismos que

provocam doenças em seus hospedeiros e a perda de diversidade gênica no sistema MHC é encontrada em espécies que sofreram estrangulamento populacional, colocando-as em risco (Solé-Cava 2001).

Devido à redução do tamanho das populações, de seus abrigos e áreas de forrageamento, *L. dekeyseri* talvez tenha se tornado uma espécie potencialmente susceptível à perda de diversidade gênica, associada à fragmentação da área de distribuição e conseqüentemente à depressão endogâmica. A diminuição da população pode intensificar o efeito da deriva genética com conseqüente perda da diversidade gênica. A fragmentação leva à quebra de fluxo gênico, o que pode aumentar o risco de “genetic meltdown”, ou seja, a espiral representada pela perda da diversidade genética, seguida de maior incidência de doenças devido a essas perdas; redução da população devido às doenças; mais perda de alelos; aumento do risco de novas epidemias, uma vez que baixou ainda mais a diversidade; mais perdas de alelos e assim sucessivamente até a extinção (Solé-Cava 2001).

Dado que a variabilidade gênica é importante para a capacidade de sobrevivência de uma espécie aos desafios ambientais impostos na seleção natural, esse trabalho visa analisar a diversidade gênica de *L. dekeyseri*. A grande redução de área de distribuição dessa espécie, sua importância na polinização de plantas do Cerrado e seu status de espécie ameaçada tornam importante saber se a diversidade gênica encontrada nessa espécie se assemelha à de outras espécies de morcegos.

Esse estudo foi realizado usando-se o gene que codifica a proteína do Citocromo B (citB). Outros estudos com morcegos usando-se este gene motivaram a escolha do mesmo como Ditchfield (2000) e Lim (2004). Usando-se esse gene é possível

comparar os dados com outras espécies de *Lonchophylla* da filogenia da tribo Lonchophyllini de Dávalos e Jansa (2004).

Com o *citB* foi possível comparar as seqüências de DNA dos espécimes seqüenciados nesse estudo com seqüências de DNA retiradas do GenBank, aplicando assim a técnica de DNA Barcoding (Herbert 2003). Essa é uma técnica que usa pequenos marcadores de DNA (como o *citB*) e permite identificar espécies, descobrir possíveis novas espécies e tornar a taxonomia mais eficaz através da comparação de novas seqüências com outras seqüências de um banco de dados pré-existente (Rubinoff 2005, Herbert et al 2004, Clare et al 2007).

## OBJETIVOS

O objetivo principal é testar através do gene que codifica a proteína citocromo B a hipótese de que a diversidade gênica intraespecífica de *L. dekeyseri* é menor que a de outras espécies de morcegos.

O trabalho ainda tem como objetivos:

- Determinar através da diversidade gênica se *L. dekeyseri* constitui um conjunto de espécies crípticas, com alto grau de divergência gênica entre si.
- Identificar os espécimes utilizados no trabalho através da técnica de DNA Barcoding.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Origem das amostras**

Os espécimes amostrados foram capturados no Cerrado pela equipe do Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira (PROBIO) com rede de neblina de espessura 36mm. Foram coletados tecidos de membrana do uropatágio (membrana existente entre as pernas) de cada morcego. Esse tipo de tecido é considerado o mais indicado para morcegos em risco de extinção, pois não se faz necessário o sacrifício do animal para retirá-lo. Assim, os morcegos capturados foram soltos novamente, salvo alguns indivíduos coletados para testemunho.

Foram coletadas 54 amostras de tecidos preservadas em álcool 96° para análises e execução da pesquisa. As amostras eram de um único indivíduo coletado no Mato Grosso do Sul (ponto de coleta 21°07'S/ 56°28'O), dois indivíduos do Piauí (distribuídos nos pontos de coleta 04°05'S/ 41°30'O e 04°15'S/ 41°45'O) e cinquenta e um espécimes do Distrito Federal (distribuídos nos pontos de coleta 15°34'S/ 48°07'O, 15°30'S/ 48°10'O, 15°32'S/ 47°42'O) (Tabela A em Anexo).

Os indivíduos do Distrito Federal foram coletados em três cavernas chamadas de caverna I, caverna II e caverna III (Figura 1). Cabe dizer que as cavernas I e II distam entre si 10 km aproximadamente, enquanto que a terceira está a uma distancia de 50 e 40 quilômetros destas cavernas, respectivamente. Tais distâncias não impedem o fluxo gênico entre as populações dessas cavernas.





**Figura 1.** Foto de satélite ilustrando a posição das cavernas I, II e III tendo como referência geográfica a cidade de Brasília.

### **Extração, amplificação e sequenciamento de DNA**

A extração de DNA foi realizada a partir de amostras de uropatágios dos espécimes capturados na atividade de campo e todas as amostras foram submetidas ao protocolo de extração de DNA total (SDS/NaCl/Proteinase K) (Tabela 1) descrito por Bruford et al. (1992). O processo de extração foi repetido para as amostras que apresentaram quantidade insatisfatória ou nenhuma de DNA genômico total.

Tabela 1. Relação das amostras extraídas.

<b>Amostras Extraídas</b>	
<b>Extração 1</b>	ep101, 109c, 111c, 117c, 180, 258, 262, 276, 308c, 337v.
<b>Extração 2</b>	c97, 100c, 110, c121, c125, c126, 171, 172, 176, 259, 264, 265, 266, 267, 269, 700.
<b>Extração 3</b>	LD, 132, 169, 174, 178, 179, 182, 301v, 302v, 303v, 307v, 309v, 311v, 312v, 343v.
<b>Extração 4</b>	178, 182, 301v, 302v, 303v, 307v, 311v, 312v, 343v.
<b>Extração 5</b>	LDPI, LD76, 130A, 132A, 136A, 176A, 183A, 186A, 201, 302v, 257, 272, 273.

Após a extração de DNA das amostras, iniciou-se a amplificação da seqüência de interesse do DNA mitocondrial: o gene *citocromo b*. O extrato foi submetido à reação de PCR (Polimerase Chain Reaction ou Reação em Cadeia da Polimerase) em máquina termocicladora Applied Biosystems Gene Amp PCR System 9700.

Foram realizadas reações de PCR para padronização e amplificação de todas as amostras extraídas. Dois pares de iniciadores (*primers*) mostraram maior sucesso na amplificação e subseqüentemente no seqüenciamento do gene *citocromo b*: o par Bat 05A com Bat 04A e o par Bat 17A com Bat 14A desenhados por Ditchfield (2000): Bat04A (5' G T A G C T C C T C A G A A T G A T A T T T G T C C T C 3'), Bat05A (5' C G A C T A A T G A C A T G A A A A A T C A C C G T T G 3'), Bat14A

(5' T A T T C C C T T T G C C G G T T T A C A A G A C C 3') e Bat17A (5' A C C T C C T A G G A G A C C C A G A C A A T T 3').

Os pares de *primers* citados originaram um fragmento com 424 pares de base (pb) correspondentes à porção inicial do gene do citocromo b (citB) e um outro fragmento com 392 pb correspondes à porção final do citB.

O material amplificado foi purificado e seqüenciado no Laboratório de Biodiversidade e Evolução Molecular (LBEM) da Universidade Federal de Minas Gerais. A purificação foi feita por precipitação com polietilenoglicol 8000 e o seqüenciamento feito com DYE-namic ET terminator kit (Amersham Pharmacia Biotech, USA) em uma seqüenciadora de capilar Mega Bace 1000®. (Amersham-Biosciences). O fragmento total gerado apresentou 816 pares de base correspondentes ao início e ao final do gene do citocromo B.

### **Alinhamento e análises das seqüências de DNA**

Foram usados os programas Phred de Ewing et al. (1998), Phrap de Green (1994) e Consed de Gordon et al. (1998) para o alinhamento das seqüências antes das análises filogenéticas.

Foram feitas análises filogenéticas e moleculares com Mega versão 3.1 de Kumar et al (2004) e PAUP\* de Swofford (1993). Foram usados 816 pares de base do citocromo B dos 52 exemplares seqüenciados e 1140 pares de base (pb) dos exemplares retirados do GenBank (Tabela B em Anexo). Foram colocados espaços nos 324 pares de bases ausentes e estes foram considerados como dados ausentes. Para referenciar a espécie *L. dekeyseri* dentro da tribo Lonchophyllini

foram usadas seqüências de *citB* de outras espécies do grupo retiradas do GenBank. As espécies de morcegos utilizadas como grupos externos foram retiradas do GenBank como por exemplo *Mormoops blainvillii*, *Carollia perspicillata*, *Desmodus rotundus* e *Trachops cirrhosus* (Tabela B em Anexo) ou foram seqüenciadas em laboratório como a espécime de *Artibeus lituratus* (Tabela A em anexo). Seqüências de espécies de *Glossophaga* foram retiradas GeneBank para referenciar alguns indivíduos que não se mostravam aparentados com espécies de *Lonchophylla* (Tabela B em Anexo).

No programa Mega as análises foram feitas por Neighbor-joining e Máxima Parcimônia. A filogenia construída com Neighbor-joining teve Kimura 2 Parâmetros como modelo de substituição nucleotídica; as filogenias construídas com Máxima Parcimônia usaram método de busca mini-mini heurística com fator de busca igual a 10 e o método de busca Close Neighbor Interchange (CNI) com nível de busca igual a 1 e com 10 replicações de adição aleatória de árvores. Para todas as análises o suporte dos clados foi testado via Bootstrap, conforme Felsenstein (1985), de 1000 replicações.

As análises filogenéticas foram feitas com os 1140 pares de base das seqüências retiradas do GenBank. No programa PAUP\* foram calculadas as distâncias par a par entre as espécies e dentro de *L. dekeyseri*. Análises de Máxima Parcimônia foram feitas com busca heurística e tree-bisection-reconnection (TBR). A estabilidade dos ramos foi testada por análise de bootstrap de 1000 réplicas e índice de retenção de Bremer conforme Bremer (1994). O índice de Bremer foi calculado com o programa AutoDecay desenvolvido por Eriksson (1999).

Além disto, todos os tecidos enviados para análise são provenientes de espécimes identificados em campo como sendo da espécie *L. dekeyseri*, que, sendo uma espécie ameaçada, é protegida e sua coleta é limitada a poucos indivíduos. Como a identificação no campo pode ser problemática, foi usada a estratégia de “genetic barcoding” (Herbert 2003) para confirmar as identificações realizadas no campo em indivíduos que foram liberados após coleta de um pequeno fragmento de tecido. Foram usadas seqüências do GenBank como base para comparação e identificação dos espécimes analisados nesse estudo.

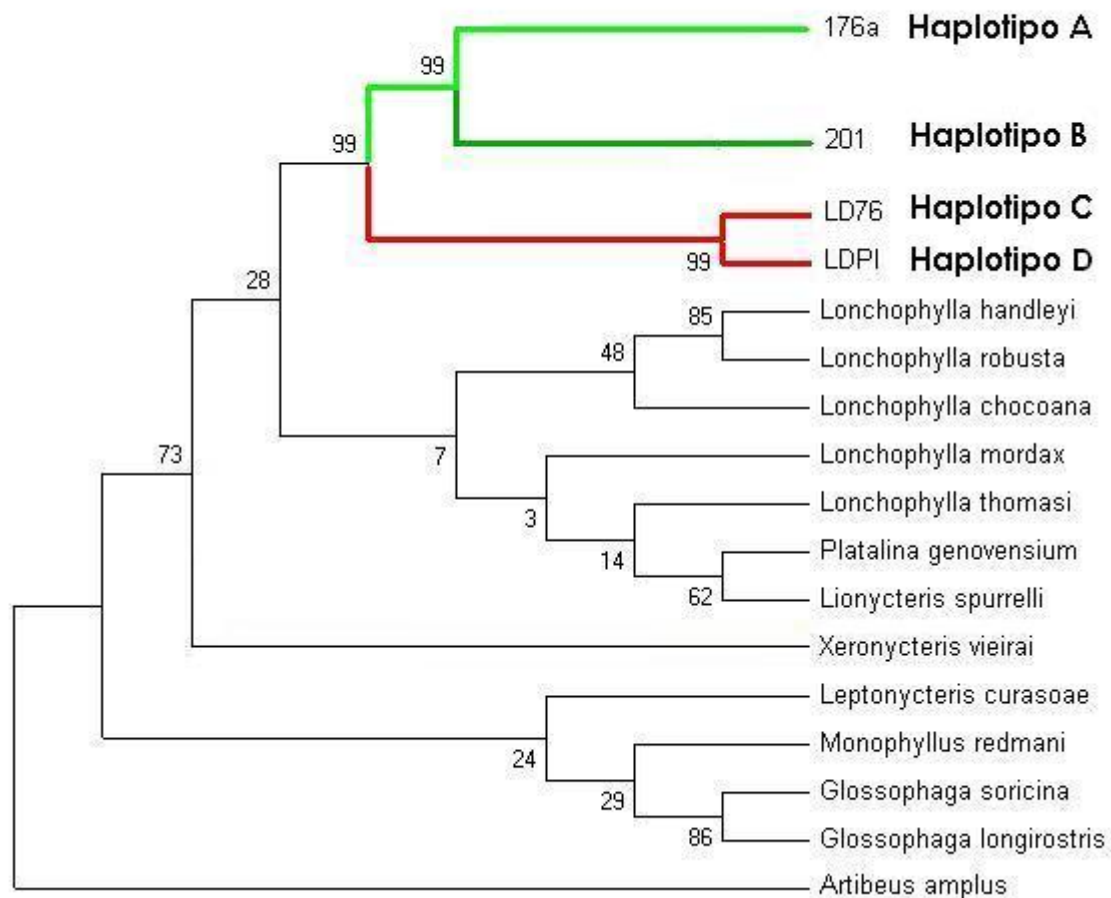
Finalmente, foi seqüenciado e incorporado nesse estudo um exemplar de *Xeronycteris vieirai* Gregorin e Ditchfield 2005, espécie descrita da Paraíba, que é da tribo Lonchophyllini e através de dados morfométricos foi descrita como grupo irmão de *Platalina* e *Lionycteris*, porém, sua semelhança com *Lonchophylla bokermanni* citada por Peracchi (2006) torna importante uma análise através desses novos dados moleculares para se saber qual o parentesco de *Xeronycteris vieirai* com as outras espécies da tribo Lonchophyllini.

## RESULTADOS

Dentro da espécie *Lonchophylla dekeyseri* foram encontrados quatro haplótipos nomeados A, B, C e D (Figura 2). Os haplótipos A e B ocorrem somente no Distrito Federal, enquanto os haplótipos C e D foram encontrados somente no Piauí.

No Distrito Federal o haplótipo A foi encontrado em um indivíduo da caverna I, trinta e um indivíduos da caverna II e dois indivíduos na caverna III, totalizando trinta e quatro indivíduos, enquanto que o haplótipo B foi encontrado em dois indivíduos da caverna I e em sete indivíduos da caverna II, totalizando nove indivíduos.

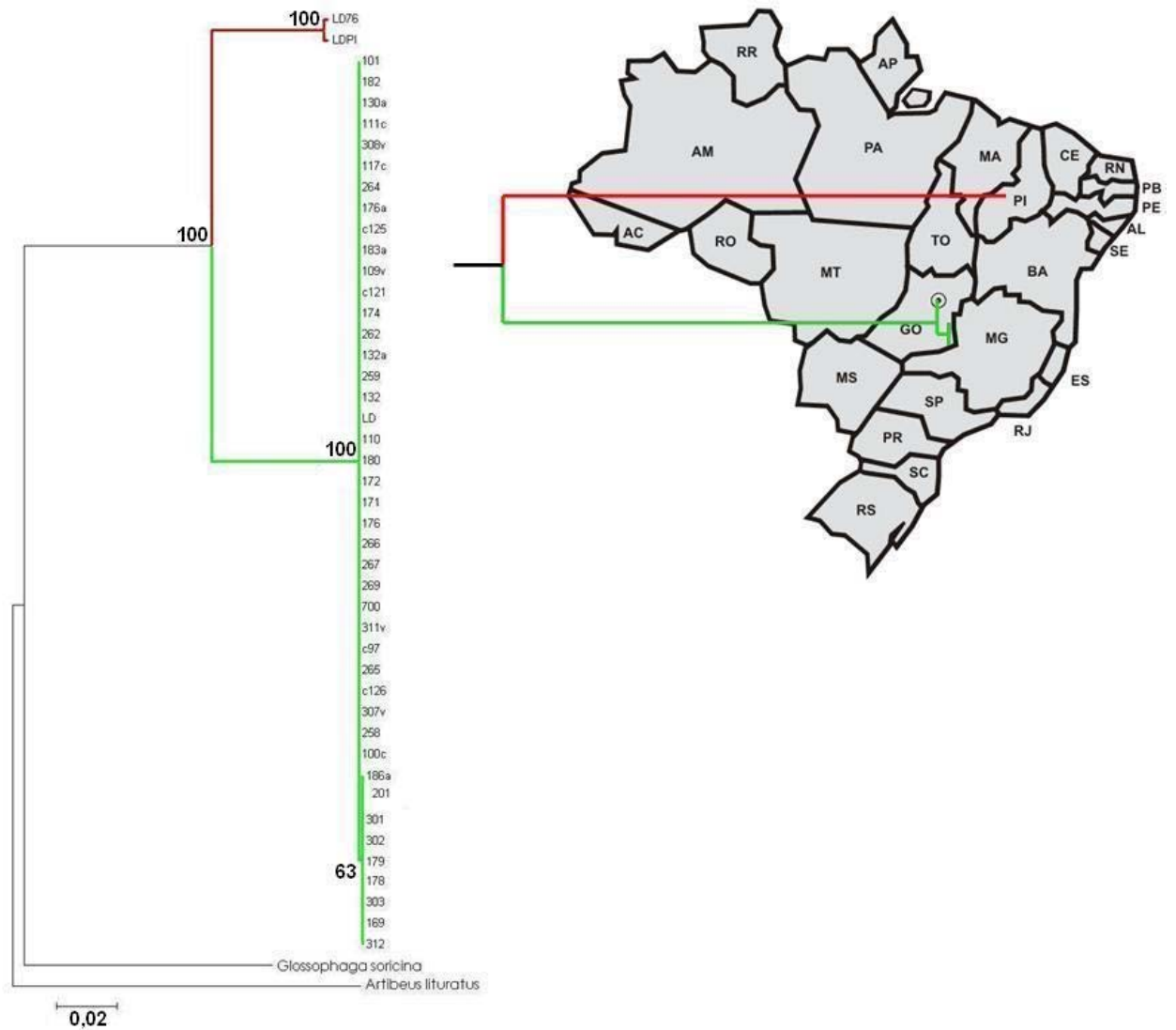
No Piauí os haplótipos C e D foram encontrados na mesma localidade, cada um proveniente de um único indivíduo.



**Figura 2.** Cladograma gerado por análise de Máxima Parcimônia. Em verde estão os espécimes de *L.dekeyseri* do clado Distrito Federal e em vermelho os espécimes do clado Piauí. Números nos galhos são valores de bootstrap >50% de 1000 réplicas.

Todos os quatro haplótipos pertencentes aos quarenta e cinco indivíduos de *Lonchophylla dekeyseri* foram agrupados em uma única análise de neighbor-joining (Figura 3). O filograma gerado mostra que os espécimes analisados da espécie *L. dekeyseri* estão organizados em dois clados monofiléticos denominados aqui como clado PI (Piauí) e clado DF (Distrito Federal), representados em vermelho e verde respectivamente. Cada clado possui dois haplótipos e são suportados por valores altos de bootstrap. Essa distinção dos clados também é corroborada pelos valores de divergência de seqüência encontrados para as populações, considerados altos

se comparados com valores de divergência de seqüência intra-específica encontrados em outras espécies de morcegos.



**Figura 3.** Filograma gerado por análise de Neighbor-joining. Em verde estão os espécimes de *L.dekeyseri* do clado Distrito Federal e em vermelho os espécimes do clado Piauí. As unidades taxonômicas operacionais (OTU) são os espécimes amostrados. Números acima dos galhos são valores de bootstrap >50% de 1000 réplicas. O mapa mostra a relação geográfica entre as populações e seus haplótipos.



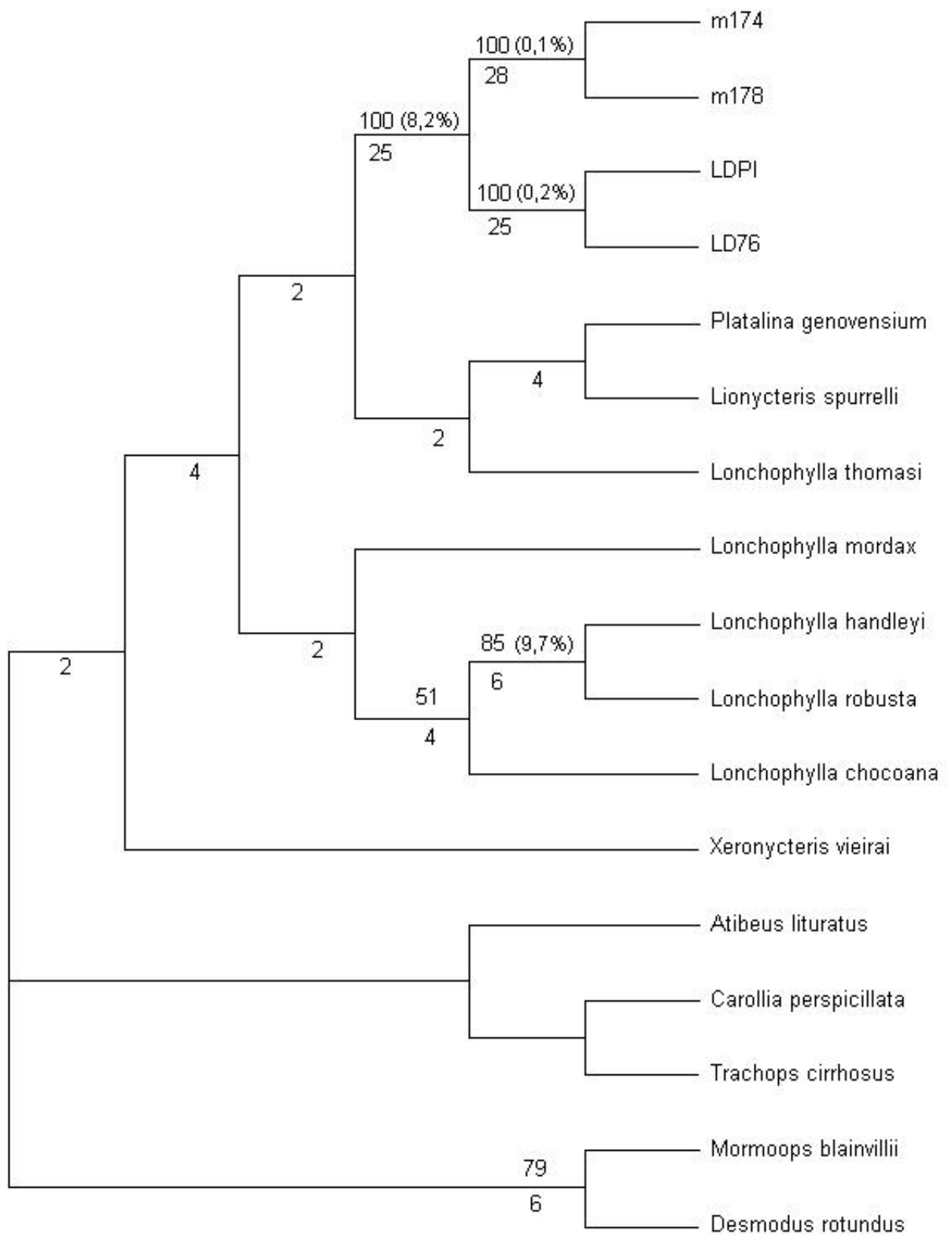
Dentro da espécie *Lonchophylla dekeyseri* a divergência de seqüência variou de 0,1% a 8,2% (Tabela 2). Entre indivíduos da população do Distrito Federal a divergência foi de no máximo 0,1% (Tabela 2, m174 contra m178), já entre indivíduos da população do Piauí a divergência encontrada foi de 0,2% (Tabela 2, LDPI contra LD76). Porém a porcentagem chegou a 8,2% quando analisada a divergência de seqüência entre a população do Distrito Federal e a população do Piauí (Tabela 2, LDPI contra m178), um número muito próximo dos 9,7% de divergência observada entre as espécies *Lonchophylla robusta* e *Lonchophylla handleyi*.

**Tabela 2.** Divergência de seqüências calculada par a par no programa PAUP\*. Dado em porcentagem onde 1 é 100%. Os indivíduos 2,3,4 e 5 são da espécie *Lonchophylla dekeyseri*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1. Xeronycteris vieirai	X												
2. M174	0,153	X											
3. M178	0,154	0,001	X										
4. LDPI	0,161	0,080	0,082	X									
5. LD76	0,161	0,080	0,082	0,002	X								
6. Platalina genovensium	0,143	0,152	0,153	0,144	0,142	X							
7. Lionycteris spurrelli	0,154	0,154	0,155	0,148	0,145	0,122	X						
8. Lonchophylla mordax	0,162	0,163	0,165	0,152	0,150	0,159	0,157	X					
9. Lonchophylla handleyi	0,150	0,145	0,147	0,162	0,159	0,146	0,153	0,144	X				
10. Lonchophylla chocoana	0,151	0,150	0,151	0,153	0,153	0,138	0,149	0,148	0,115	X			
11. Lonchophylla robusta	0,151	0,157	0,158	0,151	0,152	0,148	0,162	0,139	0,097	0,114	X		
12. Lonchophylla thomasi	0,164	0,167	0,168	0,162	0,162	0,150	0,139	0,166	0,162	0,150	0,165	X	
13. Artibeus lituratus	0,168	0,196	0,197	0,186	0,183	0,179	0,185	0,189	0,184	0,179	0,173	0,178	X

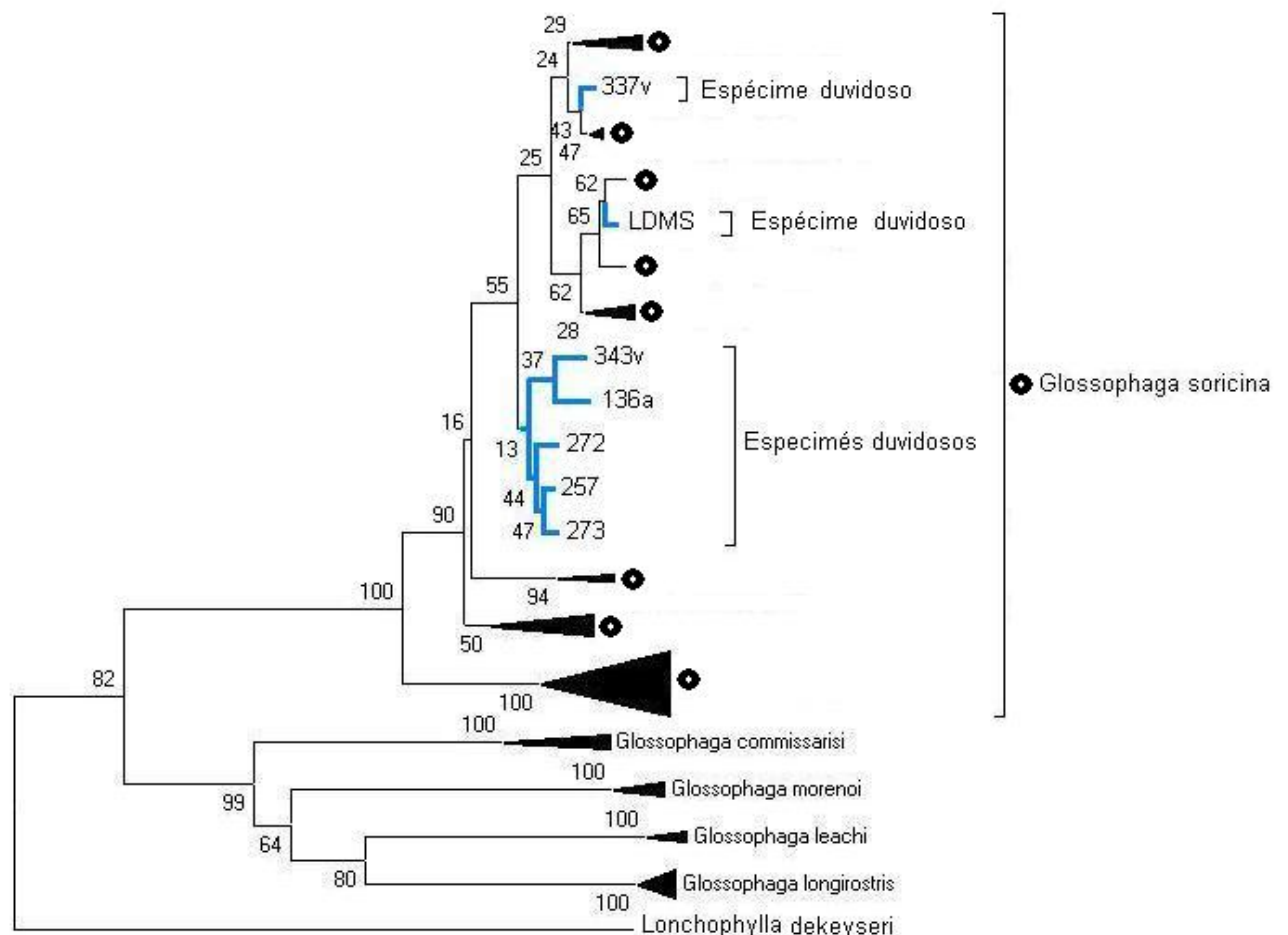
Dos 1140 pares de base analisados 447 foram variáveis e 345 foram informativos para parcimônia. A análise de máxima parcimônia do *citB* gerou uma árvore mais parcimoniosa com 1508 passos, índice de consistência (CI) 0,42 e índice de retenção (RI) 0,41. O cladograma gerado pode ser visto na figura 4 e possui a mesma topologia gerada com outras análises, como a de máxima verossimilhança.

O gênero *Lonchophylla* não pode ser agrupado em um único grupo monofilético, ou seja, grupo que inclua todos os descendentes de um único ancestral, pois *Lonchophylla dekeyseri* entra na filogenia do grupo mais aparentada com *Platalina genovensium*, *Lionycteris spurrelli* e *Lonchophylla thomasi*. Após a inserção de *L. dekeyseri* na filogenia da tribo Lonchophyllini (Dávalos e Jansa 2004) e analisando as relações dessa espécie dentro da tribo, conclui-se que Lonchophyllini continua sendo monofilética, possuindo um único ancestral comum como constataram Dávalos e Jansa (2004) (Figura 4).



**Figura 4.** Cladograma gerado por análise de máxima parcimônia. Sobre os ramos os valores de bootstrap, entre parênteses porcentagem de divergência e sob os ramos índices de decaimento de Bremer.

Sete das cinquenta e quatro amostras de *L. dekeyseri* resultaram em seqüências muito distintas. Essas não têm semelhança às seqüências de outras espécies de *Lonchophylla* retiradas do GenBank, tampouco com as outras amostras desse estudo. Usando-se de DNA Barcoding para comparar estas sete seqüências (uma do Mato Grosso do Sul e seis seqüências do Distrito Federal) com amostras de morcegos disponíveis no GenBank conclui-se que são muito semelhantes às seqüências da espécie *Glossophaga soricina* (Figura 5).



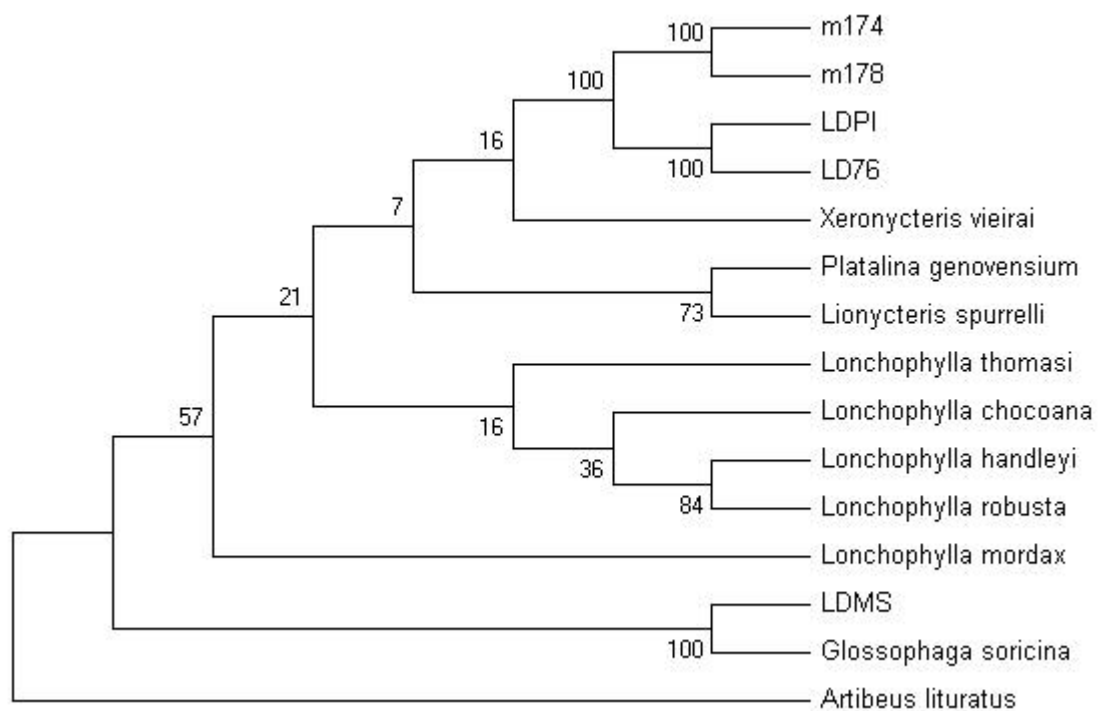
**Figura 5.** Topologia gerada por análise de neighbor-joining ilustrando os sete espécimes mais aparentados com *Glossophaga soricina* (em azul). Os números são os valores de bootstrap de 1000 réplicas.

Usando-se os seis espécimes de *Glossophaga soricina* amostrados para a mesma região de cavernas do Distrito Federal (m136A, m343v, m272, m273, m257 e m337v) e um exemplar do Mato Grosso do Sul (LDMS), foi calculada a divergência de seqüência intraespecífica para essa espécie (Tabela 3). Os dados de divergência intraespecífica encontrados para *Glossophaga soricina* variaram de 0,3% a 2,8%. Comparando-se a divergência entre as duas espécies pôde-se perceber que a divergência encontrada entre as populações de *L. dekeyseri* tem valor maior que a divergência encontrada entre populações de *G. soricina*.

**Tabela 3.** Divergência de seqüências intraespecífica de *Glossophaga soricina* calculada par a par no programa PAUP\*. Dado em porcentagem onde 1 é 100%.

	1	2	3	4	5	6	7
1. M136A	X						
2. m343v	0,011	X					
3. m272	0,018	0,009	X				
4. m273	0,015	0,007	0,004	X			
5. m257	0,014	0,008	0,006	0,003	X		
6. LDMS	0,026	0,025	0,025	0,028	0,026	X	
7. m337v	0,012	0,006	0,006	0,008	0,009	0,019	X

No cladograma da figura 6, gerado com análise de Máxima Parcimônia, a espécie *L.dekeyseri* (indivíduos m174, m178, LDPI e LD76) se mostra mais aparentada com a espécie *Xeronycteris vieirai* descrita da Paraíba (Gregorin e Ditchfield, 2005); o mesmo acontece em algumas análises de Neighbor-joining. Em outras análises a espécie *Xeronycteris vieirai* apresentou-se externa ao grupo Lonchophyllini, como a da figura 5.



**Figura 6.** Topologia do consenso das árvores geradas por análise de Máxima Parcimônia no programa Mega. Números nos galhos são valores de bootstrap de 1000 réplicas.

## DISCUSSÃO

A variabilidade gênica dentro da população de *Lonchophylla dekeyseri* das cavernas amostradas no Distrito Federal é muito baixa. Não obstante permite separar a espécie em dois haplótipos nessa região (Figura 2): podemos encontrar o haplótipo A nas três cavernas, enquanto encontramos o haplótipo B nas cavernas I e II. Ainda que a maior distância entre as cavernas seja de 50 quilômetros, esse não deve ser o fator relevante no fato de não ser encontrado o haplótipo B na caverna III, uma vez que essa distância não impede o fluxo gênico entre as populações, visto que morcegos podem voar essa distância em uma noite apenas. Uma maior amostragem da caverna III possivelmente encontraria o haplótipo B.

A diversidade haplotípica encontrada para *L. dekeyseri* é muito baixa quando comparada a de outros morcegos. Enquanto foram encontrados dois haplótipos em 43 indivíduos de *L. dekeyseri* do Distrito Federal, Ditchfield (1996) usando citB encontrou diversidades haplotípicas mais altas em outras espécies de morcegos Neotropicais; como em *Artibeus lituratus* com nove haplótipos em dez indivíduos seqüenciados de uma localidade e *Sturnira lilium* com sete haplótipos de uma única localidade.

A espécie *L. dekeyseri* apresentou valores muito baixos de diversidade gênica intraespecífica quando analisada apenas a população do distrito Federal. Valores mais altos de diversidade gênica intraespecífica como 8,2% foram encontrados para populações distantes (Distrito Federal e Piauí). Tal dado permite sugerir que *L. dekeyseri* seja um conjunto de espécies crípticas, sendo os espécimes amostrados



para o Piauí de uma outra espécie que não *L. dekeyseri*. Ao analisar os dados de *Glossophaga soricina* (Tabela 3) pode-se observar que a diversidade entre populações distantes como Distrito Federal e Mato Grosso do Sul tem valor máximo de 2,8%, um valor menor que o encontrado para *L. dekeyseri* e esperado para populações de uma mesma espécie. Ao contrário do esperado, as populações do Piauí e Distrito Federal apresentaram resultados semelhantes aos encontrados para diversidade gênica entre espécies distintas como 9,7% observado entre *Lonchophylla handleyi* e *Lonchophylla robusta*.

A reduzida variabilidade gênica de *Lonchophylla dekeyseri* pode ser decorrente de taxas muito altas de cruzamentos consangüíneos e corre risco de sofrer depressão endogâmica, levando até mesmo à extinção, uma vez que a tendência da população é diminuir ainda mais, de acordo com dados da IUCN. Uma tentativa para salvar essa espécie da extinção, nesse caso, seria manejar a mesma de forma a trocar genes com uma outra população com maior diversidade gênica, dessa forma conseguiria recuperar a diversidade característica do grupo.

Outra hipótese é que a espécie tem baixa diversidade gênica devido a eventos históricos como gargalos populacionais. Dessa forma toda a espécie tem como característica a baixa diversidade gênica e uma maneira de salvar a espécie da extinção seria preservar os abrigos e as populações existentes. Essa baixa diversidade é interessante, pois talvez seja análoga à baixa diversidade gênica do guepardo, *Acinonyx jubatus*, que sofreu um evento de gargalo populacional provavelmente no Pleistoceno, acumulando uma variabilidade de 90% a 99% menor que em outros felinos (Menotti-Raymond e O'Brien, 1993), o que levou a espécie a susceptibilidade a doenças, problemas para se reproduzir como uma concentração

de espermatozoides no líquido espermático dez vezes menor que em gatos domésticos e 70% dos espermatozoides morfologicamente anormais (O'Brien et al 1985). Os mesmos problemas para se reproduzir podem incidir ou até mesmo já estarem incidindo sobre a espécie *L. dekeyseri*, levando a espécie para um “genetic meltdown”.

Esse estudo mostra que as populações de *L. dekeyseri* do Distrito Federal podem ser manejadas de forma a combinar indivíduos apenas das cavernas do Distrito Federal, pois as três cavernas possuem indivíduos com o mesmo perfil gênico. Uma sugestão seria transferir machos da caverna I para a caverna III. A população de *L. dekeyseri* do Piauí, entretanto, deve ser tratada como uma unidade evolutiva significativa à parte, pois se mostra muito diferente geneticamente por acumular mutações distintas ao longo do seu processo evolutivo.

Os dados de diversidade gênica encontrados para a espécie *L. dekeyseri* indicam que essa espécie está em risco. Apesar das dificuldades de coleta por ser esta uma espécie rara, seria interessante aumentar a amostragem geográfica para comparar esses dados com os de outras populações de *L. dekeyseri* e observar se essa baixa diversidade gênica também se observa nas mesmas. Com dados de diversidade gênica de outras populações geograficamente distintas poder-se-ia criar um plano de manejo mais complexo, permutando indivíduos de diferentes populações.

Também seria importante analisar seqüências de outros genes e comparar dados morfométricos a fim de concluir se os espécimes amostrados do Piauí pertencem a uma outra espécie.

Usando-se de DNA Barcoding observou-se que sete dos 52 espécimes seqüenciados portam haplótipos que são característicos da espécie *Glossophaga soricina* (Figura 5), incluído o espécime do Mato Grosso do Sul. Esse resultado pode ser devido a uma introgressão dos genes de *Glossophaga* nas populações de *L. dekeyseri* a partir de cruzamentos interespecíficos, ou podem ter ocorrido erros na identificação dos exemplares na coleta de campo. Hibridização normalmente ocorre em espécies próximas (Coyne e Orr, 2004), logo, a segunda explicação é mais viável que a primeira, dada a grande divergência gênica entre *L. dekeyseri* e *G. soricina*. Para sanarmos tais dúvidas, provavelmente seria necessária a confirmação da espécie destes seis indivíduos por caracteres morfométricos (por exemplo, no exemplar de Mato Grosso do Sul), caso haja exemplares testemunho coletados. Já para os exemplares que foram soltos após a coleta de um pedaço do uropatágio, seria necessário o sequenciamento de genes nucleares para ser excluída a hipótese de hibridização. A expectativa seria que indivíduos híbridos destas espécies teriam o DNA nuclear de ambas as espécies na F1, e potencialmente uma proporção crescente de DNA nuclear de *L. dekeyseri* na F2, supondo uma introgressão crescente dos híbridos com esta espécie.

Ainda usando-se de DNA Barcoding foi possível excluir a possível hipótese de a população do Piauí ser da espécie *Xeronycteris vieirai*. Na figura 6, gerada com análise de Máxima Parcimônia, a espécie *Xeronycteris vieirai* descrita recentemente da Paraíba se mostra mais aparentada com a espécie *L. dekeyseri* (indivíduos m174, m178, LDPI e LD76). Tal relação filogenética também é um dado novo, pois de acordo com Gregorin e Ditchfield (2005), baseados em dados morfométricos, o gênero *Xeronycteris* seria grupo irmão de *Platalina*, com *Lonchophylla* como grupo irmão de *Platalina* e *Xeronycteris*, e ainda *Lionycteris* como grupo basal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, L. M. S. **Estudo das Comunidades de Morcegos em Mata de Galeria e Cerrado**: sensu stricto em Unidades de Conservação do Distrito Federal. 2000. Tese (Doutorado em Ecologia) Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília. 2000.
- ARITA, H. T.; SANTOS DEL PRADO, K. The conservation of nectar-feeding bats in Mexico. **Journal of Mammalogy**, 80, 31-41. 1999.
- BREDT, A.; UIEDA, W.; MAGALHÃES, E. D. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista Brasileira de Zoologia**. 16(3):731-770. 1999.
- BREMER, K. Branch support and tree stability. **Cladistics** 10:295–304. 1994.
- BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. **Molecular genetic analyses of populations**. Editora Oxford. 1992.
- BUCHMANN, S. L.; NABHAN E. G. P. **The Forgotten Pollinators**. Editora Island, California. 1996.
- CLARE E. L.; LIM B. K.; ENGSTROM M. D.; EGER J. L.; HEBERT P. D. N. DNA Barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. **Molecular Ecology**. 7, 184-190. 2007.
- COYNE, J. A.; ORR H. A. **Speciation**. Sinauer Associates, Sunderland. 2004.
- DÁVALOS, L. M.; JANSA, S. A. Phylogeny of the Lonchophyllini (Chiroptera: Phyllostomidae). **Journal of Mammalogy** 85(3):404–413. 2004.
- DITCHFIELD, A. D. **Phylogeography of Neotropical bats using mitochondrial DNA sequences**. 1996. Tese (PHD). Universidade da Califórnia, Berkeley. 1996.
- DITCHFIELD, A. D. The comparative phylogeography of Neotropical mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals. **Molecular Ecology**, 9, 1307–1318. 2000.
- ERIKSSON, T. **AutoDecay** ver. 4.0. Bergius Foundation, Royal Swedish Academy of Sciences, Stockholm, Suécia. 1999.
- EWING, B.; HILLIER L.; WENDL M.; GREEN P. Basecalling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. **Genome Research** 8:175-185. 1998.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution** 39: 783-791. 1985.

GARDNER, A. L. Feeding habits, p. 307-309. In: BAKER, R. J.; JONES JR. J. K.; CARTER, D. C. (Eds). **Biology of bats of the New World family Phyllostomidae Par II**. Special Publications of The Museum Texas Tech University, Austin, 13: 1-364. 1977.

GENBANK. c2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 21 nov. 2006.

GORDON D.; ABAJIAN C.; GREEN P. Consed: a graphical tool for sequence finishing. **Genome Research** 8:195-202. 1998.

GREEN, P. **PHRAP**. c.1994. Disponível em: <[www.genome.washington.edu/UWGC/analysistools/phrap.htm](http://www.genome.washington.edu/UWGC/analysistools/phrap.htm)>. Acesso em 15 nov. 2006.

GREGORIN, R.; DITCHFIELD, A. D. New Genus and Species of Nectar-feeding Bat in the Tribe Lonchophyllini (Phyllostomidae: Glossophaginae) from Northeastern Brazil. **Journal of Mammalogy**, 86(2): 403-414. 2005.

GRIFFITHS, T. A. Systematics of the new world nectar-feeding bats (Mammalia: Phyllostomidae) based on the morphology of the hyoid and lingual regions. **American Museum Novitates** 2742: 1-45. 1982.

HEITHAUS, E. R.; FLEMING, T. H.; OPLER, P. A. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. **Ecology**, v.56, p.841-854. 1975.

HERBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL S. I. L.; DEWAARD, J.R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London** 270: 313-322. 2003.

HEBERT, P. D. N.; STOECKLE, M. Y.; ZEMLAK, T. S.; FRANCIS, C. M. Identification of Birds through DNA Barcodes. **Plos Biology**. Vol.2, 10: 1657-1663. 2004.

IUCN. 2003 **IUCN Red List of Threatened Species**. 2003.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A Conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**. V. 1, Julho 2005.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. **Briefings in Bioinformatics** 5:150-163. 2004.

LEMKE, T. O. Foraging ecology of the Long-nosed Bat, *Glossophaga soricina*, with respect to resource availability. **Ecology** 65: 538–548. 1984.

LIM, B. K.; ENGSTROM, M. D.; LEE T. E.; PATON, J. C.; BICKHAM, J. W. Molecular differentiation of large species of fruit-eating bats (*Artibeus*) and phylogenetic relationships based on the cytochrome b gene. **Acta Chiropterologica**, 6, 1–12.2004.

MENOTTI-RAYMOND, M.; O'BRIEN, S. J. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **Genetics**, Vol. 90, p. 3172-3176.1993.

NOVAK, R.M. **Walker's Mammals of the World**. vol.1. 5<sup>a</sup> ed Baltimore, Editora The Johns Hopkins University . 568p.1991.

O'BRIEN, S. J.; ROELKE, M. E .; MARKER, L.; NEWMAN, A.; WINKLER, C. A.; MELTZER, D.; COLLY, L.; EVERMENN, J. F.; BUSH, M.; WILDT, D. E. Genetic Basis for Species Vulnerability in the Cheetah. **Science**, Vol. 227, p 1428-1434. 1985.

REIS, N. R DOS; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. DE. **Mamíferos do Brasil**. Londrina. 2006.

RUBINOFF, D. Utility of Mitochondrial DNA Barcodes in Species Conservation. **Conservation Biology**. Vol. 20, N<sup>o</sup> 4, 1026-1033. 2005.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W.; SAMBROOK, J. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3.Ed. Editora CSHL , Nova York EUA.2001.

SIMMONS, N. B. **Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference**, Third Edition, Volume 1 (D.E. Wilson and D.M Reeder, eds.). Editora Johns Hopkins University. 2005.

SOLÉ-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: Matioli SR (ed) **Biologia Molecular e Evolução**. Holos Editora, Ribeirão Preto, p 172-192. 2001.

SWOFFORD, D. L. PAUP: A computer program for phylogenetic inference using maximum parsimony. (Forty-seventh Annual Meeting of the Society of General Physiologists, Woods Hole, Massachusetts, EUA, Setembro 8-11, 1993. ) **Journal of General Physiology** 102(6): 9A. 1993.

TADDEI, V. A.; VIZOTTO, L. D.; SAZIMA, I. Uma nova espécie de *Lonchophylla* do Brasil e Chave para identificação das espécies do gênero (Chiroptera, Phyllostomidae). **Ciência & Cultura** 35 (5): 625-629. 1983.

WILSON, D. E. Bat faunas: a trophic comparison. **Systematic Zoology**. 22:14-29. 1973.

## ANEXO

**Tabela A.** Espécimes seqüenciados com seus respectivos haplótipos e localidades de captura.

<b>Número de campo</b>	<b>Haplótipo</b>	<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>
276	Não analisado		Caverna 2
309v	Não analisado		Caverna 2
101	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
109c	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
111c	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
117c	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
180	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
258	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
262	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
308v	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
c97	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
100c	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
110	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
c121	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
c125	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
c126	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
171	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
172	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
176	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
259	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
264	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
265	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
266	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
267	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
269	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
700	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
LD	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
174	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
182	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
307v	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
311v	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
130 <sup>a</sup>	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2



---

132 <sup>a</sup>	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
132	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 3
176 <sup>a</sup>	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 3
183 <sup>a</sup>	Haplótipo A	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 1
169	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
178	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
179	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
301v	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
302v	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
303v	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
312v	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 2
186 <sup>a</sup>	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 1
201	Haplótipo B	<i>L.dekeyseri</i>	Caverna 1
LD76	Haplótipo C	<i>L.dekeyseri</i>	Piauí
LDPI	Haplótipo D	<i>L.dekeyseri</i>	Piauí
343v		<i>G. soricina</i>	Caverna 1
337v		<i>G. soricina</i>	Caverna 1
136 <sup>a</sup>		<i>G. soricina</i>	Caverna 2
257		<i>G. soricina</i>	Caverna 2
272		<i>G. soricina</i>	Caverna 2
273		<i>G. soricina</i>	Caverna 2
LDMS		<i>G. soricina</i>	Bonito - MS
RZ52		<i>Artibeus lituratus</i>	Barcelos – AM

---

**Tabela B.** Lista de espécimes cujas seqüências foram retiradas do GenBank.

<b>Número de acesso no GenBank</b>	<b>Espécie</b>
AF423101	<i>Platalina genovensium</i>
AF423100	<i>Lionycteris spurrelli</i>
AF423099	<i>Lionycteris spurrelli</i>
AF423098	<i>Lionycteris spurrelli</i>
AF423097	<i>Lionycteris spurrelli</i>
AF423096	<i>Lionycteris spurrelli</i>
AF423095	<i>Lonchophylla mordax</i>
AF423094	<i>Lonchophylla handleyi</i>
AF423093	<i>Lonchophylla handleyi</i>
AF423092	<i>Lonchophylla chocoana</i>
AF423091	<i>Lonchophylla robusta</i>
AF423090	<i>Lonchophylla robusta</i>
AF423089	<i>Lonchophylla robusta</i>
AF423088	<i>Lonchophylla robusta</i>
AF423087	<i>Lonchophylla robusta</i>
AF423086	<i>Lonchophylla thomasi</i>
AF423085	<i>Lonchophylla thomasi</i>
AF423084	<i>Lonchophylla thomasi</i>
AF423083	<i>Lonchophylla thomasi</i>
AF423082	<i>Lonchophylla thomasi</i>
AF187034	<i>Lonchophylla thomasi</i>
AF382889	<i>Leptonycteris curasoae</i>
AF382888	<i>Monophyllus redmani</i>
AF382887	<i>Monophyllus plethodon</i>
AF382886	<i>Glossophaga commissarisi</i>
AF382885	<i>Glossophaga commissarisi</i>
AF382884	<i>Glossophaga commissarisi</i>
AF382883	<i>Glossophaga commissarisi</i>
AF382882	<i>Glossophaga morenoi</i>
AF382881	<i>Glossophaga morenoi</i>
AF382880	<i>Glossophaga morenoi</i>
AF382879	<i>Glossophaga morenoi</i>

---

AF382878	<i>Glossophaga leachi</i>
AF382877	<i>Glossophaga leachi</i>
AF382876	<i>Glossophaga leachi</i>
AF382875	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382874	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382873	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382872	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382871	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382870	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382869	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF382868	<i>Glossophaga longirostris</i>
AF423081	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382867	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382866	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382865	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382864	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382863	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382862	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382861	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382860	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382859	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382858	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382857	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382856	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382855	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382854	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382853	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382852	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382851	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382850	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382849	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382848	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382847	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382846	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382845	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382844	<i>Glossophaga soricina</i>

---

---

AF382843	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382842	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382841	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382840	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382839	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382838	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382837	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382836	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382835	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382834	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382833	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382832	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382831	<i>Glossophaga soricina</i>
AF382830	<i>Glossophaga soricina</i>
AY604462	<i>Mormoops blainvillii</i>
AF511991	<i>Carollia perspicillata</i>
DQ077398	<i>Desmodus rotundus</i>
DQ233669	<i>Trachops cirrhosus</i>

---