

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

TAINÁ OTTONI BORGES IGREJA RAMOS

**TAXONOMIA MOLECULAR DE MORCEGOS (CHIROPTERA: MAMMALIA) EM
TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA.**

Recife

2016

TAINÁ OTTONI BORGES IGREJA RAMOS

**TAXONOMIA MOLECULAR DE MORCEGOS (CHIROPTERA: MAMMALIA) EM
TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Augusto Torres

Recife
2016

Catalogação na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Ramos, Tainá Ottoni Borges Igreja

Taxonomia molecular de morcegos (Chiroptera: Mammalia) em três unidades de conservação da caatinga / Tainá Ottoni Borges Igreja. – Recife, 2016.

72 f. : il.

Orientador: Rodrigo Augusto Torres

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Pós-graduação em Biologia Animal, Recife, 2016.

Inclui referências

1. Morcegos 2. Caatinga I. Torres, Rodrigo Augusto (orient.) II. Título.

599.4

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-534

TAINÁ OTTONI BORGES IGREJA RAMOS

**TAXONOMIA MOLECULAR DE MORCEGOS (CHIROPTERA: MAMMALIA) EM
TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Animal.

Data de aprovação em: 31/10/2016

COMISSÃO EXAMINADORA:

Dr. Rodrigo Augusto Torres (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Ricardo Moratelli Mendonça da Rocha (1º Titular)
Fundação Oswaldo Cruz – Presidência – Campus Fiocruz Mata Atlântica

Dr. Luciano Nicolás Naka (2º titular)
Departamento de Zoologia – Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Astúa de Moraes (3º titular)
Departamento de Zoologia – Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Pedro Murilo Sales Nunes (Suplente interno)
Departamento de Zoologia – Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Neide Santos (Suplente externo)
Departamento de Genética – Universidade Federal de Pernambuco

RECIFE
2016

A minha avó Safira†,
uma homenagem à pessoa que
mais investiu nos meus estudos!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter permitido que eu chegasse até aqui e por ter me sustentado na fé. Nele encontrei descanso e força nos momentos mais difíceis durante esses dois anos. Aos meus pais por todo investimento e por ter ficado ao meu lado em todos os momentos dessa caminhada. Obrigada por todos os conselhos e palavras de ânimo.

Agradeço ao meu orientador Dr. Rodrigo A. Torres, por todo acompanhamento e mentoreio. Por todas as horas a mim concedidas em pleno sábado à tarde e pelas boas risadas nos momentos de maior estresse. Agradeço ao Dr. Enrico Bernard pela co-orientação e direcionamento acadêmico. Obrigada pelos sábios conselhos e por ter me escutado no momento que mais precisei.

Agradeço ao CNPq pelo financiamento do projeto e à Facepe pela bolsa a mim concedida durante esses dois anos.

Agradeço a todos do LAGEA. Obrigada pelos laços de amizade que formamos. Por fazer a rotina do laboratório mais leve. Vocês foram os primeiros a se alegrar comigo nas PCRs de sucesso, e os primeiros a pensar comigo nas soluções das que não davam certo. Agradeço também ao Ms. Éder pelos vários dias me ajudando a identificar os morcegos. Obrigada pela disposição em me ajudar e pelas conversas super produtivas sobre meu trabalho.

Agradeço também a minha família pelo apoio e por ter entendido minha ausência em alguns momentos. Obrigada tia Mônica e tio Demir por topo apoio no momento que mais precisei. Vocês são como pais para mim.

Obrigada a “meu Di” por todas as conversas, pelo ouvido sempre atento aos desabafos e estresses de um fim de mestrado, por sempre fazer eu me sentir melhor e por me incentivar a prosseguir. Você é o melhor namorado do mundo.

Agradeço a todos os meus bispos, pastores e amigos que estiveram ao meu lado durante todo esse tempo. Obrigada pelas palavras de ânimo e por entender meu quase completo sumiço neste fim de mestrado.

A todos os que contribuíram direta ou indiretamente, seja academicamente, seja emocionalmente, meu muito obrigada! Amo vocês.

*“Só se preserva aquilo que se ama,
só se ama aquilo que se conhece.”*

Aloísio Magalhães

RESUMO

Estudos recentes têm revelado a grande importância da Caatinga, apresentando singularidades como a maior riqueza biológica entre as florestas secas do mundo. Neste cenário, os morcegos têm enorme importância por realizar funções ecológicas fundamentais (polinização; dispersão de sementes; controle de insetos herbívoros), favorecendo a manutenção da dinâmica eco/evolutiva da Caatinga. Uma das maiores ameaças aos pequenos mamíferos brasileiros é o desconhecimento taxonômico e sistemático, já que linhagens crípticas podem ser abrigadas em táxons definidos pela taxonomia tradicional. Assim, este trabalho objetiva testar a coesão taxonômica de espécies de morcegos de três Unidades de Conservação da Caatinga (Nordeste do Brasil) por meio de uma abordagem molecular. Exemplares da ordem Chiroptera foram amostrados em três Unidades de Conservação: Estações ecológicas do Seridó (Rio Grande do Norte), Raso da Catarina (Bahia) e Parque Nacional do Catimbau (Pernambuco). Foram obtidas sequências dos genes mitocondriais Citocromo Oxidase subunidade I (COI) e Citocromo b (Citb). Além disso, foram obtidas sequências adicionais para ambos os genes, disponíveis no Genbank e Bold. Foram feitas análises de Neighbor joining, Inferência Bayesiana e Rede Haplótipica, além de distância genética. Os resultados para Citb e COI se mostraram semelhantes e confirmaram a ocorrência de várias espécies, apontaram para algumas controvérsias taxonômicas em termos filogenéticos, bem como evidências de divisão populacional e possíveis espécies crípticas. Este estudo aponta que estas UCs se apresentam como reservatórios de diversidades escondidas de morcegos. Além disso, indica-se uma investigação mais detalhada de algumas espécies devido a inconsistências taxonômicas, bem como a necessidade de uma investigação adicional com outras regiões genômicas de evolução mais rápida, a fim de poder capturar sinais mais efetivos daquelas fenômenos de divisão populacional observados.

Palavras chave: Chiroptera. Conservação. DNA Barcoding. mtDNA.

ABSTRACT

Recent studies have revealed the great importance of the Caatinga, presenting singularities as the greatest biological richness among the dry forests of the world. In this scenario, bats are extremely important because they perform fundamental ecological functions (pollination, seed dispersion, control of herbivorous insects), favoring the maintenance of the eco-evolutionary dynamics of the Caatinga. One of the greatest threats to small Brazilian mammals is the taxonomic and systematic ignorance, since cryptic lineages can be sheltered in taxa defined by the traditional taxonomy. Thus, this work aims to test the taxonomic cohesion of species of bats from three Caatinga Conservation Units (Northeast Brazil) through a molecular approach. Specimens of the order Chiroptera were sampled in three Conservation Units: Seridó Ecological stations (Rio Grande do Norte), Raso da Catarina Ecological stations (Bahia) and Catimbau National Park (Pernambuco). Mitochondrial sequences were obtained from Cytochrome Oxidase subunit I (COI) and Cytochrome b (Cytb). In addition, additional sequences were obtained for both genes, available from Genbank and Bold. Analyzes of Neighbor joining, Bayesian Inference and Haplotype Network were performed, as well as genetic distance. The results for Cytb and COI were similar and confirmed the occurrence of several species, pointed to some taxonomic controversies in phylogenetic terms, as well as evidence of population division and possible cryptic species. This study points out that these UCs present themselves as reservoirs of hidden diversities of bats. In addition, a more detailed investigation of some species is indicated due to taxonomic inconsistencies, as well as the necessity of an additional investigation with other genomic regions of faster evolution, in order to capture more effective signals of the observed phenomena of population division.

Key-words: Chiroptera. Conservation. DNA Barcoding. mtDNA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – MAPA DA AMÉRICA DO SUL COM DESTAQUE PARA AS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO AMOSTRADAS NA CAATINGA (BRASIL): ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO SERIDÓ (PARAÍBA), PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU (PERNAMBUCO), ESTAÇÃO ECOLÓGICA RASO DA CATARINA (BAHIA).....11
- FIGURA 2 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (A1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (A2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES.....11
- FIGURA 3 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (B1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (B2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES.....11
- FIGURA 4 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (C1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (C2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES.....11
- FIGURA 5 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (D1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (D2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES.....11

- FIGURA 6 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (E1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (E2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES 11
- FIGURA 7 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (F1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (F2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES 11
- FIGURA 8 – TOPOLOGIAS DE INFERÊNCIAS BAYESIANA OBTIDAS À PARTIR DE 739 PB DE CITOCLORO B (G1) E 621 PB DE CITOCLORO OXIDASE I (G2), ENTRE OS EXEMPLARES DE MORCEGOS AMOSTRADOS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA (PHAN^º) E OS OBTIDOS NO GENBANK E BOLD. OS VALORES SOBRE OS RAMOS INDICAM O SUPORTE DE RAMO DAS PROBABILIDADES POSTERIORES 11
- FIGURA 9 – REDE HAPLOTÍPICA OBTIDA PELAS SEQUÊNCIAS DE CITOCLORO OXIDASE I DE MORCEGOS, APRESENTANDO AS RELAÇÕES GENEALÓGICAS ENTRE OS HAPLÓTIPOS DOS INDIVÍDUOS AMOSTRADOS (PHAN^º) E DAS SEQUÊNCIAS OBTIDAS NO BOLD. CADA COR REPRESENTA A ESPÉCIE DO HAPLÓTIPO ENCONTRADO. O TAMANHO DOS CÍRCULOS É PROPORCIONAL À FREQUÊNCIA DOS HAPLÓTIPOS, E OS TRAÇOS E NÚMEROS SOBRE AS LINHAS QUE OS CONECTAM REPRESENTAM O NÚMERO DE MUTAÇÕES PRESENTE ENTRE ELES 11
- FIGURA 10 – REDE HAPLOTÍPICA OBTIDA PELAS SEQUÊNCIAS DE CITOCLORO OXIDASE I DE MORCEGOS, APRESENTANDO AS RELAÇÕES GENEALÓGICAS ENTRE OS HAPLÓTIPOS DOS INDIVÍDUOS AMOSTRADOS (PHAN^º) E DAS SEQUÊNCIAS OBTIDAS NO BOLD. CADA COR REPRESENTA A ESPÉCIE DO HAPLÓTIPO ENCONTRADO. O TAMANHO DOS CÍRCULOS É PROPORCIONAL À FREQUÊNCIA DOS HAPLÓTIPOS, E OS TRAÇOS E

NÚMEROS SOBRE AS LINHAS QUE OS CONECTAM REPRESENTAM O NÚMERO DE MUTAÇÕES PRESENTE ENTRE ELES11

FIGURA 11 – REDE HAPLOTÍPICA OBTIDA PELAS SEQUÊNCIAS DE CITOCHROMO OXIDASE I DE MORCEGOS, APRESENTANDO AS RELAÇÕES GENEALÓGICAS ENTRE OS HAPLÓTIPOS DOS INDIVÍDUOS AMOSTRADOS (PHANº) E DAS SEQUÊNCIAS OBTIDAS NO BOLD. CADA COR REPRESENTA A ESPÉCIE DO HAPLÓTIPO ENCONTRADO. O TAMANHO DOS CÍRCULOS É PROPORCIONAL À FREQUÊNCIA DOS HAPLÓTIPOS, E OS TRAÇOS E NÚMEROS SOBRE AS LINHAS QUE OS CONECTAM REPRESENTAM O NÚMERO DE MUTAÇÕES PRESENTE ENTRE ELES11

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES AMOSTRADAS NAS TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA. AS MORFOLÓGICAS FORAM FEITAS BASEADAS EM CHAVES DE IDENTIFICAÇÃO PARA ESPÉCIES DE MORCEGOS NEOTROPICAIS. A IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR FOI FEITA BASEADA NOS GENES MITOCONDRIAIS CITOCROMO OXIDADE I E CITOCROMO B	11
TABELA 2 – ESPÉCIES DE MORCEGOS DESTE TRABALHO COM SUAS CORRESPONDÊNCIAS NO <i>BARCODE INDEX NUMBER</i> (BIN) E O NÉMERO TOTAL DE BINS ENCONTRADOS PARA CADA ESPÉCIE NO GERAL	11
TABELA 3 – ESPÉCIES DE MORCEGOS COM SEQUÊNCIAS DESTE TRABALHO E DO BOLD, ANALISADAS PELO MÉTODO DE DISTÂNCIA K2P PARA CITOCROMO OXIDADE I COM AS MÉDIAS DAS DISTÂNCIAS INTRAESPECÍFICAS E AS MÁXIMAS DISTÂNCIAS INTRAESPECÍFICAS.....	11
TABELA 4 – ESPÉCIES DE MORCEGOS COM SEQUÊNCIAS DESTE TRABALHO E DO BOLD, ANALISADAS PELO MÉTODO DE DISTÂNCIA K2P PARA CITOCROMO OXIDADE I COM AS MÉDIAS DAS DISTÂNCIAS INTRAESPECÍFICAS ENTRE E DENTRO DOS GRUPOS AMÉRICA CENTRAL, AMÉRICA DO SUL E BRASIL	11
TABELA 5 – ESPÉCIES DE MORCEGOS COM SEQUÊNCIAS DESTE TRABALHO E DO BOLD, ANALISADAS PELO MÉTODO DE DISTÂNCIA K2P PARA CITOCROMO OXIDADE I COM AS MÉDIAS DAS DISTÂNCIAS ENTRE AS ESPÉCIES	11
TABELA 6 – SEQUÊNCIAS DE <i>MICRONYCTERIS MEGALOTIS</i> E <i>MICRONYCTERIS MICROTIS</i> DESTE TRABALHO E DO BOLD, ANALISADAS PELO MÉTODO DE DISTÂNCIA K2P PARA CITOCROMO OXIDASE I COM AS MÉDIAS DAS DISTÂNCIAS ENTRE OS CLADOS E AS MÉDIAS DAS DISTÂNCIAS DENTRO DOS CLADOS. AS SEQUÊNCIAS FORAM DIVIDIDAS EM 8 CLADOS CONFORME OBSERVADO NA TOPOLOGIA DE INFERÊNCIA BAYESIANA PARA CITOCROMO OXIDASE I.....	11

**TABELA 7 – ESPÉCIES DE MORCEGOS AS QUAIS TIVERAM IDENTIFICAÇÃO
MOLECULAR INCONCLUSIVA COM OS CARACTERES DIAGNÓSTICOS
UTILIZADOS PARA A NOVA IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA.....11**

SUMÁRIO

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
1.1 CAATINGA	15
1.2 MORCEGOS	17
1.3 TAXONOMIA	18
1.4 JUSTIFICATIVA	20
1.5 OBJETIVOS	21
1.5.1 Objetivo geral	21
1.5.2 Objetivos específicos	21
REFERÊNCIAS	22

1 ARTIGO TAXONOMIA MOLECULAR DE MORCEGOS (CHIROPTERA: MAMMALIA) EM TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA.....	27
2 RESUMO	27
3 INTRODUÇÃO	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 AMOSTRAGEM	30
4.2 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR	30
5 RESULTADOS	33
6 DISCUSSÃO	36
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
FIGURAS	45
TABELAS	55
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	56
REFERÊNCIAS.....	66

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 CAATINGA

A Caatinga é o único bioma que ocorre exclusivamente no Brasil. Ocupando cerca de 10% (844.453Km²) do território nacional, se estende por todo o estado do Ceará, quase todo território do Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, mais da metade da Bahia e Piauí, quase a metade de Alagoas e Sergipe, e cerca de 2% do norte de Minas Gerais e 1% do Maranhão (IBGE, 2004).

Durante muito tempo se sugeriu uma baixa diversidade de fauna e flora para a Caatinga, no entanto, estudos têm revelado uma alta biodiversidade e têm demonstrado a importância ecológica da região (Albuquerque et al., 2012; Oliveira et al., 2003; Pedrosa et al., 2014; Prado, 2003; Rodrigues, 2003; Silva et al., 2003). Embora a diversidade em regiões secas seja menor que em florestas tropicais, por exemplo, as características peculiares com condições extremas proporcionam uma fauna e flora extremamente adaptadas, gerando uma alta taxa de endemismo na Caatinga (Leal et al., 2003). Em plantas lenhosas e suculentas, por exemplo, 34% das espécies são endêmicas (Giulietti, 2004a). Já entre os peixes esse valor chega a 57% (Rosa et al., 2003). Em mamíferos encontra-se uma baixa taxa de endemismo, no entanto estudos para esse grupo ainda são escassos nesta região (Oliveira et al., 2003).

Atualmente sabe-se que o bioma abriga cerca de 178 espécies de mamíferos, 591 de aves, 177 de répteis, 79 espécies de anfíbios, 241 de peixes e 221 abelhas (MMA, 2015), além de 932 espécies vegetais (Giulietti, 2004a). Essa biodiversidade tem um importante potencial na prestação de serviços ambientais, sendo relevante para a economia da região, principalmente nos ramos farmacêutico, de cosméticos, químico e alimentício (Prado, 2003).

Apesar de toda a relevância biológica e econômica a Caatinga é um dos biomas menos conhecidos e mais ameaçados do país. Tabarelli e Vicente (2004), estimaram que cerca de 41% da região nunca foi estudada e 80% estão subamostradas. A região tem sido fortemente antropizada e seus recursos utilizados de forma insustentável. Além disso, a conversão de grandes áreas em pastagens e

com fins de agricultura tem contribuído para o processo acelerado de desmatamento da região (Giulietti et al., 2004b; MMA, 2015). O Ministério do Meio Ambiente (MMA) estimou em que cerca de 46% da região já foi desmatada, formando uma paisagem altamente fragmentada. Hoje em dia poucos fragmentos são maiores que 10 mil hectares e, estes, estão concentrados na Bahia e Piauí. Esta deterioração ambiental tem reduzido significativamente a biodiversidade, eliminando processos ecológicos evolutivos importantes (Leal et al., 2003).

Assim como a Caatinga, vários biomas pelo mundo encontram-se ameaçados, colocando em risco a biodiversidade. O estabelecimento de áreas de proteção ambiental, como as Unidades de Conservação tem sido a principal ferramenta de conservação da biodiversidade, cobrindo cerca de 11,5% da superfície terrestre. No Brasil, as unidades de conservação recobrem cerca de 8% do território nacional, distribuídos entre todos os biomas (Bensusan, 2006).

Dentre as Unidades de Conservação as da categoria de Proteção Integral é indispensável na conservação da biodiversidade por causa do papel que exercem. Segundo a lei 9.985(18/07/2000) que institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza (SNUC), estas áreas objetivam a preservação da natureza, permitindo apenas o uso indireto dos recursos naturais. Dentre as áreas de Proteção Integral estão os parques nacionais que têm como objetivo a preservação de ecossistemas naturais de grande importância ecológica e beleza cênica, onde pode ocorrer pesquisa científica, atividades de educação ambiental, recreação e turismo ecológico. E as Estações Ecológicas que, por sua vez, são fechadas ao público, exceto para educação ambiental, têm como objetivo a preservação da natureza e a realização de pesquisas científicas.

A Caatinga tem o menor número e a mais baixa extensão de áreas protegidas entre todos os biomas terrestres brasileiros (Leal et al., 2005). Cerca de 8.76% (7.397.946 ha) da área total do bioma é protegida com Unidades de Conservação Federais, Estaduais e RPPNs. Dentre estas Unidades, apenas 12% são de Proteção Integral, o que corresponde a pouco mais de 1% da área total da Caatinga (Hauff, 2010).

1.2 MORCEGOS

A ordem Chiroptera (gr. *chiro* = mão; *ptero* = asa) é representada pelos morcegos, únicos mamíferos capazes de realizar voo verdadeiro devido aos membros anteriores modificados em asas. Essa capacidade de voo, associada ao sistema de ecolocalização, permitiu a esses animais a exploração de variados nichos (Jones e Teeling, 2006; Simmons, 2005). Tais características resultaram em uma ampla distribuição geográfica do grupo, que ocorre em todos os continentes, exceto na Antártica (Simmons e Conway, 2003).

Os morcegos são considerados excelentes modelos ecológicos no estudo da biodiversidade devido, entre outras coisas, alta diversidade biológica, adaptações morfológicas e histórias biogeográficas únicas (Arita et al., 2014). Eles são o segundo grupo de mamíferos mais rico em espécies do mundo (Paglia et al., 2012), representando cerca de 25% das espécies conhecidas de mamíferos (Simmons, 2005). O grupo apresenta também uma alta diversidade nos hábitos alimentares, tais como nectarívoros, frugívoros, insetívoros, onívoros, carnívoros, piscívoros e sanguívoros (Kalko et al., 1996; Simmons e Conway, 2003). As interações biológicas resultantes de tais hábitos alimentares fazem dos morcegos um importante prestador de serviços ambientais tais como polinização, dispersão de sementes e controle de insetos herbívoros (Reis et al., 2007).

Atualmente existem descritas cerca de 1200 espécies de morcegos no mundo (Simmons, 2005). A região Neotropical concentra a maior diversidade do grupo devido à disponibilidade de recursos na região, cerca de 400 espécies (Altringham, 1996; Gardner, 2008; Pereira e Palmerin, 2013; Teeling et al., 2005).

A ordem é considerada uma das mais bem sucedidas radiações dentre os mamíferos sul-americanos (Lim, 2009; Springer et al., 2011) e apresenta cerca de 249 espécies descritas para o continente (Gardner, 2008). No Brasil, existem 178 espécies e 68 gêneros, distribuídos em nove famílias (Nogueira et al., 2014), com representantes de todos os hábitos alimentares conhecidos para a ordem (Reis et al., 2007). Dentre os mamíferos brasileiros, a riqueza da fauna de quirópteros só fica atrás da ordem Rodentia (Reis et al., 2007).

Apesar da alta riqueza de morcegos no Brasil e da grande importância ecológica do grupo, o conhecimento sobre a ordem ainda é muito baixo no país. Segundo Bernard et al. (2010), apenas 10% do território nacional é considerado minimamente amostrado e quase 60% não possuiu registro de morcegos. Para a Caatinga, esta realidade se torna ainda mais preocupante tendo em vista as poucas pesquisas no bioma e as fortes pressões antrópicas a qual a região está submetida. A fauna de morcegos não apresenta uma amostragem considerada minimamente satisfatória em cerca de 93% da região (Bernard et al., 2010).

O pouco conhecimento científico básico, como história natural, distribuição, sistemática e taxonomia, representa um risco à preservação das espécies (Costa et al., 2005). O avanço em tais áreas, bem como a implementação de medidas conservacionistas nos diversos biomas, parte de uma identificação precisa das espécies, tendo em vista que cada táxon exige minimamente algo de diferente dos ecossistemas.

1.3 TAXONOMIA

A taxonomia é uma ciência base de vários ramos da biologia, e que proporciona a identificação, descrição e nomeação dos organismos, além de permitir sua ordenação em um sistema de classificação (Wheeler, 2008). A taxonomia tradicional, baseada em caracteres morfológicos, está presente, em sua essência, desde os primórdios da humanidade quando esta ainda não era estabelecida como ciência (Miranda, 2005).

A taxonomia tradicional apresenta algumas limitações. A baixa quantidade de especialistas em diversos grupos tem levado a uma lentidão no processo de descrição das espécies. Além disso, a plasticidade fenotípica de alguns caracteres, a existência de espécies crípticas, bem como a escassez de chaves taxonômicas de identificação de espécimes imaturos, tem levado a identificações errôneas das espécies (Hebert et al., 2003a). Desta forma, abordagens complementares têm sido promovidas a fim de elucidar esses problemas, tais como as abordagens moleculares.

Tautz et al., (2003) mostrou a importância dos pesquisadores desenvolverem e utilizarem marcadores moleculares afim de proporcionar uma identificação mais acurada de táxons controversos ou pouco estudados, juntamente com a diagnose morfológica. Na taxonomia molecular uma das iniciativas de maior sucesso tem sido o DNA barcode, que tem como objetivo distinguir e identificar espécies a partir de uma sequência padrão do DNA mitocondrial, o gene citocromo oxidase subunidade I (COI) (Hebert et al., 2003a,b). A perspectiva otimista da utilização desse marcador molecular fez surgir o consórcio *Barcode of life* (CBOL). Com o intuito de desenvolver códigos de barra padrão da vida, cada organismo teria sua sequência de COI depositada na plataforma *online Barcode of Life Data System* (BOLD), gerando assim um grande banco de dados de sequências das mais variadas espécies. Esta iniciativa foi especialmente importante, visto que a comparação das sequências obtidas com as depositadas nesse banco de dados permite a rápida identificação das espécies (Ratnasingham et al., 2007). Em morcegos, essa ferramenta tem sido amplamente utilizada na identificação de espécimes, registro das espécies e na análise das relações filogenéticas entre os táxons (Clare et al., 2011; Hernández-Dávila et al., 2012; Lim e Hernandez, 2016; López-Wilchis et al., 2016).

O marcador mitocondrial Citocromo b tem uma taxa mutacional mais elevada que o COI (Pesole et al., 1999) e também tem sido utilizado na identificação de espécies animais e em estudos sobre a biologia evolutiva das espécies (Kocher et al., 1989; Schelgel et al., 2012). Tal ferramenta também tem sido utilizada em morcegos, inclusive na indicação de possíveis espécies crípticas (Baker et al. 2002; Hassanin et al., 2015; Parlos et al., 2014; Piaggio et al., 2002). Porém, assim como a utilização de um único conjunto de dados (e.g., morfológicos) na diagnose taxonômica é vulnerável, a utilização de marcadores moleculares isoladamente requer, quando possível, a associação com outras categorias de evidências.

Diante dos desafios e limitações de cada abordagem dentro da taxonomia, nos últimos anos uma revolução nesta ciência vem sendo observada. A incorporação de novos métodos e a junção de dados de diferentes áreas de conhecimento vem sendo denominada de *Taxonomia Integrativa* (Padial et al., 2010). Esta revolução tem incrementado a descrição das espécies e tem tornado

mais amplo e profundo o conhecimento sobre as relações filogenéticas entre as espécies. Isto tem levado à adoção de novas tecnologias capazes de utilizar conjuntamente dados morfológicos, ecológicos e comportamentais, combinados com os dados moleculares, a fim de compreender melhor a história evolutiva das espécies (e.g., Cozzuol, et al., 2013; Hrbek et al., 2014).

Apesar de não existir ainda um consenso sobre a maneira como essa integração deve ser realizada, um número crescente de estudos científicos já têm utilizado esta nova abordagem entre invertebrados (Malekzadeh-viayeh et al., 2014) e vertebrados (Cozzuol et al., 2013; Hrbek et al. 2014) incluindo os morcegos (Galimberti et al., 2012; Gregorin et al., 2016; Juste et al., 2013; Krüger et al., 2013; Pavan e Marroig, 2016). A taxonomia integrativa tem caminhado para ser uma das mais poderosas ferramentas para a descrição da biodiversidade. Com contribuições importantes na resolução de incertezas taxonômicas, na reconstrução de filogenias e na descrição de novas espécies e espécies crípticas e/ou linhagens evolutivas intraespecíficas, tal abordagem se torna especialmente importante em ecossistemas pouco conhecidos e ameaçados como a Caatinga, e em grupos taxonomicamente controversos como os morcegos.

1.4 JUSTIFICATIVA

O bioma da Caatinga apresenta singularidades ecossistêmicas notáveis tendo, entre outros atributos, a maior riqueza biológica entre as florestas secas do mundo. Neste cenário biológico, morcegos estão entre os grupos animais de maior importância devido aos serviços ambientais que prestam. Ou seja, estes animais realizam importantes funções ecológicas como polinização e dispersão de sementes, além de serem controladores de insetos herbívoros. A união de tais atributos faz das espécies de morcegos aliados imprescindíveis na manutenção da dinâmica eco/evolutiva de um ecossistema tão particular como é a Caatinga. Nesse sentido, a aplicação de metodologias modernas de acesso à informação biológica (taxonômica/sistemática) contidas no DNA se torna imprescindível para grupos taxonômicos mais controversos ou pouco conhecidos como os morcegos na Caatinga. Dessa forma, pretende-se a modernização analítica de aspectos sobre a

riqueza de espécies e/ou da identificação de linhagens crípticas, em áreas designadas como de conservação em um bioma tão singular e igualmente pouco conhecido como a Caatinga.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo geral

Usar a variabilidade genética mitocondrial, associada a métodos cladísticos, para descrever a riqueza de espécies de morcegos em três Unidades de Conservação da Caatinga, Nordeste do Brasil.

1.5.2 Objetivos específicos

- a) Usar os dados obtidos de Citocromo Oxidase subunidade I e Citocromo b para melhor descrever a riqueza de espécies das três Unidades de Conservação da Caatinga;
- b) Revelar possíveis ocorrências de linhagens crípticas e novas espécies de morcegos.

Esta dissertação será apresentada em formato de artigo. Sua formatação foi realizada segundo as normas da revista *Mammalian Biology* (ISSN: 1616-5047). As normas podem ser acessadas no *Author Guidelines* da revista, acessado em: <https://www.elsevier.com/journals/mammalian-biology/1616-5047/guide-for-authors>

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U.P. et al. Caatinga revisited: ecology and conservation of an importante seasonal dry forest. **Scientific World Journal**. p.1–18. 2012.
- ALTRINGHAM, J.D. Bats, Biology and Behavior. **Oxford University Press**, Oxford, p.262. 1996.
- ARITA, H.T., VARGAS-BARÓN, J., VILLALOBOS, F. Latitudinal gradients of genus richness and endemism and the diversification of New World bats. **Ecography** 37, p.1024 – 1033. 2014.
- BAKER, R.J., SOLARI, S., HOFFMANN, F.G. A new Central American species from the *Carollia brevicauda* complex. **Occasional Papers**, Museum of Texas Tech University 217, p.1–12. 2002.
- BENSUSAN, N. Conservação da biodiversidade em áreas protegidas. **Fundação Getúlio Vargas**, p.176. Rio de Janeiro. 2006.
- BERNARD, E., AGUIAR, L.M.S., MACHADO. R.B. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries? **Mammal Review** 41, p.23-39. 2010.
- BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. **Institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências**. 2000. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9985.htm>. Acesso em: 17 ago. 2016.
- CLARE, E.L. et al. Neotropical Bats: Estimating Species Diversity with DNA Barcodes. **PLoS One** 6(7), e22648. 2011.
- COSTA, L.P. et al. Mammal Conservation in Brazil. **Conservation Biology** 19, p.672-679. 2005.
- COZZUOL, M.A. et al. A new species of tapir from the Amazon. **Journal of Mammalogy** 94, p.1331–1345. 2013.
- GALIMBERTI, A. et al. Integrated Operational Taxonomic Units (IOTUs) in Echolocating Bats: A Bridge between Molecular and Traditional Taxonomy. **PLoS One** 7(6): e40122. 2012.
- GARDNER, A.F. Order Chiroptera. In: Gardner AF (ed.) **Mammals of South America** Vol.1 Marsupials, Xenarthrans, Shrews and Bats. The University of Chicago Press. 2008. p.187-580.
- GIULIETTI, A.M., PAULA, A., BARBOSA, D. Vegetação: áreas e ações prioritárias para a conservação da Caatinga. In: SILVA, J.M.C. et al. (orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Brasília. 2004a. p.113-131.

GIULIETTI, A.M. et al. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: SILVA, J.M.C. et al. (orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 2004b. p.48-90.

GREGORIN, R. et al. A new species of Eumops (Chiroptera: Molossidae) from southeastern Brazil and Bolivia. **Mammalian Biology** 81, p.235–246. 2016.

HASSANIN, A. et al. The comparative phylogeography of fruit bats of the tribe *Scotonycterini* (Chiroptera, Pteropodidae) reveals cryptic species diversity related to African Pleistocene forest refugia. **Comptes Rendus Biologies** 338, p.197–211. 2015.

HAUFF, S. N. Representatividade do sistema nacional de unidades de conservação na Caatinga. **PNUD – Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento**, 54. 2010.

HEBERT, P.D.N. et al. Biological identification through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London B: **Biological Sciences** 270, p.313-321. 2003a.

HEBERT, P.D.N., RATANASINGHAM,S., WAARD, J.R. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergence among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London B: **Biological Sciences** 270, p.96-99. 2003b

HERNÁNDEZ-DÁVILA, A. et al. DNA barcoding and genetic diversity of phyllostomid bats from the Yucatán Peninsula with comparisons to Central America. **Molecular Ecology Resources** 12, p.590–597. 2012.

HRBEK, T. et al. A New Species of River Dolphin from Brazil or: How Little Do We Know Our Biodiversity. **PLoS One** 9(1): e83623. 2014.

IBGE. Mapa de biomas do Brasil. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtml>>. Acesso em: 02 set. 2016.

JONES, G., TEELING, E.C. The evolution of echolocation in bats. **Tree** 21, p.149–156. 2006.

JUSTE, J. et al. Phylogeny and systematics of Old World serotine bats (genus *Eptesicus*, Vespertilionidae, Chiroptera): an integrative approach. **Zoologica Scripta** 42, p.441–457. 2013.

KALKO, E.K.V., HANDLEY, C.O., HANDLEY, D. Organization, diversity and long-term dynamics of a neotropical bat community. In: Long-term studies of vertebrate communities (ML Cody & JA Smallwood, eds.). **Academic Press**, San Diego, p.503-553. 1996.

- Krüger, F. et al. An integrative approach to detect subtle trophic niche differentiation in the sympatric trawling bat species *Myotis dasycneme* and *Myotis daubentonii*. **Molecular Ecology** 23, p.3657-3671. 2013.
- KOCHER, T.D., et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. **Proceedings of the National Academy Sciences USA** 86, p.6196–6200. 1989.
- LEAL, I.R., TABARELLI, M., SILVA, J.M.C. Ecologia e conservação da Caatinga. **Editora Universitária** 2, p.822. 2003.
- LEAL, I.R. et al. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade** 1(1),p.139-146. 2005.
- LIM, B.K. Review of the origins and biogeography of bats in South America. **Chiroptera Neotropical** 15, p.391–410. 2009.
- LIM, B.K, ARCILA-HERNANDEZ, L.M. DNA barcoding of Jamaican bats: implications to Neotropical biodiversity. **Mitochondrial DNA**, Early Online, p.1–7. 2016.
- LÓPEZ-WILCHIS, R. et al. Evolutionary Scenarios Associated with the *Pteronotus parnellii* Cryptic Species-Complex (Chiroptera: Mormoopidae). **Acta Chiropterologica**, 18(1), p.91–116. 2016.
- MALEKZADEH-VIAYEH, R. et al. Diversity of the rotifer *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera: Monogononta) in Iran through integrative taxonomy. **Zoological Journal of the Linnean Society** 170, p.233–244. 2014.
- MIRANDA, J.M.D. O primata humano, a visão, a morfologia e a sistemática. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Zoologia** 85, p.4-5. 2005.
- MMA. Biomas. Caatinga. **Ministério do Meio Ambiente**. 2015. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>>. Acesso em: 6 set. 2016.
- NOGUEIRA, M.R. Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. **Check List** 10, p.808 – 821. 2014.
- OLIVEIRA, J.A., GONÇALVES, P.R., BONVICINO, C.R. Mamíferos da Caatinga. In: LEAL, I.R., TABARELLI, M., SILVA, J.M.C., eds. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Ed. Universitária, 2003. p.275-333.
- PADIAL, J.M. et al. The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology** 7, p.16. 2010.
- PAGLIA, A.P. et al. Annotated checklist of Brazilian mammals. **Occasional Papers in Conservation Biology** 6, p.1 – 76. 2012.

- PARLOS, J.A. et al. Evaluation of paraphyletic assemblages within Lonchophyllinae, with description of a new tribe and genus. Occasional Papers, **Museum of Texas Tech University**, 320, p.1–23. 2014.
- PAVAN, A.C., MARROIG, G. Integrating multiple evidences in taxonomy: species diversity and phylogeny of mustached bats (Mormoopidae: *Pteronotus*). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 103, p.184–198. 2016.
- PEDROSA, I.M.M.C. et al. Herpetofauna of protected areas in the Caatinga III: The Catimbau National Park, Pernambuco, Brazil. **Biota Neotropica** 14, p.1–12. 2014.
- PEREIRA, M.J.R., PALMERIN, J.M. Latitudinal diversity gradients in New World Bats: Are They a Consequence of Niche Conservatism? **Plos One** 8(7). 2013.
- PESOLE, G. et al. Nucleotide substitution rate of mammalian mitochondrial genomes. **Journal of Molecular Evolution** 48, p.427–434. 1999.
- PIAGGIO, A. J. et al. Systematics of *Myotis occultus* (Chiroptera: Vespertilionidae) inferred from sequences of two mitochondrial genes. **Journal of Mammalogy** 83, p.386–395. 2002.
- PRADO, D. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R., TABARELLI, M., SILVA, J.M.C., eds. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Ed. Universitária, 2003. p.3–73.
- RATNASHINGHAM, S., HEBERT, P.D.N. BOLD: The Barcode of Life Data System. **Molecular Ecology Notes** 7, p.355-364. 2007.
- REIS, N.R. et al. **Morcegos do Brasil**. Editora Universidade Estadual de Londrina, 2007. p.254.
- RODRIGUES, M.T. Herpetofauna da Caatinga. In: LEAL, I.R., TABARELLI, M., SILVA, J.M.C. eds. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Ed. Universitária-UFPE, Recife, 2003. p.181-236.
- ROSA, R.S. et al. Diversidade, padrões de distribuição e conservação dos peixes da Caatinga. In: LEAL, I.R., TABARELLI, M., SILVA, J.M.C., eds. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Ed. Universitária, UFPE, Recife, Brasil, 2003. p.135–180.
- SCHLEGEL, M. et al. Molecular identification of small mammal species using novel cytochrome B gene-derived degenerated primers. **Biochemical Genetics** 50, p.440–447. 2012.
- Silva, J.M.C. et al. Aves da Caatinga: status, uso do habitat e sensitividade. In: LEAL, I.R., TABARELLI, M., SILVA, J.M.C., eds. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Ed. Universitária, UFPE, Recife, Brasil. 2003. p.237–273.
- SIMMONS, N.B., Order Chiroptera. In: Wilson, D.E., Reeder, A.M., (ed.). **Mammal Species of the World: a taxonomic and Geographic Reference**. Baltimore: Johns

Hopkins University Press. 2005. p.312-529.

SIMMONS, N.B., CONWAY, T.M. Evolution of ecological diversity. In: KUNZ, T.H., FENTON, M.B. (eds) **Bat ecology**. University of Chicago Press, Chicago, IL. 2003. p.493–535.

SPRINGER, M.S. et al. The historical biogeography of Mammalia. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** 366, p.2478-502. 2011.

TABARELLI, M., VICENTE, A. Conhecimento sobre plantas lenhosas da Caatinga: lacunas geográficas e ecológicas. In: Silva, J.M.C., et al. (orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 2004. p.101-111.

TAUTZ, D. et al. A plea for DNA taxonomy. **Trends Ecology Evolution** 18, p.70-74. 2003.

TEELING, E.C. et al. A Molecular Phylogeny for Bats Illuminates Biogeography and the Fossil Record. **Science** 307, p.580-584. 2005.

WHEELER, Q.D. The New Taxonomy. CRC Press. **Systematics Association Special Volumes Series** 76, p.237. 2008.

1 ARTIGO TAXONOMIA MOLECULAR DE MORCEGOS (MAMMALIA: CHIROPTERA) DE TRÊS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA CAATINGA.

2 RESUMO

Estudos recentes têm revelado a grande importância da Caatinga, apresentando singularidades como a maior riqueza biológica entre as florestas secas do mundo. Neste cenário, os morcegos têm enorme importância por realizar funções ecológicas fundamentais (polinização; dispersão de sementes; controle de insetos herbívoros), favorecendo a manutenção da dinâmica eco/evolutiva da Caatinga. Uma das maiores ameaças aos pequenos mamíferos brasileiros é o desconhecimento taxonômico e sistemático, já que linhagens crípticas podem ser abrigadas em táxons definidos pela taxonomia tradicional. Assim, este trabalho objetiva testar a coesão taxonômica de espécies de morcegos de três Unidades de Conservação da Caatinga (Nordeste do Brasil) por meio de uma abordagem molecular. Exemplares da ordem Chiroptera foram amostrados em três Unidades de Conservação: Estações ecológicas do Seridó (Rio Grande do Norte), Raso da Catarina (Bahia) e Parque Nacional do Catimbau (Pernambuco). Foram obtidas sequências dos genes mitocondriais Citocromo Oxidase subunidade I (COI) e Citocromo b (Citb). Além disso, foram obtidas sequências adicionais para ambos os genes, disponíveis no Genbank e Bold. Foram feitas análises de Neighbor joining, Inferência Bayesiana e Rede Haplótipica, além de distância genética. Os resultados para Citb e COI se mostraram semelhantes e confirmaram a ocorrência de várias espécies, apontaram para algumas controvérsias taxonômicas em termos filogenéticos, bem como evidências de divisão populacional e possíveis espécies crípticas. Este estudo aponta que estas UCs se apresentam como reservatórios de diversidades escondidas de morcegos. Além disso, indica-se uma investigação mais detalhada de algumas espécies devido a inconsistências taxonômicas, bem como a necessidade de uma investigação adicional com outras regiões genômicas de evolução mais rápida, a fim de poder capturar sinais mais efetivos daquelas fenômenos de divisão populacional observados.

Palavras chave: Chiroptera; Conservação; DNA Barcoding; mtDNA.

3 INTRODUÇÃO

Chiroptera é a ordem que possui a segunda maior riqueza em número de espécies, dentre os mamíferos, atrás apenas da ordem Rodentia (Reis et al., 2007). Essa riqueza pode ainda estar sendo subestimada tendo em vista que diversos trabalhos tem apontado para uma alta diversidade filogenética dentro das espécies, com uma quantidade considerável de linhagens críticas. Além da alta diversidade, os morcegos são bastante expressivos quanto ao papel ecológico que desenvolvem, atuando como predadores de pequenos vertebrados e insetos herbívoros (Aguiar e Antonini, 2008), dispersores de sementes e polinizadores, com especial importância em regiões secas (Humphrey e Bonaccorso, 1979).

Apesar da riqueza e da grande importância ecológica do grupo, o conhecimento geral sobre a ordem Chiroptera ainda é muito pequeno no Brasil. Quase 60% do território nacional não possui registro de morcegos e apenas 10% pode ser considerado minimamente amostrado (Bernard et al., 2010). Esta realidade é especialmente preocupante e algumas regiões, como a Caatinga em que 93% da região não apresenta uma amostragem considerada minimamente satisfatória (Bernard et al., 2010).

A Caatinga apresenta a maior biodiversidade entre as florestas secas do mundo e, além disso, as condições extremas desse bioma proporcionam uma fauna e flora extremamente adaptadas, gerando uma alta taxa de endemismo no bioma (Leal et al., 2003). Apesar disso, encontra-se altamente ameaçado e sob fortes pressões antrópicas (Leal et al., 2005; Ribeiro et al., 2015; Ribeiro-Neto et al., 2016).

Os morcegos são aliados imprescindíveis na manutenção da dinâmica eco/evolutiva deste bioma. Assim sendo, a identificação precisa das espécies é crucial para a implementação de medidas conservacionistas, já que cada táxon exige minimamente algo de diferente de um ecossistema, principalmente em grupos taxonômicos mais controversos ou pouco conhecidos como os morcegos na Caatinga.

Nesse sentido, a alta diversidade filogenética, a plasticidade fenotípica de alguns caracteres, a existência de espécies críticas e a escassez de chaves

taxonômicas para espécimes imaturos, torna a aplicação de metodologias modernas de acesso à informação biológica (taxonômica/sistemática) contidas no DNA imprescindível (Hebert et al., 2003a). Desta forma, abordagens que utilizem ferramentas moleculares têm sido promovidas a fim de elucidar os problemas citados. Uma das iniciativas de maior sucesso na identificação molecular tem sido a utilização do DNA *barcoding* que utiliza o gene citocromo oxidase subunidade I – COI (Hebert et al., 2003a,b). Em morcegos, essa ferramenta tem sido amplamente utilizada (Clare et al., 2011; Hernández-Dávila et al., 2012; Lim e Hernandez, 2016; López-Wilchis et al., 2016). Outro marcador amplamente utilizado para o fim de identificação das espécies é o Citocromo b. Este marcador tem uma taxa de mutação mais elevada que o COI e tem sido utilizado há bastante tempo em estudos sobre a biologia evolutiva das espécies animais (Kocher et al., 1989; Schelgel et al., 2012). Tal ferramenta também tem sido bastante utilizada em morcegos (Baker et al. 2002; Hassanin et al., 2015; Parlos et al., 2014; Piaggio et al., 2002).

Perante os aspectos relativos à possíveis incertezas taxonômicas de uma riqueza faunística supostamente mal caracterizada como aquela dos morcegos de regiões da Caatinga, o presente estudo objetiva Contrastar a variabilidade mitocondrial com a riqueza de espécies conhecidas em três Unidades de Conservação da Caatinga nos estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco e Bahia. Em termos específicos, o presente estudo pretendeu responder às seguintes perguntas: a) Qual a magnitude da riqueza de espécies de morcegos nas três Unidades de Conservação aqui estudadas?; b) Existem espécies crípticas e/ou linhagens intraespecíficas divergentes, evolutivamente, nessas áreas?.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM

Exemplares da ordem Chiroptera foram amostrados com redes de neblina (10 redes/noite/sítio), todas de 12 x 2.5 m, abertas ao longo de trilhas ou caminhos estabelecidos nas áreas, das 17:30h até 24:00h. O esforço total de captura foi de 951,5 rede.horas em 28 noites, resultando na captura de 342 exemplares que foram

pesados, medidos, sexados e identificados por meio de uma chave de identificação não publicada para morcegos Neotropicais (E. Bernard, com. pes.) e através da literatura disponível para morcegos Neotropicais (Días et al., 2011; Gregorin e Ditchfield, 2005; Gregorin e Taddei, 2002; Jones e Hood, 1993; Moratelli et al., 2011; Moratelli e Dias, 2015; Reis et al., 2013). Para alguns espécimes não foi possível a identificação no nível específico, sendo identificados apenas no nível de gênero ou família. Do total de exemplares capturados, 163 foram coletados e cada exemplar recebeu uma numeração única de campo. Posteriormente foram sacrificados e conservados em via úmida ainda em campo.

A amostragem ocorreu em três Unidades de Conservação Federais de Proteção Integral da Caatinga (Figura 1).

- 1- Estação Ecológica do Raso da Catarina: localizada no estado da Bahia, possui área de 99.772ha, correspondendo a cerca de 1.3% do total de áreas protegidas da Caatinga.
- 2- Parque Nacional do Catimbau: localizada no estado de Pernambuco, possui área de 62.300ha, correspondendo a cerca de 0.8% do total de áreas protegidas da Caatinga.
- 3- Estação Ecológica do Seridó: localizada no estado do Rio Grande do Norte, possui área de 1.124ha, correspondendo a cerca de 0.015% do total de áreas protegidas da Caatinga.

Todos os espécimes coletados tiveram amostras teciduais de fígado retiradas com cerca de 0,5cm³, acondicionadas em Etanol 96%, para serem utilizadas nas análises moleculares para confirmação ou elucidação das identificações de campo. Todos os espécimes estão depositados em via úmida (álcool 70%) na Coleção de Mamíferos da UFPE.

4.2 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

O DNA dos espécimes coletados foi extraído a partir do tecido utilizando o kit DNeasy Tissue (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante. Dois marcadores moleculares – Citocromo oxidase subunidade I (COI) e Citocromo b (Citb) – foram amplificados via reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os

primeres VF1d/VR1d (Ivanova et al., 2006) e MVZ05/MVZ16 (Agrizzi et al., 2012), respectivamente. A reação de PCR (25 µL volume total) compreendeu 8 µL de água cultrapura, 12,5 µL de Taq master mix, 0,5 µL de cada primer a 10 mM, 0,5 µL de MgCl₂ e 3 µL de DNA tamplate. O programa do termociclador utilizado para COI foi conforme Clare et al. (2007) e para Citb foi otimizado conforme Agrizzi et al. (2012). A reação de PCR foi purificada através do kit ExoSAP-IT® (Affymetrix) seguindo o procedimento do fabricante. Em seguida, o purificado foi encaminhado para a Plataforma de Sequenciamento do Laboratório de Genômica e Expressão Gênica LABCEN/CCB/UFPE. As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando o kit big dye v3.1 (Applied Biosystems) para o sequenciador ABI PRISM ® 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

As sequências de COI e Citb obtidas foram editadas manualmente pelo software CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, MA, USA) e alinhadas no Bioedit v. 7.2.5 (Hall, 1999) utilizando o algoritmo *Clustalw Multiple Alignment*, juntamente com sequências obtidas no Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e *Barcode of Life Data Systems* (BOLD – <http://www.boldsystems.org>). A confirmação da identidade taxonômica, bem como da região amplificada, se deu através da ferramenta Basic Local Alignment Search Tool- BLAST (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), com acurácia de identidade genética acima de 98%, afim de evitar a utilização de pseudogenes. No alinhamento foram adotados os valores de 15 e 0,3, respectivamente, para a abertura e extensão dos gaps, conforme orientado por Hall (2001). As sequências oriundas do Genbank e BOLD foram reunidas perante a identificação morfológica original em campo, conforme mencionada acima (Tabelas S1 e S2). Além disso, buscou-se, nesses bancos de dados, o maior número de localidades geográficas possível na América do Sul e América Central afim de verificar a posição filogenética das sequências obtidas, dentro da extensão de variação genética ao longo da região. O grupo externo foi escolhido perante o posicionamento filogenético do mesmo em relação às famílias abordadas neste trabalho, observado em Agnarsson et al., (2011).

Para COI, uma topologia de Neighbor-joining (NJ) foi gerada no software MEGA conforme o protocolo tradicional orientado pelo consórcio Barcode of Life (www.barcodeoflife.org), utilizando o modelo K2P (Kimura 2- parâmetros). A robustez estatística dos ramos foi testada usando as medidas de bootstrap perante

1000 pseudorélicas. As distâncias genéticas foram calculadas com o mesmo modelo seguindo a rotina analítica do procedimento estabelecido em estudos anteriores de DNA barcode (www.boldsystems.org). Para isso as sequências foram divididas de acordo com as localidades: América Central, América do Sul e Brasil. Foram calculadas as distâncias genéticas entre essas localidades e dentro delas.

Para ambos os genes, modelos evolutivos foram testados pelo software jModeltest 2.1.6 (Darriba et al., 2012) utilizando o critério de informação de Akaike (AIC; Akaike, 1983, 1973).

As topologias filogenéticas foram obtidas por meio do software BEAST v1.8.2 (Drummond et al., 2012). Foi realizada uma análise de Inferência Bayesiana (IB), mediante os parâmetros dos modelos indicados acima, perante 10 milhões de gerações de Cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) para ambos genes. Os valores de *effective sample size* (ESS) visualizados pelo programa TRACER foram maiores que 200, conforme recomendado pela literatura (Rambaut et al., 2014). As topologias consenso foram calculadas após descarte de 10% das árvores (*burn-in*).

Todas as sequências de COI foram analisadas pelo sistema *Barcode Index Number* (BIN) disponível no BOLD. Tal abordagem agrupa as sequências utilizando algorítimos bem estabelecidos para revelar unidades taxonômicas operacionais (OTUs) que correspondem às espécies (Ratnasingham e Hebert, 2013).

As distâncias genéticas interespecíficas e intraespecíficas entre e dentro dos grupos América Central, América do Sul e Brasil foram calculadas com o modelo evolutivo de substituição Kimura 2 Parâmetros (K2P) através do softaware MEGA v.5 (Tamura et al., 2011). Além disso, para definir o ponto de corte que delimitaria as espécies através da distância genética, foi calculado o valor ótimo de threshold (OT), que se baseia no conceito de *barcoding gap* (Meyer e Paulay, 2005). A divergência molecular foi calculada diretamente a partir do nosso conjunto de dados, utilizando a função “localMinima” implementada no pacote SPIDER (Species Identity Evolution in R; Brown et al., 2012) para a plataforma R (<http://www.R-project.org>).

Redes haplotípicas foram feitas para as espécies cujas topologias mostraram inconsistência taxonômica, evidências de especiação críptica ou linhagens divergentes. O software DNAsp v.5.10.1 (Librado e Rozas, 2009) foi utilizado para reconhecer os haplótipos perante todas as sequências obtidas. As relações genealógicas foram obtidas através das redes de haplótipos geradas pelo método de

Median-Joinning utilizando o software Network (Fluxus Engineering Inc.; Bandelt et al., 1995, 1999).

5 RESULTADOS

De um total de 163 amostras foram obtidas 159 sequências de Citb e 139 de COI. Após edição obteve-se um bloco homólogo de sequências com 739 pb para Citb e 621 pb para COI.

O teste de seleção indicou o modelo HKY + G + I como o que melhor explica a variação dos sítios para COI e o modelo GTR + G + I para Citb.

As análises de NJ e IB apresentaram topologias semelhantes para Citb e COI, diferindo apenas na posição de alguns táxons (Figura S1, Figuras 2-8). No geral, estas análises permitiram a separação de todas as espécies, entretanto foram observados alguns casos de controvérsia taxonômica: *Micronycteris microtis/M. megalotis* e *Noctilio albiventris/N. leporinus*.

Micronycteris microtis e *M. megalotis* formaram um único agrupamento com alto suporte de ramo (Figura 4). Para Citb, cada um dos dois exemplares de *M. microtis* se agrupou em clados diferentes junto com outras sequências de *M. megalotis*. Entretanto, para COI, as duas sequências de *M. microtis* agruparam-se juntas e com alto suporte de ramo, apesar de permanecerem dentro do grande clado formado pelas sequências de *M. megalotis*. Tais espécies apresentaram uma distância genética de 6.4% entre suas sequências de COI, incluindo os exemplares aqui analisados (Tabela 5). O haplogrupo formado pelas sequências de *M. microtis* se separou do haplogrupo de *M. megalotis* em 30 mutações (Figura 9).

Noctilio albiventris e *Noctilio leporinus* também se apresentaram como um caso controverso, onde parte de *N. albiventris* constituiu um grupo irmão de *N. leporinus* e a sua outra parte formou uma outra unidade evolutiva (Figura 8). A primeira parte de *N. albiventris* apresentou uma distância genética para COI de 4.3% de *N. leporinus* e de 7.2% para a parte de *N. albiventris* que formou outra unidade evolutiva (Tabela 5). Na rede haplotípica de COI (Figura 11) os exemplares de *N. albiventris*, grupo irmão de *N. leporinus*, formaram um haplogrupo separado de *N. albiventris* por 22 passos mutacionais e por outros 17 passos de *N. leporinus*.

No geral, a média das distâncias intraespecíficas, bem como as distâncias máximas, variaram de 0,0 a 9,1% (Tabela 3). A média das distâncias interespecíficas

variaram entre 2,3% e 23,6% para espécies do mesmo gênero (Tabela 5). O valor ótimo de *threshold* (OT) para nosso conjunto de dados (sequências deste trabalho mais as sequências do Bold e Genbak) foi de 1,94%.

Já em termos específicos, as amostras provenientes dos exemplares coletados em campo apontavam para a ocorrência de 33 taxa em termos morfológicos, nas categorias de família, sub-família, gênero e espécie. Desses 33, as análises moleculares confirmaram a ocorrência de 19 taxa entre espécies nominais e outras *incertae sedis*. Destas últimas, cinco foram identificadas no nível de gênero e duas no nível de família (Tabela 1), e são citadas a seguir.

Exemplares identificados em campo como *Lonchophyllinae*, *Lonchophylla mordax* e *L. dekeyseri* (identificados na topologia como *Lonchophylla* cf. *inexpectata*), formaram um grupo bem coeso filogeneticamente, com forte suporte de ramo (Figura 5). Tal grupo se apresentou separado de *L. mordax* e com uma distância genética (K2p) para COI de 23.1% dessa espécie (Tabela 5). Não há sequências disponíveis de *L. dekeyseri* no GeneBank e nem BOLD. A identificação morfológica apontou que esses exemplares são, provavelmente, *L. inexpectata* (sem sequência disponível). Os caracteres diagnósticos observados na identificação morfológica desta espécie, bem como em outras que virão a seguir encontram-se sumarizados na tabela 7.

Caso similar àquele acima descrito foi observado entre os exemplares identificados em campo como *Micronycteris minuta* e *M. sanborni* (identificados na topologia como *M. sanborni*), que formaram um único agrupamento filogenético bem coeso, com forte suporte de ramo (100) (Figura 4). Tal agrupamento ficou separado de *M. minuta* (sequencias obtidas do Bold) e com distância genética (K2p) para COI de 9.3% desta espécie (Tabela 5). Além disso, este agrupamento formou um haplogrupo separado do haplogrupo de *M. minuta* em 42 mutações (Figura 9). A análise morfológica apontou que esses exemplares são da espécie *M. sanborni* (sem sequencia disponível) por apresentarem um padrão anatômico particular dessa espécie (Tabela7).

Ainda neste gênero, exemplares identificados em campo como *M. microtis*, *M. sp.* e *M. schmidtorum*, embora tenham apresentado características morfológicas descritas para *M. microtis* (Tabela 7), ficaram mais próximos filogeneticamente de *M. megalotis* (Figura 4). Aqueles espécimes tiveram uma distância genética para *M.*

microtis de 7,5% e para *M. megalotis* de 4,6% (Tabela 5). O haplogrupo formado por esses espécimes diferiu em 13 mutações ou mais para o haplogrupo formado pelas demais sequências de *M. megalotis* (Figura 9). A divisão em 8 clados de *M. megalotis* + *M. microtis* observada na topologia de IB, mostrou uma distância genética para COI entre os clados de 2,4% a 7,1%. As médias das distâncias dentro de cada clado variou de 0,1% a 2,3% (Tabela 6).

Exemplares identificados em campo como *Myotis nigricans*, *Myotis albescens* e *Myotis* sp., por sua vez, formaram um agrupamento bem coeso, com forte suporte de ramo (100), mais próximo de *M. levis* para Citb (Fig. 3-B1) e de *M. nigricans* para COI (Fig. 3-B2), com distância genética para COI de 6.9% (Tabela 5). Cabe mencionar que uma sequência de Citb de *M. nigricans* do Genbank mostrou-se inserido neste grande agrupamento que foi composto por todos os exemplares acima citados. A análise morfológica (Tabela 7) apontou que esses exemplares são da espécie *M. lavalii* (sem sequências disponíveis para a espécie). Todas as sequencias dos exemplares acima compreendam um único BIN para com espécimes do Brasil (Tabela 2).

Exemplares identificados em campo como *Rhogeessa* sp. e *Rhogeessa* cf. *hussoni*, formaram um agrupamento irmão de *Rhogeessa io* com alto suporte de ramo (100) (Figura 3), e tiveram uma distância genética para COI para esta espécie de 10.7% (Tabela 5). Não há sequência de *R. hussoni* disponível e não houve correspondência pela análise de BIN (Tabela 2). A análise morfológica também foi inconclusiva, visto que alguns caracteres, como a coloração do ventre, não permitiram a identificação precisa.

Os exemplares identificados em campo como *Molossops temminckii* e *Neoplatyomops mattogrossensis* só foram sequenciados para Citb. Não há sequências disponíveis para essas espécies e a identificação molecular se mostrou inconclusiva (Fig. 2-A1). No entanto, os caracteres morfológicos mostraram que a identificação em campo estava correta.

Para exemplares do gênero *Peropteryx*, a identificação molecular se mostrou inconclusiva. Os três espécimes formaram um agrupamento bem coeso com forte suporte de ramo (100), mas não agrupou com nenhuma das espécies acessíveis nos bancos de dados. Segundo a disponibilidade de dados comparáveis tal grupo foi mais proximamente relacionado com *P. trinitatis* e *P. macrotis* (Figura 2). A distância

genética daqueles exemplares em relação à essas espécies ficou acima de 7.5% para COI (Tabela 5) e com quantidade de mutações que variou de 28 a 38 para o espécime do banco de dados mais próximo (Figura 11). Além disso, o exemplar PHA 719 se apresentou como grupo irmão dos outros dois exemplares com forte suporte de ramo (100). A distância genética entre PHA 719 e os outros dois exemplares foi de 5.4% (Tabela 5) e a quantidade de mutações entre eles de 29 a 32 (Figura 11). Não houve correspondência de BIN para tais exemplares (Tabela 2). A análise morfológica pelas medidas cranianas (diagnósticas para esse grupo) foram inconclusivas.

Para todas as demais espécies não mencionadas, a análise molecular confirmou a identificação em campo.

As topologias (Figuras 2, 4, 6 e 8) revelaram também evidências de divisão populacional em *Glossophaga soricina*, *Desmodus rotundus*, *Anoura geoffroyi*, *Micronycteris megalotis*, *Noctilio albiventris* e *Molossus molossus*. Tais divisões caracterizam-se pela formação de grupos coesos com alto suporte de ramo e pelas distâncias genéticas. Para essas espécies as distâncias variaram de 1% a 5.8% entre América do Sul e Brasil, e 0.5% a 6.9% entre América Central e América do Sul (Tabela 4). As distâncias dentro desses grupos variaram de 0.1% a 2% para o Brasil, 0.6% a 4.4% para América do Sul e 1.3% a 2.6% para América Central (Tabela 4).

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que o uso das regiões COI (barcode) e Citb se mostraram eficazes como técnicas moleculares na separação de quase todas as espécies desse trabalho. O uso do DNA mitocondrial tem sido amplamente utilizado para este fim em vários grupos de vertebrados, como répteis e anfíbios (Chambers e Hebert, 2016; Murphy et al., 2013), aves (Mendonza e Gonzalez, 2016; Saitoh et al., 2014), peixes (Cutarelli et al., 2014) e mamíferos (Agrizzi et al., 2012; Silva-Neto et al., 2016), inclusive entre os morcegos (Clare et al., 2011; Nesi et al., 2013; Pavan e Marroig, 2016).

Incertezas taxonômicas dentro de alguns gêneros, como observadas neste estudo em *Micronycteris microtis/M. megalotis* e *Noctilio albiventris/N. leporinus*, no

entanto, dificultam a distinção das espécies com o uso apenas de tais ferramentas moleculares.

O único agrupamento filogenético formado pelas sequências de *M. microtis* e *M. megalotis* também fora observado por Porter et al., (2007), em que a inconsistência filogenética de *M. microtis* fora evidenciada através de um gene nuclear e o gene mitocondrial Citb. Aqui, neste estudo, tal evidência foi confirmada. As taxonomias morfológica e molecular apresentam dados conflitantes para essas espécies. Inúmeras sobreposições entre os caracteres morfológicos de *M. megalotis* e *M. microtis* foram observadas por Simons et al., (2002), apesar disso esses autores reconhecem ambas como espécies válidas. Aqui, os exemplares de *Micronycteris*, embora tenham apresentado características morfológicas descritas para *M. microtis* (altura da orelha menor que 21 mm e altura dos pêlos na ponta do terço médio do pavilhão da orelha entre 3 e 5 mm) estes se mostraram mais relacionados filogeneticamente com *M. megalotis*, confirmando a fragilidade dos caracteres morfológicos utilizados na diagnose taxonômica dessas espécies. Porter et al., (2007) relatou também a presença de três linhagens dentro do agrupamento formado por espécimes de *M. microtis*, *M. megalotis* e *M. sp.*, sugerindo tratar-se de populações divergentes dentro de *M. megalotis*, tendo em vista que a distância genética observada para Citb não seria suficiente para sugerir espécies diferentes. Aqui, uma quarta linhagem foi observada com os exemplares da Caatinga para ambos os genes, embora só fortemente suportada em Citb, evidenciando uma quebra filogeográfica de *M. megalotis* da Caatinga em relação às florestas úmidas da Guiana e Suriname.

M. microtis se apresentou como uma espécie inválida pelos dados de Citb, devido à presença de exemplares em clados distintos dentro de *M. megalotis*. Tal fragilidade taxonômica já havia sido argumentada por Porter et al., (2007) e foi confirmada no presente estudo conforme acima. Contudo, a alta distância genética de *M. microtis* para o gene COI, em relação à *M. megalotis* e a alta quantidade de mutações entre os haplogrupos, sugere que *M. microtis* pode sim ter validade taxonômica. A observação pormenorizada da topologia bayesiana de COI permite argumentar em favor de duas situações. A primeira, na formação de 8 clados dentro de *M. megalotis/M. microtis*, onde um dos clados seria de *M. microtis* e outro das sequências deste trabalho. Esta situação leva em consideração apenas as altas

distâncias genéticas observadas entre os clados, maiores que 2%, e não leva em consideração alguns suportes de ramos baixos observados em alguns clados. A quantidade elevada de clados já foi indicada por Clare (2011). A segunda, na reorganização da controvérsia *M. microtis/M. megalotis* da seguinte forma: o clado de *M. megalotis* + aqueles da Caatinga (PHAs) compreendendo o ramo evolutivo de *M. megalotis* e o seu clado irmão, composto por dois ramos reciprocamente monofiléticos, compreendendo *Micronycteris* sp. nova (críptico de *M. megalotis*) + *M. microtis* com suporte de ramo das probabilidades posteriores de 98%. É necessário, portanto que uma revisão taxonômica seja realizada a fim de identificar caracteres morfológicos diagnósticos mais assertivos para as espécies, bem como a utilização de outras abordagens como bioacústica, morfometria e análise cromossômica. Os casos citados acima reforçam a sugestão de Gregorin e Tavares (2008) e Tavares et al. (2008), de que haja uma revisão taxonômica aprofundada de vários gêneros de morcegos Neotropicais, como os citados acima e outros.

Para *Noctilio albiventris/N. leporinus* também foi observada inconsistência filogenética, já que a espécie *N. albiventris* se mostrou parafilética. Tal resultado também foi relatado por Khan et al., (2013), sugerindo que os exemplares de *N. albiventris* mais próximos de *N. leporinus* são possivelmente híbridos. A hibridação seria possível devido à evolução recente dessas duas espécies (Khan et al., 2013). Essas espécies são simpátricas e podem ser observadas sintopicamente, uma vez que exploram espécies aquáticas para alimentação (Peracchi, et al. 2006). A introgressão genética, sustentando eventos de hibridização vem sendo documentada em centenas de espécies animais (Towels e Brelsford, 2012), inclusive em mamíferos (Coyner et al., 2015; Good et al., 2015), em especial em morcegos (Furman et al., 2014; Mao et al., 2013). Tal sobreposição de nicho poderia ter facilitado o acasalamento de fêmeas de *N. leporinus* com machos de *N. albiventris*, uma vez que as sequências mitocondriais de *N. albiventris* se apresentaram evolutivamente mais próximas *N. leporinus*.

O valor de *threshold* calculado a partir do nosso conjunto de dados, se assemelhou ao definido pelo DNA barcode que é de 2% (Hebert et al., 2003a). As distâncias genéticas K2P para COI, foram bem altas em várias espécies, maiores inclusive que os valores aqui utilizados para delimitação de espécies 1,94% (OT) e 2% (Barcode). As altas distâncias genéticas em morcegos Neotropicais já haviam

sido observadas por Clare *et al.* (2011). As distâncias genéticas encontradas neste trabalho, de uma maneira geral, indicam que a diversidade real de morcegos está subamostrada.

A abordagem molecular neste trabalho permitiu também uma maior acurácia na diagnose taxonômica das espécies quando comparada à abordagem morfológica. Este fato foi evidenciado pela redução de 33 *taxa* com a taxonomia morfológica, para 19 *taxa* com a taxonomia molecular. Neste sentido, a abordagem molecular permitiu uma identificação mais precisa das espécies, principalmente naquelas de difícil identificação por caracteres morfológicos. Tal precisão foi evidenciada inclusive em alguns exemplares que constituiram um agrupamento coeso com exemplares de outra espécie diferente da sua identificação morfológica original. Neste sentido, este trabalho corrobora o que vêm sendo apresentado em vários trabalhos com morcegos, sobre a grande importância do uso de ferramentas moleculares na identificação de espécies e na resolução de incertezas taxonômicas (Goodman *et al.*, 2014; Korstian *et al.*, 2016; Wilson *et al.*, 2014).

Apesar do sucesso na separação das espécies e maior acurácia na diagnose taxonômica, a identificação molecular no nível específico só foi possível em 63% dos casos, tendo em vista que parte das espécies não tinham sequências disponíveis no Bold e Genebank para serem comparadas. Embora nos últimos anos a adoção de ferramentas moleculares tenham crescido bastante, inclusive com o projeto *Barcode of life*, ainda existe uma carência importante de sequências disponíveis para muitas espécies, inclusive de morcegos, 7 só neste trabalho.

Nos casos citados acima, a taxonomia molecular, embora não tenha permitido a identificação no nível específico, indicou contradições na identificação morfológica de alguns espécimes. Tal indicação foi importante para que a morfologia destes exemplares fosse revista com um olhar mais direcionado, já que as topologias indicaram de quais espécies tais exemplares não pertenciam. Este foi o caso de exemplares de *Lonchophylla*, em que a análise molecular revelou, pelas topologias e a análise da distância genética, que tais exemplares não pertenciam à espécie *L. mordax*. Desta forma, uma nova análise morfológica foi direcionada a fim de comparar com as espécies *L. dekeyseri* e *L. inexpectata*. Os caracteres morfológicos que distinguem tais espécies (3º pré-molar e os 1º e 2º molares), foram analisados e se observou que eram mais semelhantes à espécie *L. inexpectata* (Moratelli e Dias,

2015). No entanto, como alguns dentes apresentaram diferenças sutis optamos por definir os exemplares como *Lonchophylla. cf. inexpectata* e aguardar a identificação mais precisa de um especialista no grupo.

Caso semelhante ocorreu nos exemplares identificados como *Micronycteris minuta* e *M. sanborni*. As topologias, a análise das distância genética e a rede de haplótipos, indicaram que esses espécimes não correspondiam à espécie *M. minuta*. A análise morfológica foi direcionada para a diferenciação de tais espécies e a coloração esbranquiçada do ventre apontou que estes exemplares eram da espécie *M. sanborni* (Simons et al., 1996).

No caso do gênero *Myotis*, as topologias de Citb e COI foram conflitantes. A topologia de Citb indicou que os exemplares eram da espécie *M. nigricans* com inconsistência taxonômica da espécie, visto que exemplares dessa espécie (dados do Genbank) agruparam em clados diferentes. Já a topologia de COI, associada à análise de distância genética, indicou que os espécimes deste trabalho não pertenciam à *M. nigricans*. Ambos os marcadores indicaram que os exemplares não pertenciam a nenhuma outra espécie de *Myotis* das sequências obtidas dos bancos de dados. Desta forma, uma análise morfológica foi direcionada para as espécies *M. nigricans* e *M. lavalii*, que não tinha sequência disponível. O padrão tricolor dos pêlos do ventre indicou que os exemplares pertenciam a espécie *M. lavalii* (Moratelli et al., 2011). Antes da descrição de *M. lavalii*, os exemplares do Nordeste eram identificados como *M. nigricans*. O agrupamento das sequências deste trabalho com uma sequência de *M. nigricans* por Citb, pode ser explicada por este exemplar ter sido identificado antes da descrição de *M. lavalii* em 2011. De fato, tal sequência AF376864 foi sequenciada por Ruedir e Mayer (2001). Cabe ressaltar que tal sequência é de um espécime da Paraíba e, portanto, provavelmente trata-se de *Myotis lavalii*.

A distância genética de COI observada entre os 3 exemplares aqui coletados de *Peropteryx* e as sequências disponíveis no Bold, foi semelhante à distância observada entre espécies deste gênero. Dentre os 3 exemplares, 1 deles apresentou uma distância um pouco menor dos outros dois que o observado entre espécie, entretanto bastante significativa. A distância genética associada à quantidade de mutações observadas entre os haplótipos das espécies, sugerem que

estes exemplares podem se tratar de uma ou duas espécies crípticas. Tais exemplares estão sendo analisados por especialistas do grupo, a fim de determinar sua identidade taxonômica por meio da morfologia, visto que a análise morfológica aqui realizada se mostrou inconclusiva. Sendo confirmada uma ou duas espécies, elas serão descritas. Outros trabalhos já confirmaram a presença de espécies crípticas para outros grupos de vertebrados, incluindo morcegos, na Caatinga (Leal, et al., 2003; Gregorin e Ditchfield, 2005; Werneck et al., 2015).

A indicação de espécies crípticas é bastante importante em ações conservacionistas, já que permite reconhecer uma diversidade que os caracteres tradicionais não apresentam, devido à sua menor variância, quando comparada aos dados moleculares de DNA. Além isso, permitem, portanto, reconhecer uma diversidade filogenética maior do que aquela outrora observada (Krishnamurthy e Francis, 2012)

Para tais espécies que, após taxonomia molecular, permaneceram com identificação no nível específica inconclusiva, o presente estudo reforça a necessidade e sugere o uso de uma abordagem integrativa (moléculas, morfologia, bioacústicas, etc) sempre quando necessário e possível, tais como vem sendo realizado em diversos trabalhos com morcegos (Catzeffis et al., 2016; Clare et al., 2013; Pavan e Marroig, 2016; Nájera-Cortazar et al., 2015).

Os resultados do estudo aqui desenvolvido apontaram também para uma divisão, em várias espécies, das linhagens da América Central e América do Sul, e apoiaram evidências anteriores (Clare et al., 2011). A formação de clados fortemente suportados nas topologias, a alta distância genética para COI e a elevada quantidade de mutações, observada entre várias dessas linhagens, indicam, em alguns casos como *Glossophaga soricina*, *Anoura geoffroyi*, *Desmodus rotundus* e *Micronycteris megalotis*, especiação críptica. Em outros casos como, *Molossus molossus*, as distâncias não são suficientes para sugerir especiação críptica, mas sugere divisão populações intraespecífica.

As três Unidades de Conservação escolhidas neste trabalho se apresentaram como reservatórios de diversidade escondida de morcegos do bioma Caatinga, apresentando possíveis espécies crípticas, além de linhagens evolutivas divergentes. Espécies de diversificação primária como aquelas de formações florestais, como várias espécies de morcegos, encontram-se em formações abertas,

como a Caatinga, condições ecológicas diferentes (Aguiar et al., 2015). Isso pode conduzir à origem de linhagens/espécies mais adaptadas a tais condições (Carmignotto et al., 2012). Este padrão de diversificação é observado em parte dos mamíferos sul-americanos (Wernerck, 2011). Para a maioria das espécies em que foram observadas possíveis descontinuidades populacionais, os exemplares deste trabalho formaram agrupamentos exclusivos com alto suporte de ramo, indicando a presença de linhagens evolutivas divergentes na Caatinga. A presença de especiação críptica bem como de linhagens divergentes endêmicas, associada ao padrão de diversificação observado em mamíferos da América do Sul, reforça a importância conservacionista da Caatinga no processo de diversificação da ordem Chiroptera (Carmignoto et al., 2012; Gregorin e Ditchfield, 2005). Apesar da detecção de linhagens evolutivas particulares da Caatinga, não foram observadas linhagens exclusivas de nenhuma das UCs. Isso pode ser explicado pela curta distância entre elas quando comparada à alta capacidade de mobilidade deste grupo, capazes de abranger mais de um bioma e de ultrapassar limites geopolíticos (Arnone et al., 2016).

Os casos de especiação críptica e divisão populacional intraespecífica observados entre linhagens da América Central e América do Sul, bem como nas Unidades de Conservação da Caatinga, merecem uma atenção especial. Indicamos nos dois casos observados a necessidade de uma investigação adicional com outros dados moleculares, como regiões genômicas de evolução mais rápida a fim de poder capturar um sinal mais efetivo da divisão populacional das espécies, inclusive nas UCs aqui estudadas. Além disso, indicamos a utilização de outras abordagens como morfológica, morfométrica e bioacústica a fim de obter uma maior precisão na diagnose de tais fenômenos.

Este trabalho, portanto, reforça a necessidade de mais estudos envolvendo morcegos na Caatinga. A indicação de diversidade escondida de morcegos na região, associada a uma taxonomia morfológica, por vezes inconsistente, reforça também a necessidade de abordagens moleculares nesses estudos. Além disso, é importante sempre que possível e necessário, a utilização de uma abordagem integrativa a fim de elucidar casos ainda controversos mediante a taxonomia molecular. Sugerimos também mais estudos sobre a taxa de evolução de COI e outros marcadores moleculares em morcegos para que a delimitação das espécies

se torne mais clara e facilite o entendimento sobre a real diversidade de morcegos. Por fim, reforçamos a importância deste grupo na manutenção dos serviços ecossistêmicos na Caatinga e seu papel na conservação deste bioma. Assim como a importância da Caatinga na diversificação e conservação da fauna de morcegos no Brasil.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso das regiões COI e Citb se mostraram eficazes como técnicas moleculares na separação de espécies de morcegos. Entretanto em apenas 63% das espécies de morcegos coletadas foi possível a identificação à nível de espécie. Para as demais espécies a ausência de sequências no Genebank e BOLD dificultou a identificação molecular à nível específico. Nestes casos, a identificação morfológica realizada mediante os resultados genéticos, permitiu a identificação de quase todas as espécies. Algumas espécies não tiveram uma identificação exata pela dificuldade de distinção de seus caracteres morfológicos e precisam, portanto, serem conferidas. Além disso, alguns gêneros de morcegos necessitam de revisão taxonômica para esclarecer as relações filogenéticas entre algumas espécies e nestes casos será necessário o uso associado de técnicas moleculares com a identificação morfológica tradicional.

Este estudo aponta a existência de possíveis espécies crípticas de morcegos para a Caatinga, além de linhagens evolutivas intraespecíficas. Entretanto, não foram detectadas linhagens evolutivas restritas a nenhuma das Unidades de Conservação amostradas. É necessário, portanto, que análises adicionais sejam feitas, seja na descrição das duas possíveis espécies crípticas, seja na delimitação das linhagens intraespecíficas com outras abordagens moleculares. Os três exemplares do gênero *Peropteryx* estão sendo analisados quanto a sua morfologia em parceria com o Dr. Renato Gregorin, para que, sendo confirmada que tratam-se de espécies crípticas, estas possam ser devidamente descritas.

Tendo em vista que os morcegos, de uma maneira geral, têm uma alta mobilidade, e que as distâncias genéticas do grupo fogem do habitual indicadas pelo barcode, é necessário que estudos sejam realizados a fim de definir as distâncias genéticas delimitadoras das espécies. Essa padronização elucidará padrões recorrentes observados de múltiplas linhagens evolutivas dentro de uma espécie ao

longo de uma determinada área geográfica, bem como a caracterização de espécies crípticas, facilitando estudos futuros de taxonomia molecular.

Por fim, este estudo revela que a Caatinga se apresenta como um reservatório de diversidade escondida de morcegos, e que possivelmente a diversidade no grupo está subamostrada. Este fato já foi apresentado em outros estudos para outros grupos taxonômicos, corroborando, portanto, a alta riqueza biológica deste bioma. As sequências obtidas neste trabalho servirão de base para futuros estudos com morcegos na região. Esperamos, portanto, que este trabalho incentive a produção de mais estudos com morcegos na Caatinga, bem como de outros grupos. Desta forma, esperamos contribuir com a conservação da biodiversidade da Caatinga.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq e Facepe pelo financiamento do projeto.

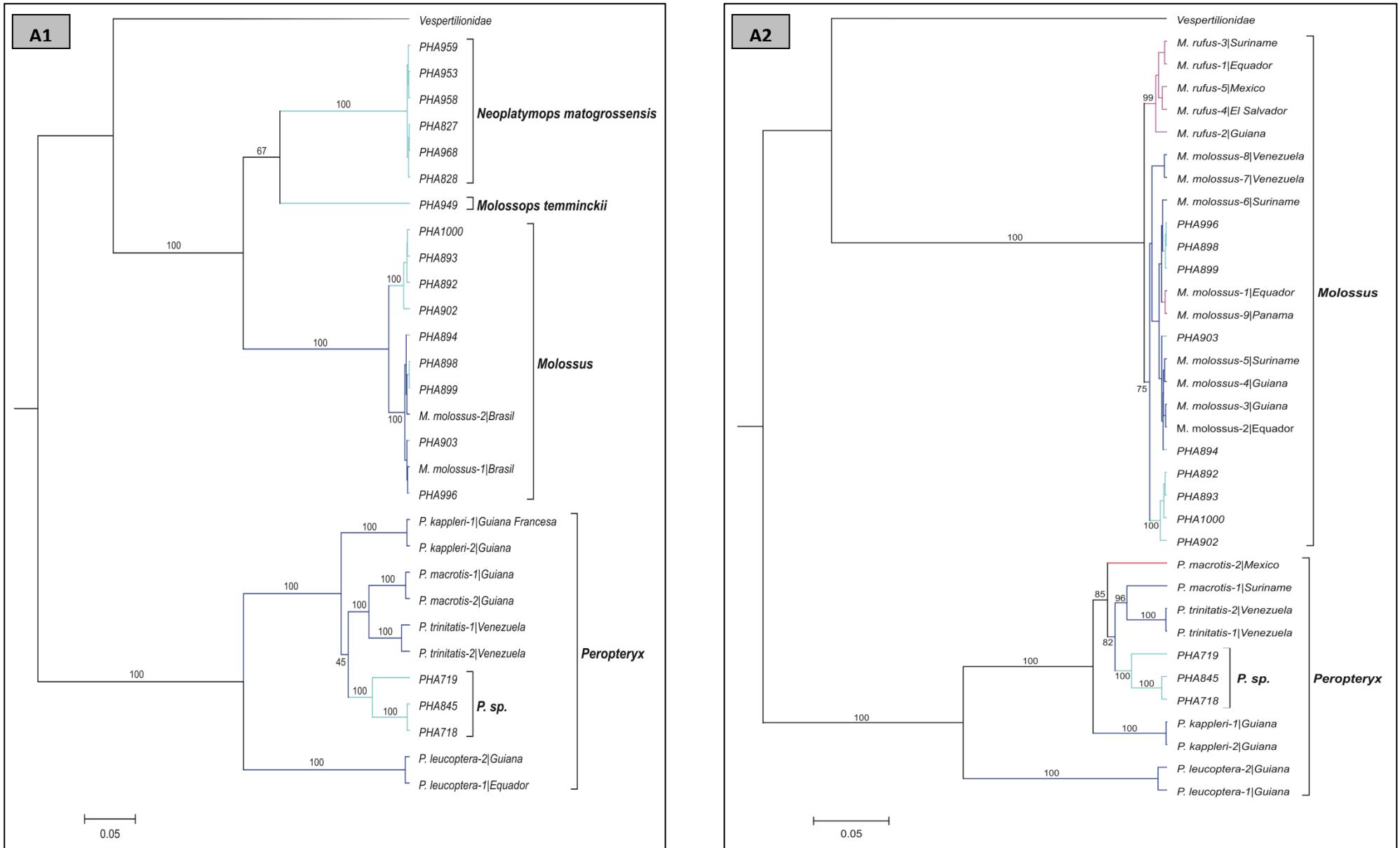


Figura 2 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (A1) e 621 pb de COI (A2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAn^o) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

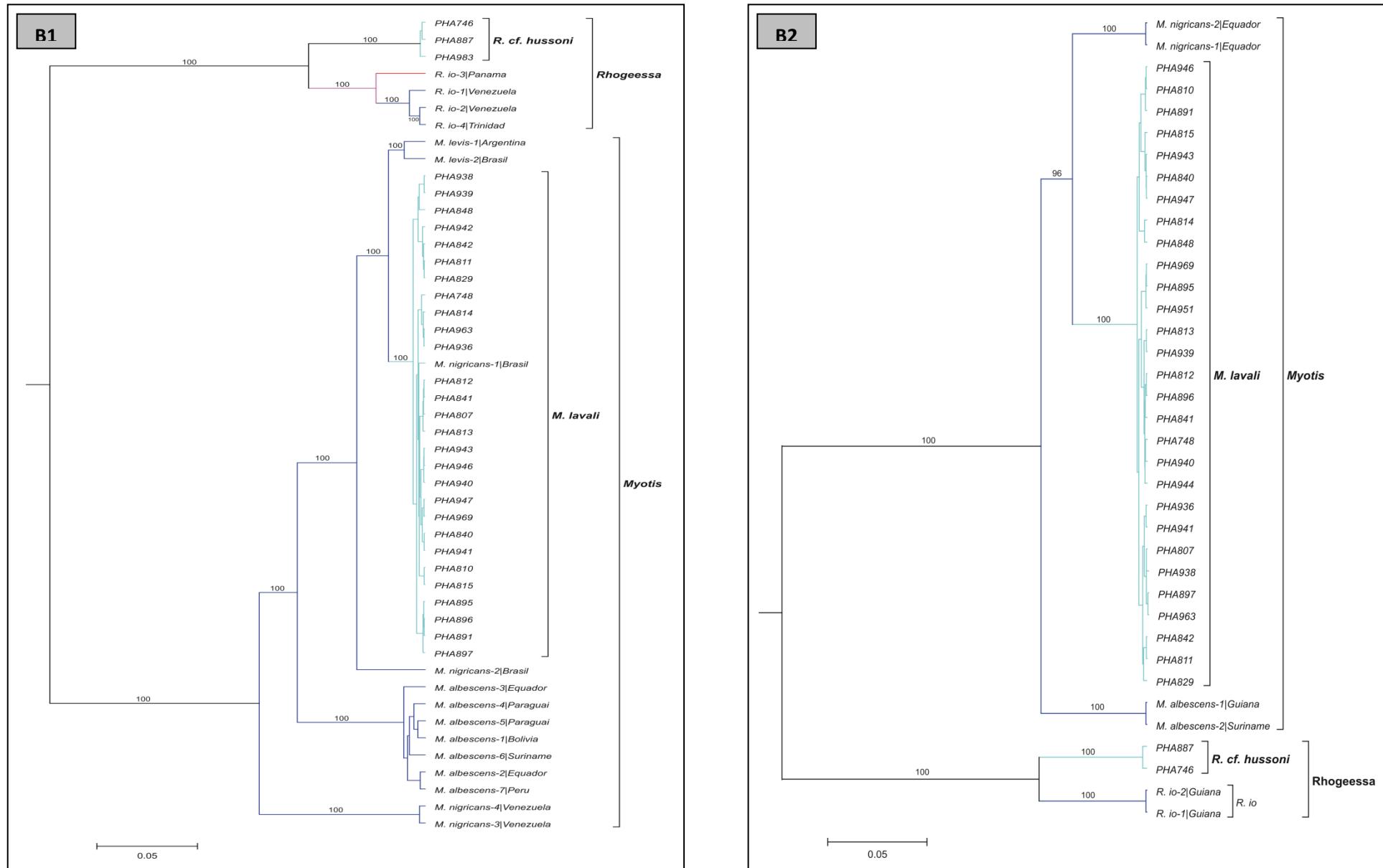


Figura 3 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (B1) e 621 pb de COI (B2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

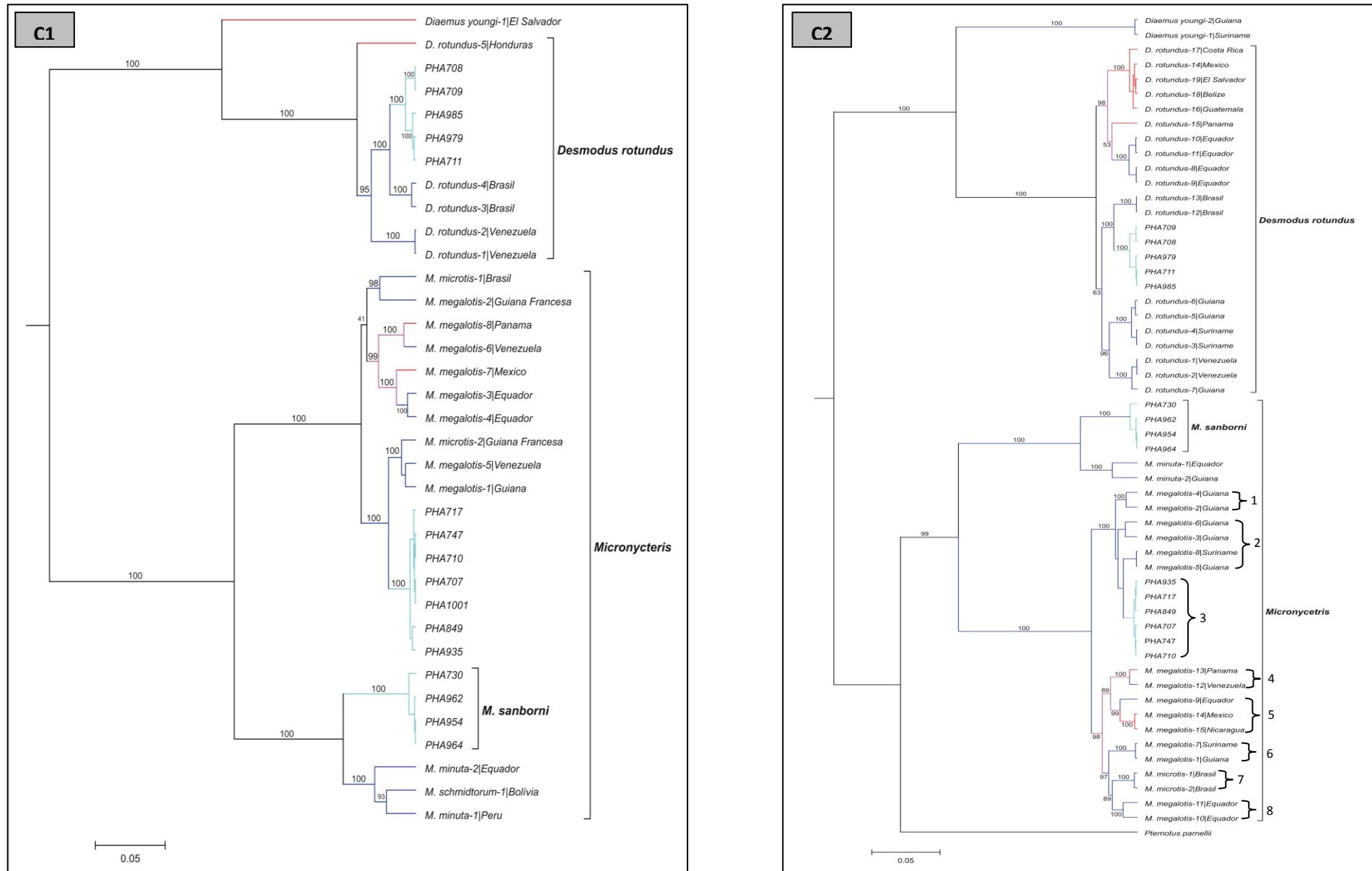


Figura 4 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (C1) e 621 pb de COI (C2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

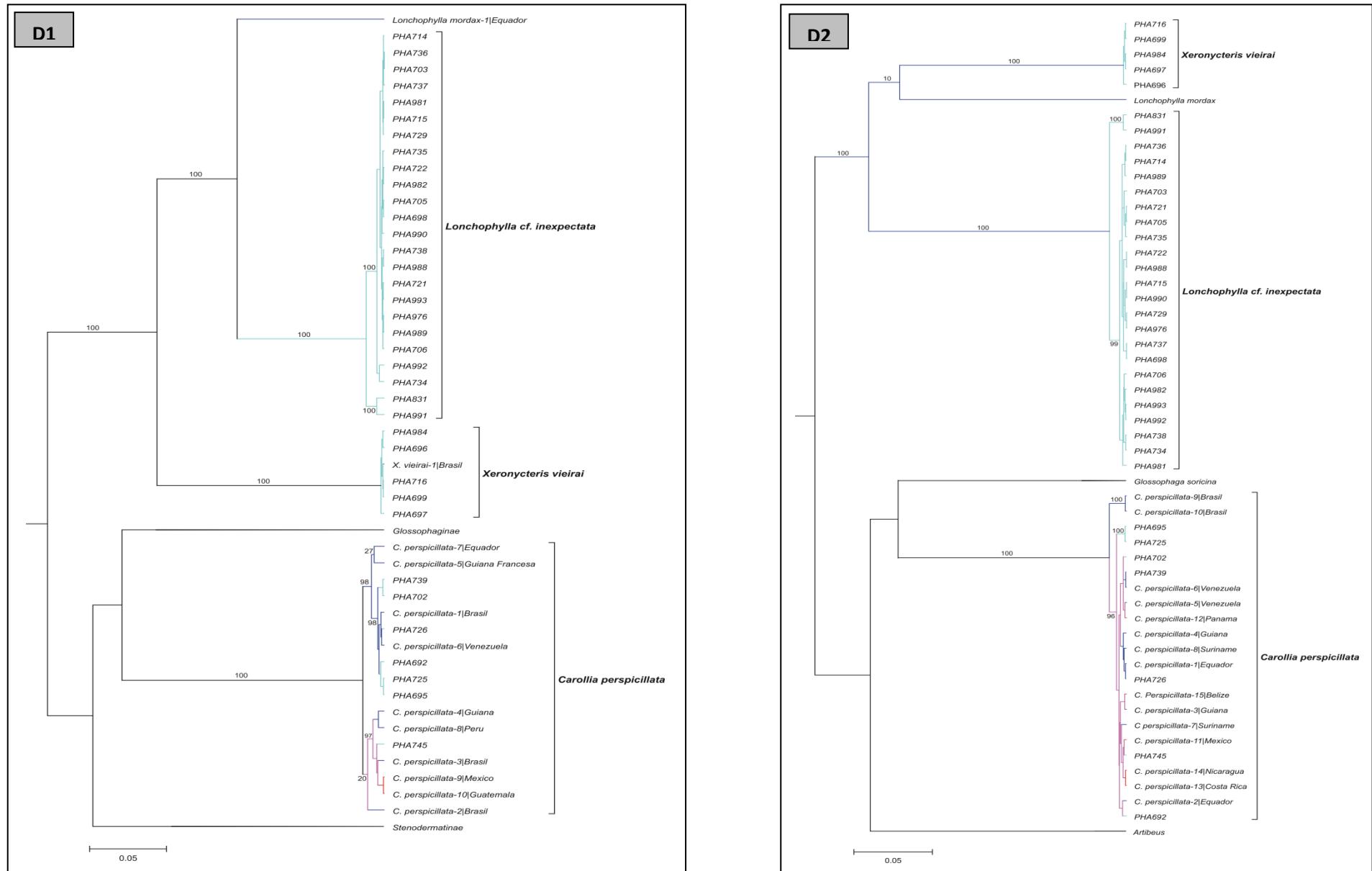


Figura 5 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (D1) e 621 pb de COI (D2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

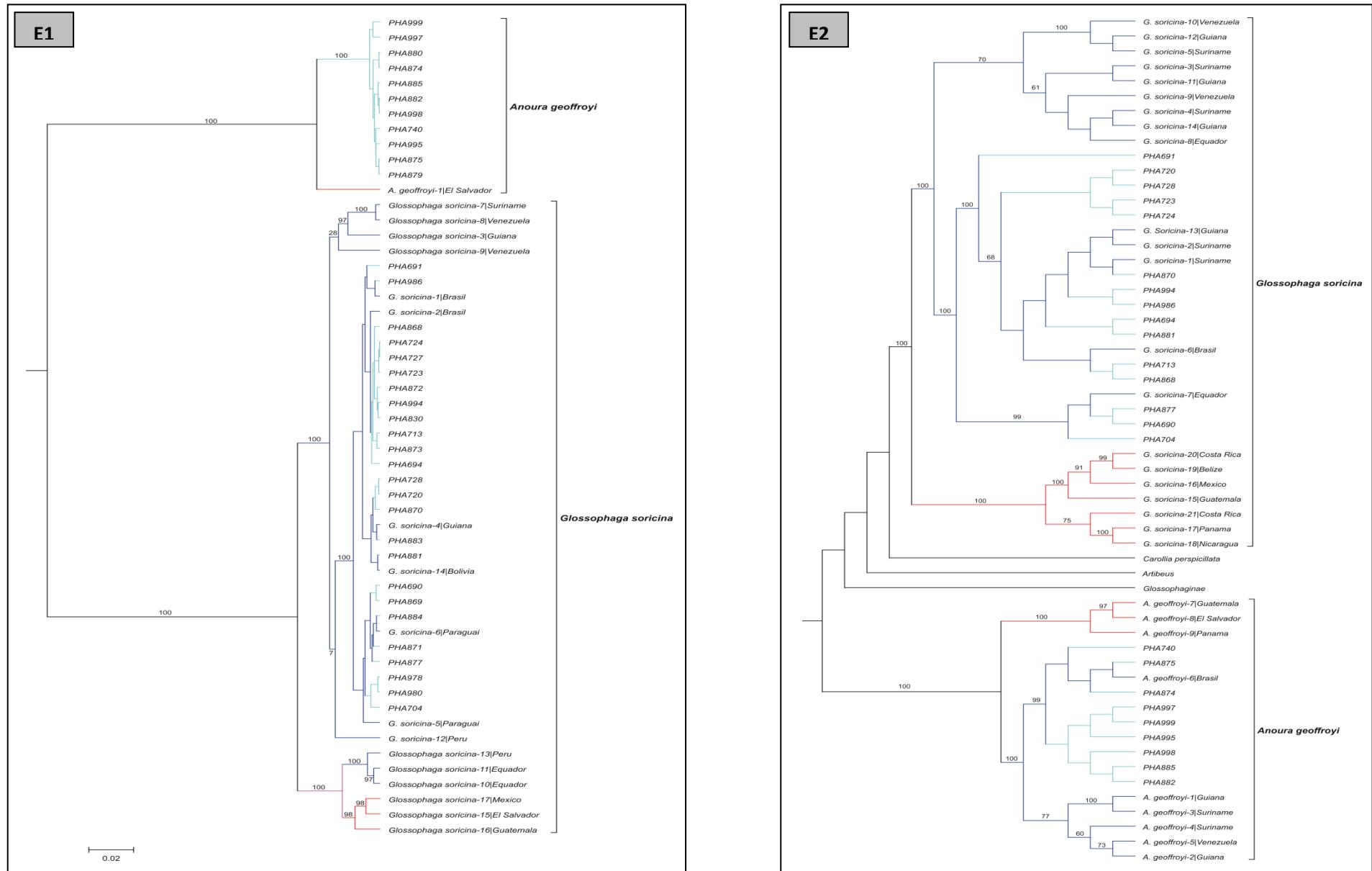


Figura 6 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (E1) e 621 pb de COI (E2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

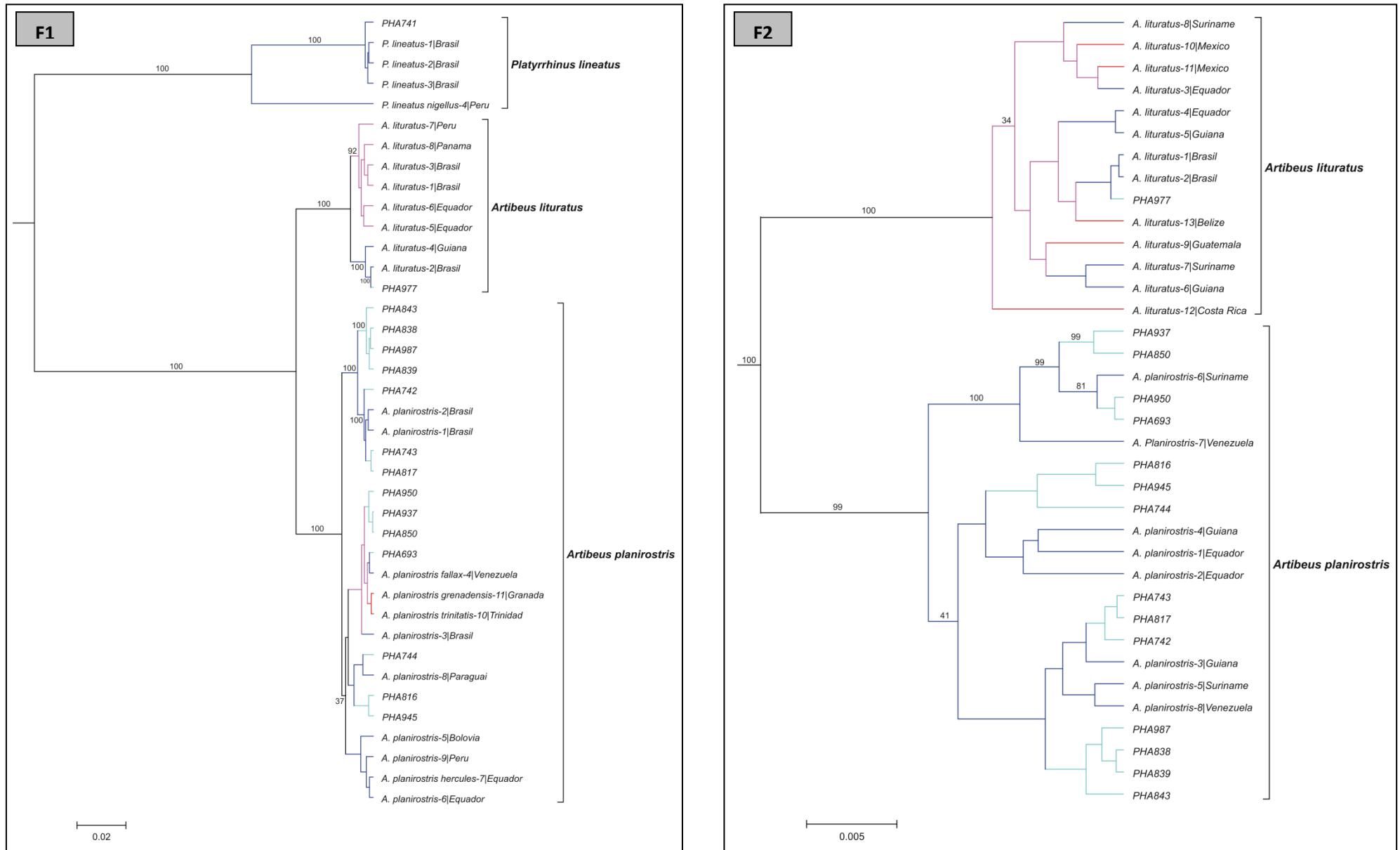


Figura 7 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (F1) e 621 pb de COI (F2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

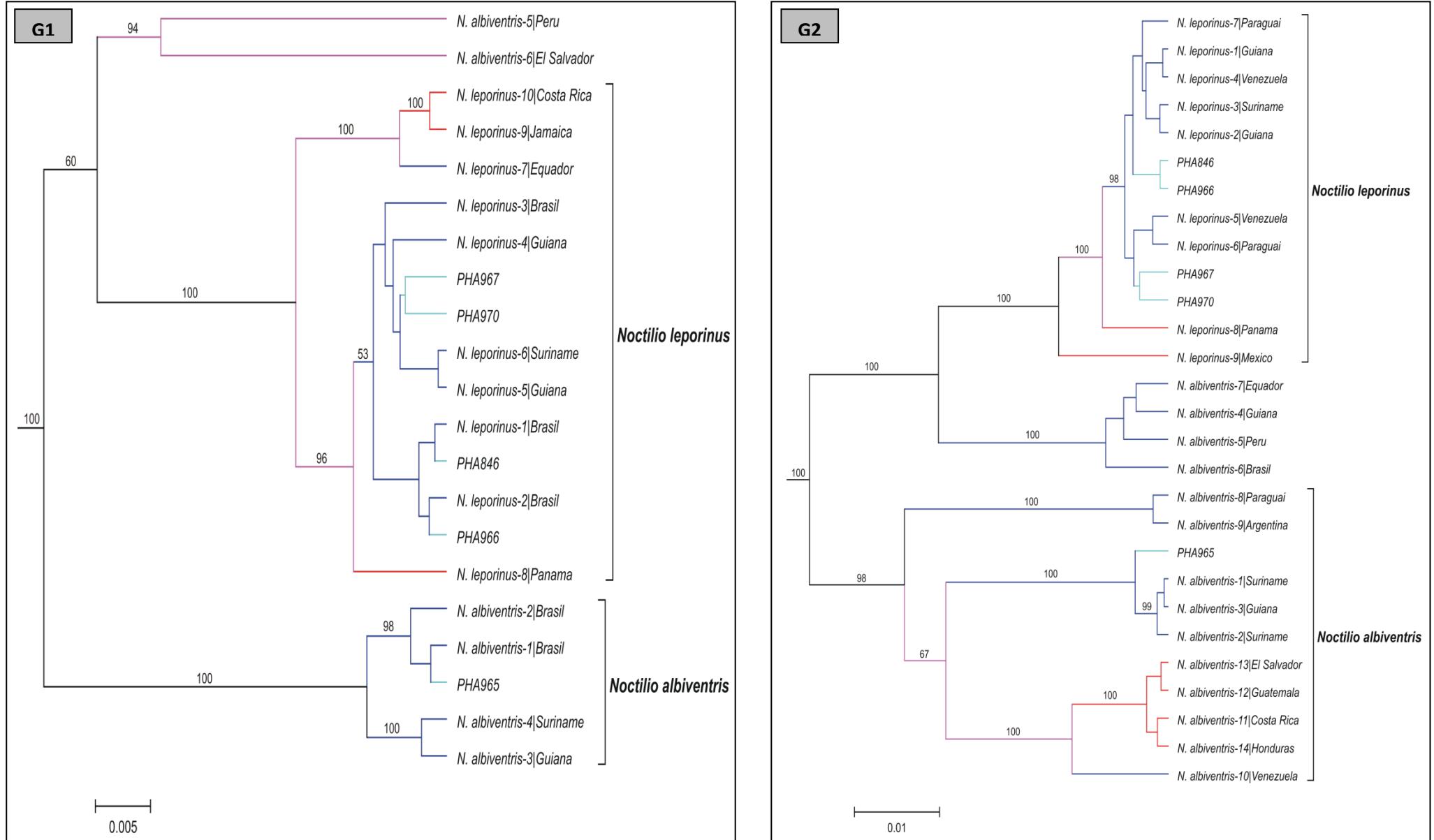


Figura 8 – Topologias de IB obtidas à partir de 739 pb de Citb (G1) e 621 pb de COI (G2), entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no GenBank e Bold. Os valores sobre os ramos indicam o suporte de ramo das probabilidades posteriores.

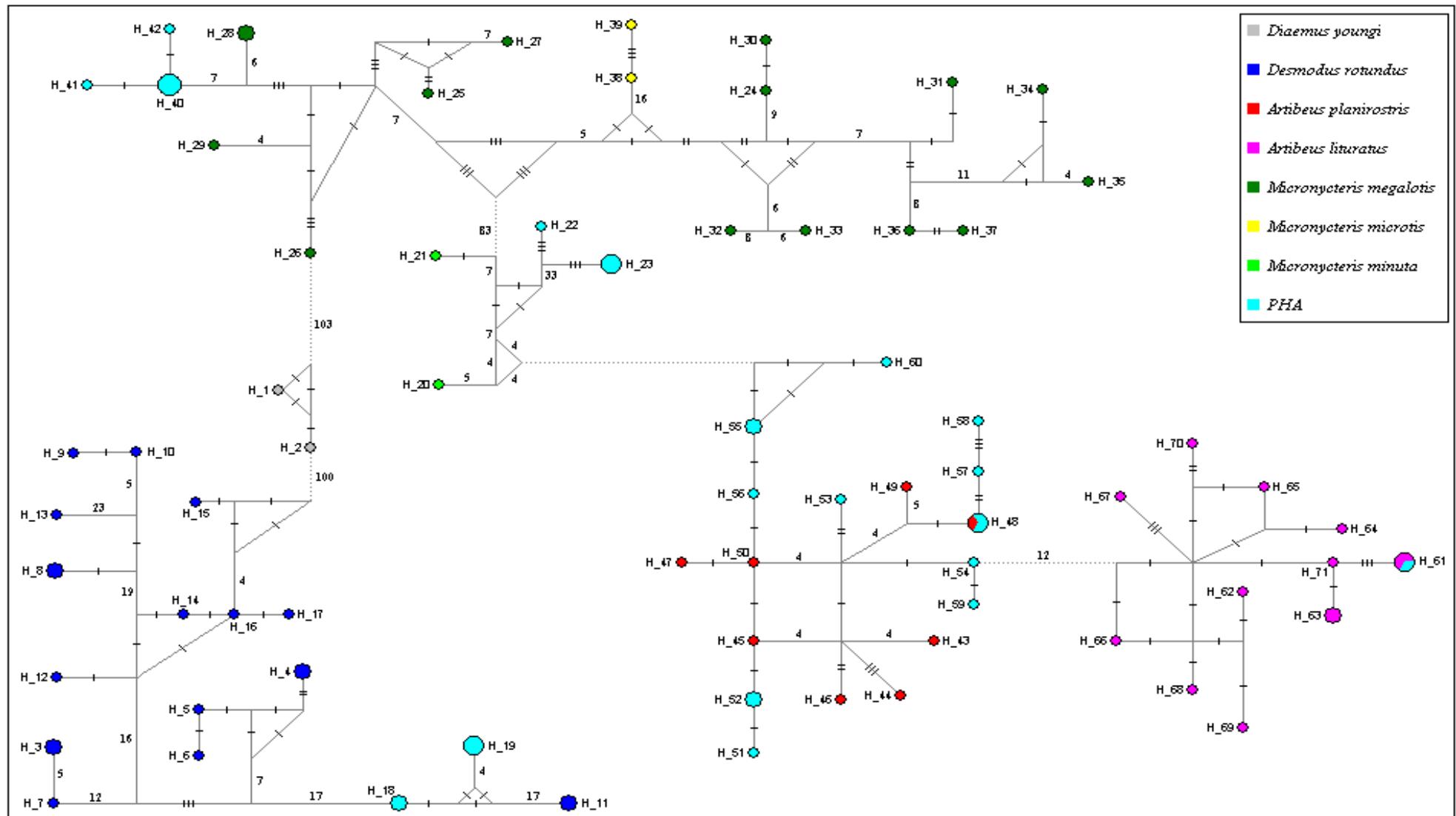


Figura 9 – Rede haplotípica obtida pelas sequências de COI de morcegos, apresentando as relações genealógicas entre os haplótipos dos indivíduos amostrados (PHAnº) e das espécies obtidas no BOLD. Cada cor representa a espécie do haplótipo encontrado. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos e os traços e números sobre as linhas que os conectam, representam o número de mutações presente entre eles.

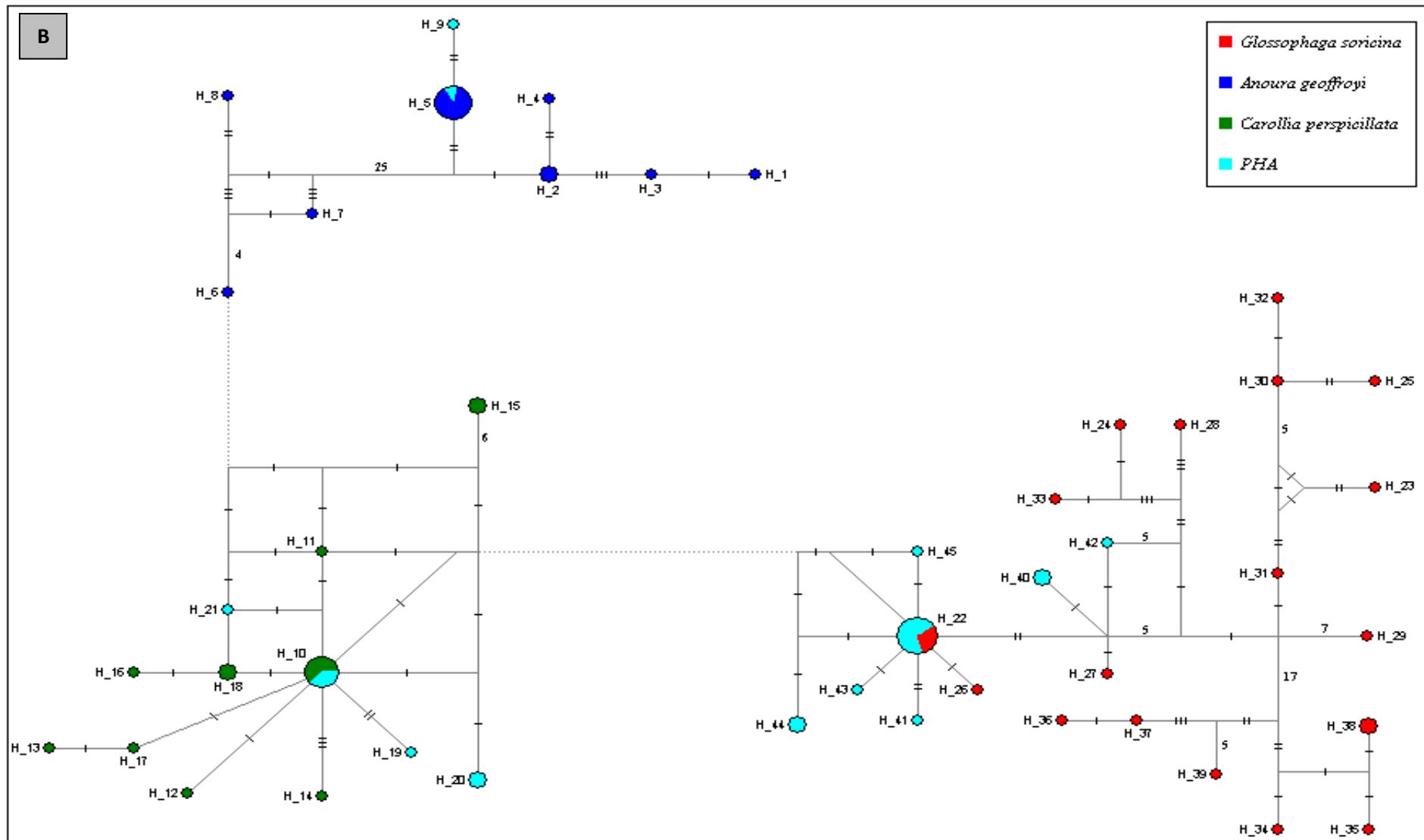


Figura 10 – Rede haplotípica obtida pelas sequências de COI de morcegos, apresentando as relações genealógicas entre os haplótipos dos indivíduos amostrados (PHAn^º) e das espécies obtidas no BOLD. Cada cor representa a espécie do haplótipo encontrado. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos e os traços e números sobre as linhas que os conectam, representam o número de mutações presente entre eles.

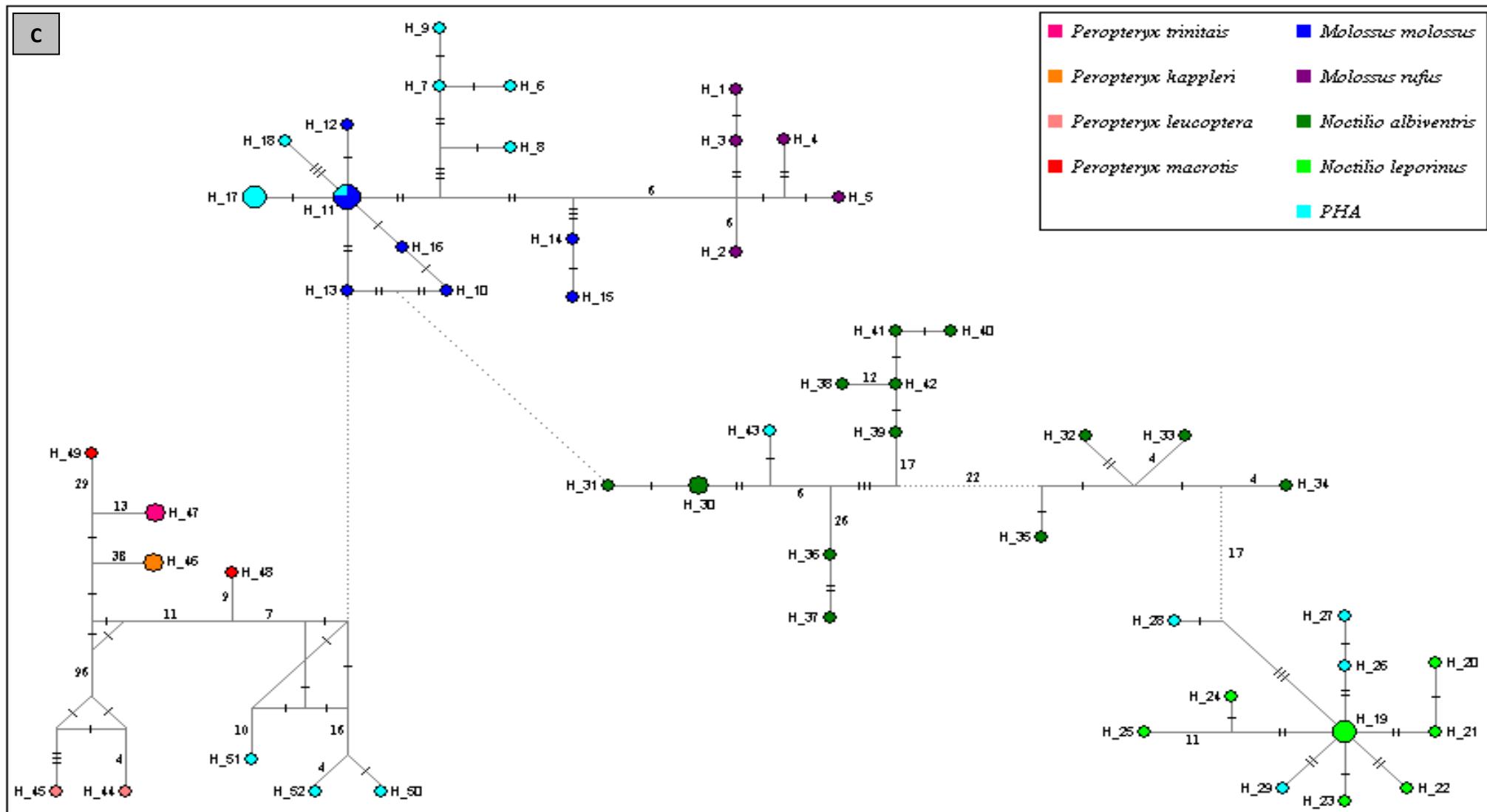


Figura 11 – Rede haplotípica obtida pelas sequências de COI de morcegos, apresentando as relações genealógicas entre os haplótipos dos indivíduos amostrados (PHAn^º) e das espécies obtidas no BOLD. Cada cor representa a espécie do haplótipo encontrado. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos e os traços e números sobre as linhas que os conectam, representam o número de mutações presente entre eles.

Tabela 1. Identificação das espécies amostradas na três Unidades de Conservação da Caatinga. As identificações morfológicas foram feitas baseadas em chaves de identificação para espécies de morcegos neotropicais. A identificação molecular foi feita baseada nos genes mitocondriais COI e Citb.

Identificação em campo	Identificação molecular	Identificação morfológica
<i>Anoura geoffroyi</i>	ok	ok
<i>Artibeus planirostris</i>	<i>Artibeus planirostris</i>	ok
<i>Artibeus cf. obscurus</i>		
<i>Artibeus lituratus</i>	ok	ok
<i>Carollia sp.</i>	<i>Carollia perspicillata</i>	ok
<i>Diaemus youngi</i>	<i>Desmodus rotundus</i>	ok
<i>Glossophaga soricina</i>		
<i>Glossophaga sp.</i>	<i>Glossophaga soricina</i>	ok
<i>Glossophaginae</i>		
<i>Choeroniscus sp.</i>		
<i>Lonchophyllinae</i>		
<i>Lonchophylla cf. mordax</i>	<i>Lonchophylla</i> sp.	<i>Lonchophylla</i> cf. <i>inexpectata</i>
<i>Lonchophylla dekeyseri</i>		
<i>Micronycteris minuta</i>	<i>Micronycteris</i> sp.	<i>Micronycteris sanborni</i>
<i>Micronycteris sanborni</i>		
<i>Micronycteris sp.</i>		
<i>Micronycteris af. schimidtorum</i>	<i>Micronycteris megalotis</i>	<i>Micronycteris</i> cf. <i>microtis</i>
<i>Micronycteris cf. microtis</i>		
<i>Molossops temminckii</i>	<i>Molossidae</i>	<i>Molossops temminckii</i>
<i>Molossus cf. currentium</i>	<i>Molossus molossus</i>	<i>Molossus</i> cf. <i>molossus</i>
<i>Molossus sp.</i>		
<i>Myotis sp.</i>		
<i>Myotis albescens</i>	<i>Myotis</i> sp.	<i>Myotis lavalii</i>
<i>Myotis nigricans</i>		
<i>Neoplatyrrhinus matogrossensis</i>	<i>Molossidae</i>	<i>Neoplatyrrhinus matogrossensis</i>
<i>Noctilio albiventris</i>	ok	ok
<i>Noctilio leporinus</i>	ok	ok
<i>Peropteryx sp.</i>	<i>Peropteryx</i> sp.	ok
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	ok	ok
<i>Rhogeessa sp.</i>		
<i>Rhogeessa cf. hussoni</i>	<i>Rhogessa</i> sp.	<i>Rhogessa</i> cf. <i>hussoni</i>
<i>Xeronycteris vieirai</i>	<i>Xeronycteris vieirai</i>	ok
<i>Lonchophyllinae</i>		

Tabela 2. Espécies de morcegos deste trabalho com suas correspondências no *Barcode Index Number* (BIN) e o número total de BINs encontrados para cada espécie no geral.

Espécie	BIN	Total de BIN	Obs.
<i>Anoura geoffroyi</i>	AAA4431	2	
<i>Artibeus lituratus</i>	AAA874	1	
<i>Artibeus planirostris</i>	ABZ9500	1	
<i>Carollia perspicillata</i>	AAA0002	1	
<i>Desmodus rotundus</i>	AAA2580	7	BIN privado – Brasil**
<i>Glossophaga soricina</i>	AAA1465	7	
<i>Lonchophylla cf. inexpectata</i>	ACO2508	X	BIN privado – Brasil***
<i>Micronycteris sanborni</i>	Não disponível	X	BIN privado – Brasil***
<i>Micronycteris cf. megalotis</i>	ACE9702	11	
<i>Molossus cf. molossus</i>	AAA2454	1	
<i>Molossus cf. molossus (PHA 892)</i>	Não disponível	X	BIN privado – Brasil**
<i>Myotis lavalii</i>	ACY1177	X	BIN privado – Brasil***
<i>Noctilio leporinus</i>	AAA9336	2	
<i>Noctilio albiventris</i>	AAB0799	4	
<i>Peropteryx</i> sp.	X	X	Nenhuma correspondência*
<i>Rhogeessa cf. hussoni</i>	X	X	Nenhuma correspondência*
<i>Xeronycteris vieirai</i>	X	X	Nenhuma correspondência*

*Espécies que não tem sequência disponível no Bold

**Espécies que tem sequências disponíveis, mas as que foram seu BIN não estão disponíveis.

***Espécies que não têm sequências disponíveis, mas tiveram correpondência de BIN com sequências ainda não disponíveis no banco de dados.

Tabela 3. Espécies de morcegos com sequências deste trabalho e do Bold, analisadas pelo método de distância K2P para COI com as médias das distâncias intraespecíficas e as máximas distâncias intraespecíficas.

Espécie	Média da distância intraespecífica (%)	Máxima distância intraespecífica (%)
<i>Anoura geoffroyi</i>	2.4	8.2
<i>Artibeus planirostris</i>	1.3	2.9
<i>Artibeus lituratus</i>	0.7	1.1
<i>Carollia perspicillata</i>	0.6	1.8
<i>Desmodus rotundus</i>	4.9	7.4
<i>Diaemus youngi</i>	0.3	0.3
<i>Glossophaga soricina</i>	2.8	6.7
<i>Lonchophylla cf. inexpectata</i>	0.3	2.0
<i>Micronycteris minuta</i>	4.4	4.4
<i>Micronycteris sanborni</i>	0.5	1.0
<i>Micronycteris megalotis</i>	4.2	7.9
<i>Micronycteris microtis</i>	0.5	0.5
<i>Molossus molossus</i>	1.0	1.8
<i>Molossus rufus</i>	0.9	1.5
<i>Myotis albescens</i>	0.0	0.0
<i>Myotis nigricans</i>	0.0	0.0
<i>Myotis lavalii</i>	0.1	0.8
<i>Noctilio leporinus</i>	0.9	2.7
<i>Noctilio albiventris</i>	5.3	8.4
<i>Peropteryx leucoptera</i>	1.3	1.3
<i>Peropteryx kappleri</i>	0.0	0.0
<i>Peropteryx trinitatis</i>	0.0	0.0
<i>Peropteryx macrotis</i>	9.1	9.1
<i>Peropteryx</i> sp.	3.9	5.7
<i>Rhogesssa io</i>	0.0	0.0
<i>Rhogesssa cf. hussoni</i>	0.3	0.3
<i>Xeronycteris vieirai</i>	0.0	0.0

Tabela 4. Espécies de morcegos com sequências deste trabalho e do Bold, analisadas pelo método de distância K2P para COI com as médias das distâncias intraespecíficas entre e dentro dos grupos América Central, América do Sul e Brasil.

Espécie	Distância entre grupos (%)			Distância dentro dos grupos (%)		
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Anoura geoffroyi</i>	AS - BR	x	x	AS	BR	x
	1.0	6.9	6.7	0.6	0.1	1.3
<i>Artibeus planirostris</i>	1.3	1.3	1.2			
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Artibeus lituratus</i>	0.9	0.6	1.0	0.6	0.0	0.8
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Carollia perspicillata</i>	0.7	0.3	0.7	0.3	0.9	0.2
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Desmodus rotundus</i>	5.8	5.3	5.7	4.4	2.0	2.0
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Glossophaga soricina</i>	2.1	5.4	5.4	2.2	0.6	1.3
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Micronycteris megalotis</i>	4.4	4.6	5.4	4.4	0.1	2.6
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Molossus molossus</i>	1.0	0.5	0.8	0.7	0.9	x
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Molossus rufus</i>	x	1.0	x	1.0	x	0.5
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Noctilio leporinus</i>	0.6	1.5	1.8	0.3	0.8	2.0
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC
<i>Noctilio albiventris</i>	4.8	5.9	6.5	5.3	6.9	0.3
	AS-BR	AS-AC	AC-BR	AS	BR	AC

Tabela 5. Espécies de morcegos com sequências deste trabalho e do Bold, analisadas pelo método de distância K2P para COI com as médias das distâncias entre as espécies.

Espécies	Média da Distância (%)	Espécies	Média da Distância (%)
<i>Artibeus planirostris</i>	3.6	<i>Noctilio albiventris</i> (Parte 1)	4.3
<i>Artibeus lituratus</i>		<i>Noctilio leporinus</i>	
<i>Diaemus youngi</i>	24.3	<i>Noctilio albiventris</i> (Parte 2)	7.8
<i>Desmodus rotundus</i>		<i>Noctilio leporinus</i>	
<i>Lonchophylla mordax</i>	23.1	<i>Noctilio albiventris</i> (Parte 1)	7.2
<i>Lonchophylla cf. inexpectata</i>		<i>Noctilio albiventris</i> (Parte 2)	
<i>Lonchophylla mordax</i>	23.7	<i>Peropteryx leucoptera</i>	23.3
<i>Xeronycteris vieirais</i>		<i>Peropteryx kappleri</i>	
<i>Micronycteris minuta</i>	9.3	<i>Peropteryx leucoptera</i>	23.3
<i>Micronycteris sanborni</i>		<i>Peropteryx trinitatis</i>	
<i>Micronycteris minuta</i>	21.9	<i>Peropteryx leucoptera</i>	23.6
<i>Micronycteris megalotis</i>		<i>Peropteryx macrotis</i>	
<i>Micronycteris minuta</i>	21.3	<i>Peropteryx kappleri</i>	8.1
<i>Micronycteris microtis</i>		<i>Peropteryx trinitatis</i>	
<i>Micronycteris megalotis</i>	21.6	<i>Peropteryx kappleri</i>	9.4
<i>Micronycteris sanborni</i>		<i>Peropteryx macrotis</i>	
<i>Micronycteris megalotis</i>	6.4	<i>Peropteryx macrotis</i>	6.7
<i>Micronycteris microtis</i>		<i>Peropteryx trinitatis</i>	
<i>Micronycteris microtis</i>	22.6	<i>Peropteryx macrotis</i>	8.0
<i>Micronycteris sanborni</i>		<i>Peropteryx (PHA 845/718)</i>	
<i>Molossus rufus</i>	2.3	<i>Peropteryx trinitatis</i>	8.7
<i>Molossus molossus</i>		<i>Peropteryx (PHA 845/718)</i>	
<i>Myotis albescens</i>	10.6	<i>Peropteryx macrotis</i>	
<i>Myotis nigricans</i>		<i>Peropteryx (PHA 719)</i>	6.6
<i>Myotis albescens</i>	10.9	<i>Peropteryx trinitatis</i>	
<i>Myotis lavalii</i>		<i>Peropteryx (PHA 719)</i>	6.3
<i>Myotis nigricans</i>	6.9	<i>Peropteryx (PHA 845/718)</i>	
<i>Myotis lavalii</i>		<i>Peropteryx (PHA 719)</i>	5.4
		<i>Rhogeessa io</i>	
		<i>Rhogeessa cf. hussoni</i>	10.7

Tabela 6. Sequências de *Micronyctaris megalotis* e *Micronycteris microtis* deste trabalho e do Bold, analisadas pelo método de distância K2P para COI com as médias das distâncias entre os clados e as médias das distâncias dentro dos clados. As sequências foram divididas em 8 clados conforme observado na topologia de Inferência Bayesiana para COI.

Clados	Média da Distância (%)
<i>M. megalotis</i> 1	2,6
<i>M. megalotis</i> 2	
<i>M. megalotis</i> 1	3,0
<i>M. megalotis</i> 3	
<i>M. megalotis</i> 1	5,1
<i>M. megalotis</i> 4	
<i>M. megalotis</i> 1	4,9
<i>M. megalotis</i> 5	
<i>M. megalotis</i> 1	5,3
<i>M. megalotis</i> 6	
<i>M. megalotis</i> 1	7,1
<i>M. microtis</i> 7	
<i>M. megalotis</i> 1	6,4
<i>M. megalotis</i> 8	
<i>M. megalotis</i> 2	2,4
<i>M. megalotis</i> 3	
<i>M. megalotis</i> 2	5,0
<i>M. megalotis</i> 4	
<i>M. megalotis</i> 2	5,1
<i>M. megalotis</i> 5	
<i>M. megalotis</i> 2	5,5
<i>M. megalotis</i> 6	
<i>M. megalotis</i> 2	6,3
<i>M. microtis</i> 7	
<i>M. megalotis</i> 2	6,6
<i>M. megalotis</i> 8	
<i>M. megalotis</i> 3	4,9
<i>M. megalotis</i> 4	

Clados	Média da Distância (%)
<i>M. megalotis</i> 3	5,5
<i>M. megalotis</i> 5	
<i>M. megalotis</i> 3	6,2
<i>M. megalotis</i> 6	
<i>M. megalotis</i> 3	7,5
<i>M. microtis</i> 7	
<i>M. megalotis</i> 3	7,4
<i>M. megalotis</i> 8	
<i>M. megalotis</i> 4	3,4
<i>M. megalotis</i> 5	
<i>M. megalotis</i> 4	4,5
<i>M. megalotis</i> 6	
<i>M. megalotis</i> 4	6,9
<i>M. microtis</i> 7	
<i>M. megalotis</i> 4	5,3
<i>M. megalotis</i> 8	
<i>M. megalotis</i> 5	4,0
<i>M. megalotis</i> 6	
<i>M. megalotis</i> 5	5,3
<i>M. microtis</i> 7	
<i>M. megalotis</i> 5	4,3
<i>M. megalotis</i> 8	
<i>M. megalotis</i> 6	5,5
<i>M. microtis</i> 7	
<i>M. megalotis</i> 6	4,2
<i>M. megalotis</i> 8	
<i>M. microtis</i> 7	5,0
<i>M. megalotis</i> 8	

Clados	Média da distância intraespecífica (%)
<i>M. megalotis</i> 1	1,7
<i>M. megalotis</i> 2	1,8
<i>M. megalotis</i> 3	0,1
<i>M. megalotis</i> 4	1,2
<i>M. megalotis</i> 5	1,6
<i>M. megalotis</i> 6	0,2
<i>M. microtis</i> 7	0,5
<i>M. megalotis</i> 8	2,3

Tabela 7. Espécies de morcegos as quais tiveram identificação molecular inconclusiva com os caracteres diagnósticos utilizados para nova identificação morfológica.

Espécie	Caracteres diagnósticos
<i>Lonchophylla morda</i>	
<i>Lonchophylla dekeyseri</i>	Morfologia do 3º pré molar e dos 1º e 2º molares
<i>Lonchophylla inexpectata</i>	
<i>Micronycteris minuta</i>	
<i>Micronycteris sanborni</i>	Coloração do ventre
<i>Micronycteris microtis</i>	
<i>Micronycteris megalotis</i>	Altura da orelha e do pelo da ponta do terço médio do pavilhão da orelha
<i>Myotis nigricans</i>	
<i>Myotis levis</i>	Coloração dos pelos do dorso e ventre
<i>Myotis lavalii</i>	
<i>Rhogeessa io</i>	Medidas cranianas, tamanho do antebraço, coloração do ventre,
<i>Rhogeessa hussoni</i>	presença ou ausência de glândula atrás da orelha
<i>P. trinitatis</i>	
<i>P. macrotis</i>	Medidas cranianas
<i>Molossops temminckii</i>	
<i>Neoplatymops mattogrossensis</i>	Presença / Ausência de verrugas no antebraço

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1. Planilha com nome, numeração, localidade, correspondência de *Barcode index number* (BIN) e número de acesso das espécies no GeneBank, obtidas no BOLD para o gene citocromo oxidase subunidade I (COI).

Nº	Espécie	Localização	BIN	GenBank
1	<i>Pteronotus parnellii</i>	Venezuela	AAA1246	JF448343
1	<i>Anoura geoffroyi</i>	Guiana	AAA4431	JF452167
2	<i>Anoura geoffroyi</i>	Guiana	AAA4431	JF452171
3	<i>Anoura geoffroyi</i>	Suriname	AAA4431	EU096555
4	<i>Anoura geoffroyi</i>	Suriname	AAA4431	HQ919742
5	<i>Anoura geoffroyi</i>	Venezuela	AAA4431	JF447879
6	<i>Anoura geoffroyi</i>	Brasil - ES	AAA4431	KT236265.1
7	<i>Anoura geoffroyi</i>	Guatemala	AAA4430	JF446614
8	<i>Anoura geoffroyi</i>	El Salvador	AAA4430	JF446442
9	<i>Anoura geoffroyi</i>	Panamá	AAA4430	JF447340
1	<i>Artibeus planirostris</i>	Equador	ABZ9500	JF448669
2	<i>Artibeus planirostris</i>	Equador	ABZ9500	JF448654
3	<i>Artibeus planirostris</i>	Guiana	ABZ9500	JF453635
4	<i>Artibeus planirostris</i>	Guiana	ABZ9500	JF448681
5	<i>Artibeus planirostris</i>	Suriname	ABZ9500	EU096599
6	<i>Artibeus planirostris</i>	Suriname	ABZ9500	EU096603
7	<i>Artibeus planirostris</i>	Venezuela	ABZ9500	JF447783
8	<i>Artibeus planirostris</i>	Venezuela	ABZ9500	JF447780
1	<i>Artibeus lituratus</i>	Brasil - SP	AAA874	JF446345
2	<i>Artibeus lituratus</i>	Brasil - SP	AAA874	JF446319
3	<i>Artibeus lituratus</i>	Equador	AAA874	JF448573
4	<i>Artibeus lituratus</i>	Equador	AAA874	JF448571
5	<i>Artibeus lituratus</i>	Guiana	AAA874	JF452740
6	<i>Artibeus lituratus</i>	Guiana	AAA874	JF452745
7	<i>Artibeus lituratus</i>	Suriname	AAA874	EU096566
8	<i>Artibeus lituratus</i>	Suriname	AAA874	EU096583
9	<i>Artibeus lituratus</i>	Guatemala	AAA874	JF446666
10	<i>Artibeus lituratus</i>	México	AAA874	JF447139
11	<i>Artibeus lituratus</i>	Panamá	AAA874	JF447354
12	<i>Artibeus lituratus</i>	Costa Rica	AAA874	JF446573
13	<i>Artibeus lituratus</i>	Belize	AAA874	JF498917
1	<i>Carollia perspicillata</i>	Equador	AAA0002	JF448803
2	<i>Carollia perspicillata</i>	Equador	AAA0002	JF448802
3	<i>Carollia perspicillata</i>	Guiana	AAA0002	JF454256
4	<i>Carollia perspicillata</i>	Guiana	AAA0002	JF454254
5	<i>Carollia perspicillata</i>	Venezuela	AAA0002	JF447796
6	<i>Carollia perspicillata</i>	Venezuela	AAA0002	JF447793
7	<i>Carollia perspicillata</i>	Suriname	AAA0002	JF447605

8	<i>Carollia perspicillata</i>	Suriname	AAA0002	JF447604
9	<i>Carollia perspicillata</i>	Brasil	AAA0002	JF446359
10	<i>Carollia perspicillata</i>	Brasil	AAA0002	JF446356
11	<i>Carollia perspicillata</i>	México	AAA0002	JF447208
12	<i>Carollia perspicillata</i>	Panamá	AAA0002	JF447396
13	<i>Carollia perspicillata</i>	Costa Rica	AAA0002	JF446591
14	<i>Carollia perspicillata</i>	Nicaragua	AAA0002	JF459379
15	<i>Carollia perspicillata</i>	Belize	AAA0002	JF498955
1	<i>Desmodus</i>	Venezuela	AAA2577	JF435327
2	<i>Desmodus</i>	Venezuela	AAA2577	JF435326
3	<i>Desmodus</i>	Suriname	AAA2579	HQ919659
4	<i>Desmodus</i>	Suriname	AAA2579	HQ919706
5	<i>Desmodus</i>	Guiana	AAA2579	JF435315
6	<i>Desmodus</i>	Guiana	AAA2579	JF435316
7	<i>Desmodus</i>	Guiana	AAA2577	JF435271
8	<i>Desmodus</i>	Equador	AAA2576	JF435280
9	<i>Desmodus</i>	Equador	AAA2576	JF435281
10	<i>Desmodus</i>	Equador	ACE4134	JF435282
11	<i>Desmodus</i>	Equador	ACE4134	JF435283
12	<i>Desmodus</i>	Brasil	AAA2578	JF435292
13	<i>Desmodus</i>	Brasil	AAA2578	JF435292
14	<i>Desmodus</i>	México	AAA2574	JF435296
15	<i>Desmodus</i>	Panamá	AAA2575	JF435291
16	<i>Desmodus</i>	Guatemala	AAA2574	JF435323
17	<i>Desmodus</i>	Costa Rica	AAA2574	JF448022
18	<i>Desmodus</i>	Belize	AAA2574	JF499009
19	<i>Desmodus</i>	El Salvador	AAA2574	JF435337
1	<i>Diaemus</i>	Suriname	AAE7621	HQ545471
2	<i>Diaemus</i>	Guiana	AAE7621	EF080328
1	<i>Glossophaga soricina</i>	Suriname	AAA1465	EU096746
2	<i>Glossophaga soricina</i>	Suriname	AAA1465	EU096744
3	<i>Glossophaga soricina</i>	Suriname	ACE3354	EU096748
4	<i>Glossophaga soricina</i>	Suriname	ACE4607	HQ919757
5	<i>Glossophaga soricina</i>	Suriname	ACE3353	JQ601366
6	<i>Glossophaga soricina</i>	Brasil	AAA1465	JF435476
7	<i>Glossophaga soricina</i>	Equador	AAA1465	JF435484
8	<i>Glossophaga soricina</i>	Equador	ACE4607	JF448043
9	<i>Glossophaga soricina</i>	Venezuela	ACE3354	JF435480
10	<i>Glossophaga soricina</i>	Venezuela	ACE3353	JF435482
11	<i>Glossophaga soricina</i>	Guiana	ACE3354	JF435445
12	<i>Glossophaga soricina</i>	Guiana	ACE3353	JF435446
13	<i>Glossophaga soricina</i>	Guiana	AAA1465	JF435449
14	<i>Glossophaga soricina</i>	Guiana	ACE4607	JF435455
15	<i>Glossophaga soricina</i>	Guatemala	AAA1464	JF435374

16	<i>Glossophaga soricina</i>	México	AAA1464	JF435376
17	<i>Glossophaga soricina</i>	Panamá	ACE7060	JF435358
18	<i>Glossophaga soricina</i>	Nicaragua	ACE7060	JF448040
19	<i>Glossophaga soricina</i>	Belize	AAA1464	JF499013
20	<i>Glossophaga soricina</i>	Costa Rica	AAA1464	JF499013
21	<i>Glossophaga soricina</i>	Costa Rica	ACE7060	JF499021
1	<i>Lonchophylla mordax</i>	Equador	AAX6304	JF448855
1	<i>Micronycteris minuta</i>	Equador	AAB3895	JF448931
2	<i>Micronycteris minuta</i>	Guiana	AAB3893	JF454960
1	<i>Micronycteris microtis</i>	Brasil - SP	AAA6110	JF446376
2	<i>Micronycteris microtis</i>	Brasil - SP	AAA6110	JF446377
1	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	AAA6103	JF435512
2	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	AAA6104	JF435488
3	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	ACE5076	JF435518
4	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	ACE6252	JF435496
5	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	ACE9702	JF435521
6	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	ACF0858	JF435502
7	<i>Micronycteris megalotis</i>	Suriname	AAA6103	EU096780
8	<i>Micronycteris megalotis</i>	Suriname	ACE9702	JQ601403
9	<i>Micronycteris megalotis</i>	Equador	ACF1099	JF435508
10	<i>Micronycteris megalotis</i>	Equador	AAA6106	JF448925
11	<i>Micronycteris megalotis</i>	Equador	AAA6108	JF435505
12	<i>Micronycteris megalotis</i>	Venezuela	AAA6107	JF435494
13	<i>Micronycteris megalotis</i>	Panamá	AAA6107	JF435489
14	<i>Micronycteris megalotis</i>	México	AAA6105	JF435517
15	<i>Micronycteris megalotis</i>	Nicaragua	AAA6105	JF459478
1	<i>Molossus rufus</i>	Equador	AAA2454	JF448982
2	<i>Molossus rufus</i>	Guiana	AAA2454	JF455100
3	<i>Molossus rufus</i>	Suriname	AAA2454	EU096796
4	<i>Molossus rufus</i>	El Salvador	AAA2454	JF446515
5	<i>Molossus rufus</i>	México	AAA2454	JF447269
1	<i>Molossus molossus</i>	Equador	AAA2454	JF448961
2	<i>Molossus molossus</i>	Equador	AAA2454	JF448960
3	<i>Molossus molossus</i>	Guiana	AAA2454	JF455055
4	<i>Molossus molossus</i>	Guiana	AAA2454	JF455062
5	<i>Molossus molossus</i>	Suriname	AAA2454	EU096791
6	<i>Molossus molossus</i>	Suriname	AAA2454	EU096790
7	<i>Molossus molossus</i>	Venezuela	AAA2454	JF447833
8	<i>Molossus molossus</i>	Venezuela	AAA2454	JF447832
9	<i>Molossus molossus</i>	Panamá	AAA2454	JF447423
1	<i>Myotis albescens</i>	Guiana	AAB2781	JF455113
2	<i>Myotis albescens</i>	Suriname	AAB2781	EU096807
1	<i>Myotis nigricans</i>	Equador	AAC3739	JQ601611
2	<i>Myotis nigricans</i>	Equador	AAC3739	JQ601612

1	<i>Noctilio leporinus</i>	Guiana	AAA9336	JF455171
2	<i>Noctilio leporinus</i>	Guiana	AAA9336	JF455170
3	<i>Noctilio leporinus</i>	Suriname	AAA9336	JF447690
4	<i>Noctilio leporinus</i>	Venezuela	AAA9336	KC011669
5	<i>Noctilio leporinus</i>	Venezuela	AAA9336	KC011670
6	<i>Noctilio leporinus</i>	Paraguai	AAA9336	KC011679
7	<i>Noctilio leporinus</i>	Paraguai	AAA9336	KC011680
8	<i>Noctilio leporinus</i>	Panamá	AAA9336	JF447426
9	<i>Noctilio leporinus</i>	México	ABY6336	JF435949
1	<i>Noctilio albiventris</i>	Suriname	AAB0799	KC011609
2	<i>Noctilio albiventris</i>	Suriname	AAB0799	KC011610
3	<i>Noctilio albiventris</i>	Guiana	AAB0799	KC011611
4	<i>Noctilio albiventris</i>	Guiana	AAB7680	JF455128
5	<i>Noctilio albiventris</i>	Peru	AAB7680	KC011601
6	<i>Noctilio albiventris</i>	Brasil	AAB7680	KC011605
7	<i>Noctilio albiventris</i>	Equador	AAB7680	KC011608
8	<i>Noctilio albiventris</i>	Paraguai	ACG0982	KC011615
9	<i>Noctilio albiventris</i>	Argentina	ACG0982	KC011616
10	<i>Noctilio albiventris</i>	Venezuela	ACQ5155	KC011635
11	<i>Noctilio albiventris</i>	Costa Rica	ACQ5155	KC011636
12	<i>Noctilio albiventris</i>	Guatemala	ACQ5155	KC011637
13	<i>Noctilio albiventris</i>	El Salvador	ACQ5155	KC011638
14	<i>Noctilio albiventris</i>	Honduras	ACQ5155	KC011640
1	<i>Peropteryx leucoptera</i>	Guiana	AAF4973	EF080540
2	<i>Peropteryx leucoptera</i>	Guiana	AAF4973	EF080539
1	<i>Peropteryx kappleri</i>	Guiana	AAI4876	EF080537
2	<i>Peropteryx kappleri</i>	Guiana	AAI4876	EF080536
1	<i>Peropteryx trinitatis</i>	Venezuela	AAC4169	JF447844
2	<i>Peropteryx trinitatis</i>	Venezuela	AAC4169	JF447837
1	<i>Peropteryx macrotis</i>	Suriname	AAC5354	EU096826
2	<i>Peropteryx macrotis</i>	México	AAC5353	JF447310
1	<i>Rhogeessa io</i>	Guiana	AAD6651	JF455668
2	<i>Rhogeessa io</i>	Guiana	AAD6651	JF455669

Tabela S2. Planilha com nome, numeração, localidade e número de acesso das espécies no GeneBank, obtidas neste banco de dados para o gene citocromo b (Citb).

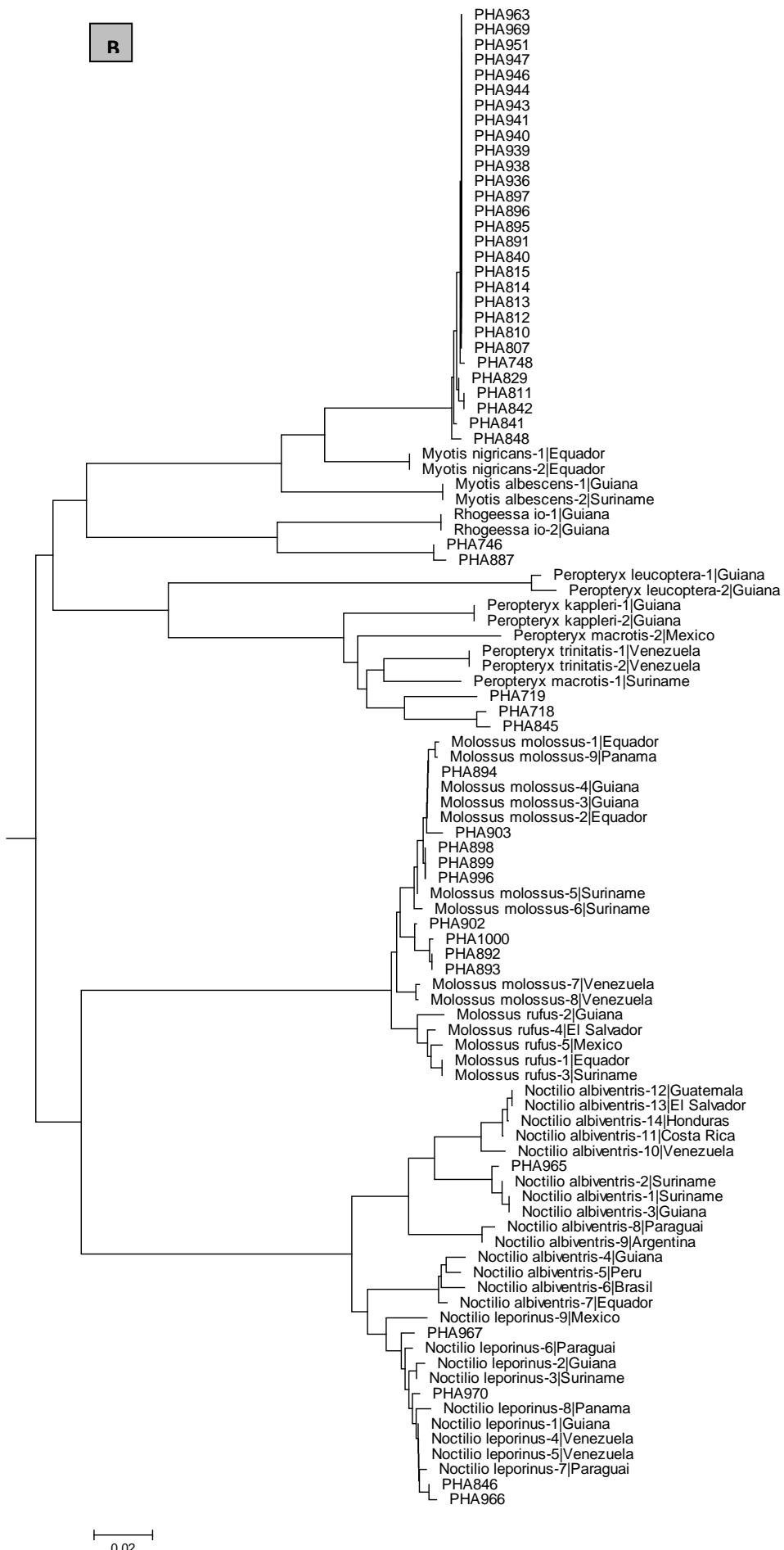
Nº	Espécie	Localização	GenBank
1	<i>Pteronotus parnellii</i>	Venezuela	KX589895.1
1	<i>Anoura geoffroyi</i>	El Salvador	FJ155495.1
1	<i>Artibeus planirostris</i>	Brasil - BA	EU160887.1
2	<i>Artibeus planirostris</i>	Brasil - PB	EU160869.1
3	<i>Artibeus planirostris</i>	Brasil - PE	EU160885.1

4	<i>A. planirostris fallax</i>	Venezuela	DQ869426.1
5	<i>Artibeus planirostris</i>	Bolívia	AY684718.1
6	<i>Artibeus planirostris</i>	Equador	AY684713.1
7	<i>A. planirostris hercules</i>	Equador	DQ869418.1
8	<i>Artibeus planirostris</i>	Paraguai	AY684775.1
9	<i>Artibeus planirostris</i>	Peru	AY684716.1
10	<i>A. planirostris trinitatis</i>	Trinidad e T	DQ869433.1
11	<i>A. planirostris grenadensis</i>	Grenada	DQ869439.1
1	<i>Artibeus lituratus</i>	Brasil - BA	EU160725.1
2	<i>Artibeus lituratus</i>	Brasil - PB	EU160724.1
3	<i>Artibeus lituratus</i>	Brasil - SP	KP134572.1
4	<i>Artibeus lituratus</i>	Guiana	HQ702535.1
5	<i>Artibeus lituratus</i>	Equador	AY684733.1
6	<i>Artibeus lituratus</i>	Equador	HQ702538.1
7	<i>Artibeus lituratus</i>	Peru	EU160807.1
8	<i>Artibeus lituratus</i>	Panamá	AY684731.1
1	<i>Carollia perspicillata</i>	Brasil - Amapa	FJ589715.1
2	<i>Carollia perspicillata</i>	Brasil - BA	AD 200
3	<i>Carollia perspicillata</i>	Brasil - AM	FJ589712.1
4	<i>Carollia perspicillata</i>	Guiana	AF511977.1
5	<i>Carollia perspicillata</i>	Guiana Francesa	HG003309.1
6	<i>Carollia perspicillata</i>	Venezuela	AF511983.1
7	<i>Carollia perspicillata</i>	Equador	AF511990.1
8	<i>Carollia perspicillata</i>	Peru	KF019723.1
9	<i>Carollia perspicillata</i>	México	AF511989.1
10	<i>Carollia perspicillata</i>	Guatemala	AF511988.1
1	<i>Desmodus</i>	Venezuela	HG003310.1
2	<i>Desmodus</i>	Venezuela	NC_022423.1
3	<i>Desmodus</i>	Brasil - SP	KP134587.1
4	<i>Desmodus</i>	Brasil - SP	KP134586.1
5	<i>Desmodus</i>	Honduras	DQ077398.1
1	<i>Diaemus</i>	El Salvador	FJ155475.1
1	<i>Glossophaga soricina</i>	Brasil - PB	AF382835.1
2	<i>Glossophaga soricina</i>	Brasil - RJ	AF382836.1
3	<i>Glossophaga soricina</i>	Guiana	AF382843.1
4	<i>Glossophaga soricina</i>	Guiana	AF382844.1
5	<i>Glossophaga soricina</i>	Paraguai	AF382848.1
6	<i>Glossophaga soricina</i>	Paraguai	AF382845.1
7	<i>Glossophaga soricina</i>	Suriname	AF382842.1
8	<i>Glossophaga soricina</i>	Venezuela	AF382831.1
9	<i>Glossophaga soricina</i>	Venezuela	AF382830.1
10	<i>Glossophaga soricina</i>	Equador	FJ392516.1
11	<i>Glossophaga soricina</i>	Equador	FJ392515.1
12	<i>Glossophaga soricina</i>	Peru	AF382849.1

13	<i>Glossophaga soricina</i>	Peru	AF382851.1
14	<i>Glossophaga soricina</i>	Bolívia	AF382840.1
15	<i>Glossophaga soricina</i>	El Salvador	AF382859.1
16	<i>Glossophaga soricina</i>	Guatemala	AF382867.1
17	<i>Glossophaga soricina</i>	México	AF382860.1
1	<i>Lonchophylla mordax</i>	Equador	AF423095.1
1	<i>Xeronycteris vieirai</i>	Brasil - PB	KF815312.1
1	<i>Micronycteris minuta</i>	Peru	DQ077405.1
2	<i>Micronycteris minuta</i>	Equador	DQ077404.1
1	<i>Micronycteris microtis</i>	Brasil	AY380755.1
2	<i>Micronycteris microtis</i>	Guiana Francesa	AY380756.1
1	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana	AY380757.1
2	<i>Micronycteris megalotis</i>	Guiana Francesa	HF947304.1
3	<i>Micronycteris megalotis</i>	Equador	DQ077429.1
4	<i>Micronycteris megalotis</i>	Equador	DQ077426.1
5	<i>Micronycteris megalotis</i>	Venezuela	AY380773.2
6	<i>Micronycteris megalotis</i>	Venezuela	AY380763.1
7	<i>Micronycteris megalotis</i>	México	AY380764.1
8	<i>Micronycteris megalotis</i>	Panamá	AY380765.1
1	<i>Micronycteris schmidtorum</i>	Bolívia	DQ077406.1
1	<i>Molossus molossus</i>	Brasil - SP	KP134562.1
2	<i>Molossus molossus</i>	Brasil - Sp	KP134559.1
1	<i>Myotis albescens</i>	Bolívia	AF376839.1
2	<i>Myotis albescens</i>	Equador	JX130463.1
3	<i>Myotis albescens</i>	Equador	JX130501.1
4	<i>Myotis albescens</i>	Paraguai	JX130504.1
5	<i>Myotis albescens</i>	Paraguai	JX130503.1
6	<i>Myotis albescens</i>	Suriname	JX130444.1
7	<i>Myotis albescens</i>	Peru	JX130445.1
1	<i>Myotis nigricans</i>	Brasil - PB	AF376864.1
2	<i>Myotis nigricans</i>	Brasil - SP	KP134584.1
3	<i>Myotis nigricans</i>	Venezuela	JX130530.1
4	<i>Myotis nigricans</i>	Venezuela	JX130529.1
1	<i>Myotis levis</i>	Argentina	JX130475.1
2	<i>Myotis levis</i>	Brasil - SP	AF376853.1
1	<i>Noctilio albiventris</i>	Brasil - SP	KP134550.1
2	<i>Noctilio albiventris</i>	Brasil - Amapa	JX235633.1
3	<i>Noctilio albiventris</i>	Guiana	KC011521.1
4	<i>Noctilio albiventris</i>	Suriname	KC011518.1
5	<i>Noctilio albiventris</i>	Peru	JX235647.1
6	<i>Noctilio albiventris</i>	El Salvador	KC011546.1
1	<i>Noctilio leporinus</i>	Brasil - PB	JX235582.1
2	<i>Noctilio leporinus</i>	Brasil - BA	JX235596.1

3	<i>Noctilio leporinus</i>	Brasil - AM	JX235601.1
4	<i>Noctilio leporinus</i>	Guiana	JX235605.1
5	<i>Noctilio leporinus</i>	Guiana	JX235606.1
6	<i>Noctilio leporinus</i>	Suriname	AF330794.1
7	<i>Noctilio leporinus</i>	Ecuador	KC011557.1
8	<i>Noctilio leporinus</i>	Panamá	JX235613.1
9	<i>Noctilio leporinus</i>	Jamaica	KC011551.1
10	<i>Noctilio leporinus</i>	Costa Rica	KC011554.1
1	<i>Peropteryx leucoptera</i>	Ecuador	HM367876.1
2	<i>Peropteryx leucoptera</i>	Guiana	EF584175.1
1	<i>Peropteryx kappleri</i>	Guiana Francesa	EF584169.1
2	<i>Peropteryx kappleri</i>	Guiana	EF584168.1
1	<i>Peropteryx trinitatis</i>	Venezuela	EF584182.1
2	<i>Peropteryx trinitatis</i>	Venezuela	EF584181.1
1	<i>Peropteryx macrotis</i>	Guiana	EF584180.1
2	<i>Peropteryx macrotis</i>	Guiana	EF584179.1
1	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	Brasil - BA	FJ154158.1
2	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	Brasil - PE	FJ154157.1
3	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	Brasil - SP	KP134547.1
4	<i>Platyrrhinus lineatus nig</i>	Peru	FJ154170.1
1	<i>Rhogeessa io</i>	Venezuela	EF222410.1
2	<i>Rhogeessa io</i>	Venezuela	EF222393.1
3	<i>Rhogeessa io</i>	Panamá	EF222369.1
4	<i>Rhogeessa io</i>	Trinidade	EF222379.1





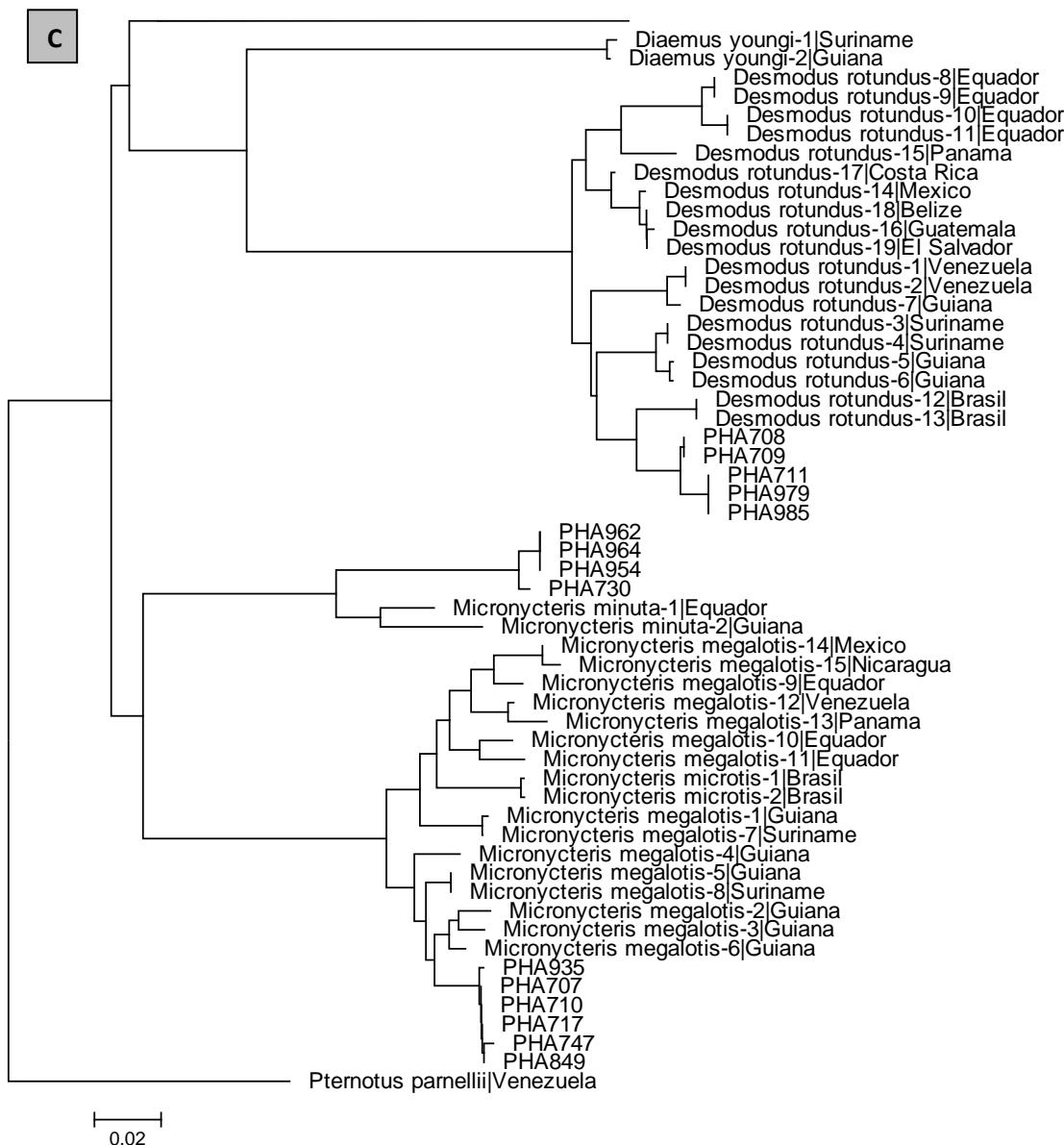


Figura S1 (A,B,C). Topologia de NJ (modelo K2P) obtida à partir de 621 pb de COI entre os exemplares de morcegos amostrados nas três UCs da Caatinga (PHAnº) e os obtidos no Bold.

REFERÊNCIAS

- Agnarsson, I., Zambrana-Torrelío, C.M., Flores-Saldana, N.P., Maycollado, L.J., 2011. A time-calibrated species-level phylogeny of bats (Chiroptera, Mammalia). PLoS Currents 4 (3): RRN1212.
- Agrizzi, J., Loss, A.C., Farro, A.P.C., Duda, R., Costa, L.P., Leite, Y.L.R., 2012. Molecular diagnosis of Atlantic Forest mammals using mitochondrial DNA Sequences: Didelphid Marsupials .The Open Zoology Journal, 5, Suppl 1-M2: 2-9.
- Aguiar, L.M.S., Antonini, Y., 2008. Diet of two sympatric bats (Chiroptera: Vespertilionidae) in the Cerrado of Central Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, V. 25, 28-31.
- Aguiar, L.M.D.S., Rosa, R.O.L., Jones, G., Machado, R.B., 2015. Effect of chronological addition of records to species distribution maps: The case of *Tonatia saurophila maresi* (Chiroptera, Phyllostomidae) in South America. Austral Ecology.
- Akaike, H., 1973. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Petrov BN, Csaki F (eds) Second international symposium on information theory. Akademiai Kiado, Budapest, pp 267–281
- Akaike H., 1983. Information measures and model selection. Int Statistical Institute 44:277–291.
- Arnone, I.S., Trajano, E., Pulcherio-Leite, A., Passos, F.C., 2016. Long-distance movement by a great fruit-eating bat, *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818), in southeastern Brazil (Chiroptera, Phyllostomidae): evidence for migration in Neotropical bats? Biota Neotropica. 16(1): e0026.
- Baker, R.J., Solari, S., Hoffmann, F.G., 2002. A new Central American species from the Carollia brevicauda complex. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University 217:i p1–12.
- Bandelt H-J., Forster, P., Sykes, B.C., Richards, M.B., 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. Genetics, 141: 743–753.
- Bandelt, H-J.; Forster, P., Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 16: 37–48.
- Bernard, E., Aguiar, L.M.S., Machado. R.B., 2010. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries? Mammal Review.
- Brown, S.D.J., Collins, R.A., Boyer, S., Malumbres-Olarte, J., Lefort, M.C., Malumbres-Olarte, J., Vink, C.J., Cruickshank, R.H., 2012. Spider: an R package for the analysis of species identity and evolution, with particular reference to DNA barcoding. Molecular Ecology Resources.

- Carmignotto, A.P., de Vivo, M., Langguth, A., 2012. Mammals of the Cerrado and Caatinga: distribution patterns of the tropical open biomes of Central South America. In: Patterson, B.D., Costa, L.P., (eds) *Bones, clones, and biomes: the history and geography of Recent Neotropical mammals*. University of Chicago Press, Chicago. 307 – 350.
- Catzeffis, F., Gager, Y., Ruedi, M., de Thoisy, B., 2016. The French Guianan endemic Molossus barnesi (Chiroptera: Molossidae) is a junior synonym for *M. coibensis*. *Mammalian Biology* 81, 431–438.
- Chambers, E.A., Hebert, P.D.N., 2016. Assessing DNA Barcodes for Species Identification in North American Reptiles and Amphibians in Natural History Collections. *PLoS ONE* 11(4): e0154363.
- Clare, E.L., Lim, B.K., Engstrom, M.D., Eger, J.L., Hebert, P.D.N., 2007. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes*, 7: 184–190.
- Clare, E.L., 2011. Cryptic Species? Patterns of maternal and paternal gene flow in eight Neotropical bats. *PLoS ONE*, In Press.
- Clare, E.L., Lim, B.K., Fenton, M.B., Hebert, P.D.N., 2011. Neotropical Bats: Estimating Species Diversity with DNA Barcodes. *PLoS ONE* 6(7): e22648.
- Clare, E.L., Adams, A.M., Maya-Simões, M.A., Eger, J.L., Hebert, P.D.N., Fenton, M.B., 2013. Diversification and reproductive isolation: cryptic species in the only New World high-duty cycle bat, *Pteronotus parnellii*. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 26.
- Coyner, B., Murphy, P., Matocq, M., 2015. Ongoing hybridization and asymmetric introgression in a narrow zone of contact between *Neotoma fuscipes* and *N. macrotis*. *Biological Journal of the Linnean Society* 115:162–172.
- Cutarelli, A., Amoroso, M.G., De Roma, A., Girardi, S., Galiero, G., Guarino, A., Corrado, F., 2014. Italian market fish species identification and commercial frauds revealing by DNA sequencing. *Food Control*, 37 (2014), pp. 46–50.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8), 772.
- Díaz, M.M., Aguirre, L.F., Barquez, R.M., 2011. Clave de identificación de los murciélagos del cono sur de Sudamérica. Centro de Estudios en Biología Teórica y Aplicada. Cochabamba, Bolivia. 94 pp.
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., Rambaut A., 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29: 1969–1973.
- Furman, A., Çoraman, E., Çelik, Y.E., Postawa, T., Bachanek, J., Ruedi, M., 2014. Cytonuclear discordance and the species status of *Myotis myotis* and *Myotis blythii* (Chiroptera). *Zool Scr* 43: 549–561.

- Good, J.M., Vanderpool, D., Keeble, S., Bi, K., 2015. Negligible nuclear introgression despite complete mitochondrial capture between two species of chipmunks. *Evolution*.
- Goodman, S.M., Rakotondramanana, C.F., Ramasindrazana, B., Kearney, T., Monadjem, A., Schoeman, M.C., Taylor, P.J., Naughton, K., Appleton, B., 2014. An integrative approach to characterize Malagasy bats of the subfamily Vespertilioninae Gray, 1821, with the description of a new species of *Hypsugo*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 173: 988-1018.
- Gregorin, R., Ditchfield, A.D., 2005. New genus and species of nectar-feeding bat in the tribe Lonchophillini (Phyllostomidae: Glossophaginae) from Northeastern Brazil. *Journal of Mammalogy*, 86(2): 403-414.
- Gregorin, R., Moras, L.M., Acosta, L.H., Vasconcellos, K.L., Poma, J.L., dos Santos, F.R., Paca, R.C., 2016. A new species of *Eumops* (Chiroptera: Molossidae) from southeastern Brazil and Bolivia. *Mammalian Biology* 81 235–246.
- Gregorin, R., Taddei, V.A., 2002. Chave artificial para identificação de molossídeos brasileiros (Mammalia: Chiroptera). *Mastozoología Neotropical*, 9(1): 13-32.
- Gregorin, R., Tavares, V.C., 2008. Sistemática de morcegos no Brasil: história e perspectivas. In: Pacheco, S., Fabian, M., Esberard, C., (Org.). *Morcegos no Brasil: Biologia, Sistemática, Ecologia e Conservação*. P. 59-68. Porto Alegre. Armazém Digital.
- Hall, T.A., 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, p. 95-98.
- Hall, B.G., 2001. Phylogenetics trees made easy. A how to manual for molecular biologists. Sunderland, MA: SinauerAssociates, Inc.
- Ivanova, N.V., Deward, J.R., Hebert, P.D., 2006. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes*, 6: 998–1002.
- Hassanin, A., Khouider, S., Gembu, G.C., Goodman, S.M., Kadjo, B., Nesi, N., Pourrut, X., Nakoune, E., Bonillo, C., 2015. The comparative phylogeography of fruit bats of the tribe Scotonycterini (Chiroptera, Pteropodidae) reveals cryptic species diversity related to African Pleistocene forest refugia. *Comptes Rendus Biologies*, 338: 197–211.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R., 2003a. Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 270:313-321.
- Hebert, P.D.N., Ratanasingham,S., deWaard, J.R., 2003b. Barcoding animal life:

- cytochrome c oxidase subunit I divergence among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences 270:S96-S99.
- Hernández-Dávila, A., Vargas, J.A., Martínez-Méndez, N., Lim, B.K., Engstrom, M.D., Ortega, J., 2012. DNA barcoding and genetic diversity of phyllostomid bats from the Yucatán Peninsula with comparisons to Central America. Molecular Ecology Resources, 12: 590–597.
- Humphrey, S.R., Bonaccorso, F.J., 1979. Population and Community Ecology, P. 409-441. In: Baker, R.J., Knox Jr, J.K., Carter, D.C., (eds). Biology of bats. The New World Family Phyllostomidae. Part III. Spec. Pub. Mus. Texas Tech. Univ. 16: 1-441. Ecology 64:284-294.
- Jones, J.K., Hood, C.S., 1993. Synopsis of South American bats of the family Emballonuridae. Occasional Papers Number 155. The Texas Tech University. 32p.
- Khan, F.A.A., Phillips, C.D., Baker, R.J., 2013. Timeframes of speciation, reticulation, and hybridization in the bulldog bat explained through phylogenetic analyses of all genetic transmission elements. Syst Biol 63: 96-110.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C., 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. Proc Natl Acad Sci USA 86: 6196–6200.
- Korstian, J.M., Hale, A.M., Bennett, V.J., Williams, D.A., 2016. Using DNA barcoding to improve bat carcass identification at wind farms in the United States. Conserv Genet Resour. 2016;8: 27–34.
- Krishnamurthy, P.K., Francis, R.A., 2012. A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. Biodivers. Conserv., 21, pp. 1901–1919.
- Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C., 2003. Ecologia e conservação da Caatinga. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.
- Leal, I.R., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., Lacher Jr., T.E., 2005. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. Megadiversidade 1(1):139-146.
- Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25: 1451-1452.
- Lim, B.K, Arcila Hernandez, L.M., 2016. DNA barcoding of Jamaican bats: implications to Neotropical biodiversity. Mitochondrial DNA, Early Online: 1–7.
- López-Wilchis, R., Flores-Romero, M., Guevara-Chumacero, L.M., Serrato-Díaz, A., Díaz-Larrea, J., et al., 2016. Evolutionary Scenarios Associated with the *Pteronotus parnellii* Cryptic Species-Complex (Chiroptera: Mormoopidae). Acta Chiropterologica, 18(1): 91–116, 2016 PL ISSN 1508-1109.

- Mao, X., Thong, V.D., Bates, P.J.J., Jones, G., Zhang, S., Rossiter, S.J., 2013. Multiple cases of asymmetric introgression among horseshoe bats detected by phylogenetic conflicts across loci. *Biological Journal of the Linnean Society* 110: 346–361.
- Mendonza, A.M., Torres, M.F., Paz, A., Trujillo-Arias, N., López-Alvarez, D., Sierra, S., Forero, F., Gonzalez, M.A., 2016. Cryptic diversity revealed by DNA barcoding in Colombian illegally traded bird species. *Molecular Ecology Resources* (2016) 16, 862–873.
- Moratelli, R., Dias, D., 2015. A new species of nectar-feeding bat, genus *Lonchophylla*, from the Caatinga of Brazil (Chiroptera, Phyllostomidae). *ZooKeys*, 514: 73-91.
- Moratelli, R., Percchi, A.L., Dias, D., Oliveira, J.A., 2011. Geographic variation in South American populations of *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera, Vespertilionidae), with the description of two new species. *Mammalian Biology*, 76: 592-607.
- Murphy, R.W., Crawford, A.J., Bauer, A.M., Che, J., Donnellan, S.C., Fritz, U., Haddad, C.F.B., Nagy, Z.T., Poyarkov, N.A., Vences, M., Wang, W., Zhang, Y., 2013. Cold Code: the global initiative to DNA barcode amphibians and nonavian reptiles. *Mol Ecol Res In press*.
- Najera-Cortazar, L.A., Alvarez-Castaneda, S.T., de Luna, E., 2015. An analysis of *Myotis peninsularis* (Vespertilionidae) blending morphometric and genetic datasets. *Acta Chiropterologica* 17(1): 37-47.
- Nesi, N., Kadjo, B., Pourrut, X., Leroy, E., Pongombo Shongo, C., Cruaud, C., Hassanin, A., 2013. Molecular systematics and phylogeography of the tribe Myonycterini (Mammalia, Pteropodidae) inferred from mitochondrial and nuclear markers. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 66, pp. 126–137.
- Parlos, J.A., Timm, R.M., Swier, V.J., Zeballos, H., Baker, R.J., 2014. Evaluation of paraphyletic assemblages within Lonchophyllinae, with description of a new tribe and genus. *Occasional Papers, Museum of Texas Tech University*, 320: 1–23.
- Pavan, A.C., Marroig, G., 2016. Integrating multiple evidences in taxonomy: species diversity and phylogeny of mustached bats (Mormoopidae: *Pteronotus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 103 184–198.
- Peracchi, A.L., Lima, I.P., Reis, N.R., Nogueira, M.R., Filho, H.O., 2006. Ordem Chiroptera. In: Reis, N.R., Peracchi, A.L., Pedro, W.A., Lima, I.P., (eds) *Mamíferos do Brasil*. p.153-230.
- Piaggio, A. J., Valdez, E.W., Bogan, M.A., Spicer, G.S., 2002. Systematics of *Myotis occultus* (Chiroptera: Vespertilionidae) inferred from sequences of two mitochondrial

genes. *Journal of Mammalogy* 83:386–395.

Porter, C.A., Hoofer, S.R., Cline, C.A., Hoffmann, F.G., Baker, R.J., 2007. Molecular phylogenetics of the Phyllostomid bat genus *Micronycteris* with the descriptions of two new subgenera. *J. Mammal.* 88(5):1205–1215.

Rambaut, A., Suchard, M.A., Xie, D., 2014. Drummond, A.J. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.

Ratnasingham S., Hebert, P.D.N., 2013. A DNA-based registry for all animal species: The Barcode Index Number (BIN) System. *PLoS ONE*: in press.

Reis, N.R., Fregonezi, M.N., Peracchi, A.L., Shibatta, O.A., 2013. Morcegos do Brasil: guia de campo. Technical Books. 252p.

Reis, N.R., Peracchi, A.L., Pedro, W.A., Lima, I.P., 2007. Morcegos do Brasil. Editora Universidade Estadual de Londrina. 254p.

Ribeiro, E.M.S., Arroyo-Rodríguez, V., Santos, B.A., Tabarelli, M., Leal, I.R., 2015. Chronic anthropogenic disturbance drives the biological impoverishment of the Brazilian Caatinga vegetation. *J Appl Ecol* 52:611–620.

Ribeiro-Neto, J.D., Arnan, X., Tabarelli, M., Leal, I.R., 2016. Chronic anthropogenic disturbance causes homogenization of plant and ant communities in the Brazilian Caatinga. *Biodiversity and Conservation* 25: 943–956.

Ruedi, M., Mayer, F., 2001. Molecular systematics of bats of the genus *Myotis* (Vespertilionidae) suggests deterministic ecomorphological convergences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 21: 436–448.

Saitoh, T., Sugita, N., Someya, S., Iwami, Y., Kobayashi, S., Kamigaichi, H., Higuchi, A., Asai, S., Yamamoto, Y., Nishiumi, I., 2015. DNA barcoding reveals 24 distinct lineages as cryptic bird species candidates in and around the Japanese Archipelago. – *Molecular Ecology Resources*, 15: 177–186.

Schlegel, M., Ali, H.S., Stieger, N., Groschup, M. Wolf, H., R., Ulrich, R.G., 2012. Molecular identification of small mammal species using novel cytochrome B gene-derived degenerated primers. *Biochem. Genet.*, 50, pp. 440–447.

Silva-Neto, A.A., Ferreira, P.B., Torres, R.A., Texeira, R.H.F., Duarte, J.M.B., Barbosa, A.C., Vargas, R.C., Garcia, J.E., 2016. Diagnostic Cytochrome b gene profiles for the identification of paca (*Cuniculus paca*) bushmeat: implications for the monitoring of illegal hunting and wildlife trade. *Braz. J. Biol.*, vol. 76, no. 1, pp. 55–58.

Simmons, N.B., 1996. A new species of *Micronycteris* (Chiroptera: Phyllostomidae) from northeastern Brazil, with comments on phylogenetic relationships. *American Museum Novitates* 3158:1–34.

- Simmons, N.B., Voss, R.S., Fleck, D.W., 2002. A new Amazonian species of *Micronycteris* (Chiroptera: Phyllostomidae) with notes on the roosting behavior of sympatric congeners. American Museum Novitates 3358:1–14.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol. 28: 2731 – 2739.
- Tavares, V.C., Gregorin, R., Peracchi, A.L., 2008. Diversidade de morcegos no Brasil: lista atualizada com comentários sobre distribuição e taxonomia. In: Pacheco., S.M., Marques, R.V., Esberard, C.E.L., (orgs.). Morcegos no Brasil: biologia, sistemática, ecologia e conservação. Armazém Digital, Porto Alegre, p. 25-28.
- Werneck, F.P., Leite, R.N., Geurgas, S.R., Rodrigues, M.T., 2015. Biogeographic history and cryptic diversity of saxicolous Tropiduridae lizards endemic to the semiarid Caatinga. Evolutionary Biology, 15: 1-24.
- Werneck, F.P., 2011. The diversification of eastern South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. Quaternary Science Reviews, 30(13), 1630- 1648.
- Wilson, J.J., Sing, K-W., Halim, M.R.A., Ramli, R., Hashim, R., Sofiam-Azirun, M., 2014. Utility of DNA barcoding for rapid and accurate assessment of bat diversity in Malaysia in the absence of formally described species. Genet. Mol. Res., 13, pp. 920–925.