Criaturas noturnas: investigando os cromossomos e a diversidade de morcegos no Brasil



¹Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Doutor em Ciências Biológicas (Genética), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP ²Faculdade de Ciências Agrárias, Biológicas e Sociais Aplicadas, Universidade do Estado de Mato Grasso, Nova Xavantina, Mato Grosso, Brasil. Doutora em Genética, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita-Filh

Autor para correspondência – adrianosantosgen@gmail.com

Palavras-chave: mamíferos, citogenética, cariótipo, evolução, marcadores cromossômicos

Entre os animais que mais despertam a curiosidade e mitos entre as pessoas estão os morcegos, mamíferos com grande diversificação em número de espécies e os únicos que podem voar. Em consequência dessa diversificação, os morcegos desempenham importantes papéis ecológicos como a polinização de flores, distribuição de sementes em áreas desmatadas e controle de populações de insetos, sendo um grupo prioritário para estudos de conservação. Os estudos de caracterização genética dos organismos nos auxiliam no entendimento dos eventos ocorridos ao longo de sua evolução. Entre as estratégias aplicadas estão os estudos de citogenética, fornecendo ferramentas para investigar mudanças na estrutura e organização dos cromossomos, que são os veículos de transmissão das características hereditárias. Aqui, vamos entender um pouco do papel das técnicas de estudo dos cromossomos que permitem o entendimento dos eventos que ocorreram na diferenciação das espécies de morcegos que ocorrem no Brasil.

Citogenética - é o estudo dos cromossomos, sua morfologia, estrutura e evolução.

Identificando os morcegos: o uso de dados morfológicos e genéticos

A diversidade no grupo dos mamíferos é alta. Os representantes desse grupo apresentam ampla distribuição em territórios geográficos, climas e ambientes ecológicos (terrestres, aquáticos e aéreos) diferentes. Estima-se que aproximadamente 688 espécies de mamíferos ocorrem no território brasileiro. Entre estes estão os morcegos, animais de hábito noturno pertencentes à ordem Chiroptera (do grego cheir = mão e pteron = asa). No país, esta ordem compreende aproximadamente 200 espécies agrupadas em nove famílias. Tal abundância e diversificação morfológica são consequências da grande variação em seus hábitos alimentares, que incluem insetos, frutas, néctar, sangue e pequenos vertebrados. Essa variedade de hábitos alimentares faz com que eles desempenhem serviços extremamente importantes para a manutenção dos ecossistemas na natureza. Os morcegos insetívoros, ou seja, que se alimentam de insetos, compõem a maior parte das espécies e têm um importante papel no controle das populações de insetos. Os morcegos frugívoros se alimentam de frutos, desempenhando importante papel como dispersores de sementes e os nectarívoros são responsáveis pela polinização de muitas espécies de plantas. Apesar de todos esses aspectos positivos e essenciais para a natureza, os morcegos estão entre os animais que mais despertam mitos e informações incorretas entre as pessoas, devido ao seu hábito noturno e a ocorrência de algumas espécies que se alimentam de sangue.

Informações sobre a ancestralidade dos morcegos ainda não são muito claras devido à dificuldade de estabelecer relações de parentesco entre os morcegos e outros grupos de organismos. Além disso, faltam fósseis do período inicial da evolução desse grupo, pois seus esqueletos pequenos e leves são de difícil preservação. O registro fóssil mais antigo, com evidente estrutura de morcego, foi encontrado em rochas Eocênicas (cerca de 60 milhões de anos), no Gree River do Wyoming, Estados Unidos, e denominado Onychonycteris finneyi (Figura 1), um morcego de hábito insetívoro. Outro registro fóssil denominado Paleochiropterys tupaiodon, com datação em cerca de 50 milhões de anos, foi descoberto em regiões da Alemanha e já apresenta características semelhantes às dos morcegos atuais.

16

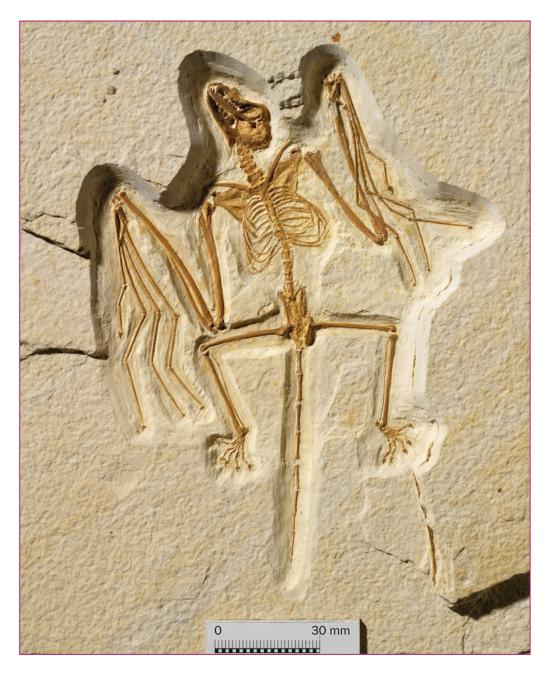


Figura 1.
Representação fóssil de morcego Onychonycteris finneyi (ROM2006_7684_1). Cortesia da linha de crédito de ROM (Royal Ontario Museum), Toronto, Canada-©ROM, permissão de uso de imagem ROM20225440. Direitos da imagem reservados ao ROM (ROMVP55055: Onychonycteris finneyi).

As características fenotípicas para a identificação de espécies de morcegos compreendem medidas de regiões corporais. O tamanho do antebraço (Figura 2), por exemplo, é importante marcador para identificar as espécies. No entanto, o uso de apenas características morfológicas externas pode não ser suficiente para a identificação correta das espécies e para a construção de árvores filogenéticas que representam as relações evolutivas entre elas. Entre alguns dos problemas está a variação das medidas de uma região corporal entre os indivíduos de uma espécie.

Além disso, semelhanças morfológicas entre duas espécies podem estar mais relacionadas a processos de adaptação a recursos alimentares que a relações de parentesco. Por exemplo, o tamanho e a organização da estrutura dentária dos morcegos são relacionados aos hábitos alimentares de cada espécie (ex.: frutos, insetos e pólen). Neste sentido, as informações celulares e genéticas são muito importantes para a caracterização dos grupos taxonômicos e para a compreensão dos padrões de evolução entre e dentro das espécies.

Características fenotípicas

- são aquelas que podem ser observáveis e mensuráveis nos indivíduos.

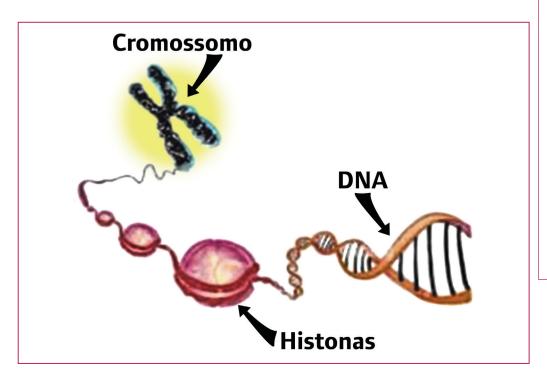


Figura 2.
Exemplar de um morcego identificado como *Carollia perspicillata*. A barra de cor vermelha indica o antebraço, cuja medida é usada na identificação taxonômica das espécies. Fonte da imagem: J.M., Alvarenga.

Os cromossomos e seu papel no entendimento da diferenciação das espécies

Já no início do século XX citologistas mostraram que, durante o processo de divisão,

as células têm a capacidade de formação de novas células, sendo possível, na divisão celular, a visualização de estruturas alongadas, posteriormente denominadas cromossomos. Essas estruturas são visíveis ao microscópio óptico após tratamento com alguns corantes. Com o avanço nas técnicas de microscopia e coloração, os cromossomos passaram a ser estudados e utilizados no diagnóstico taxonômico entre as espécies.



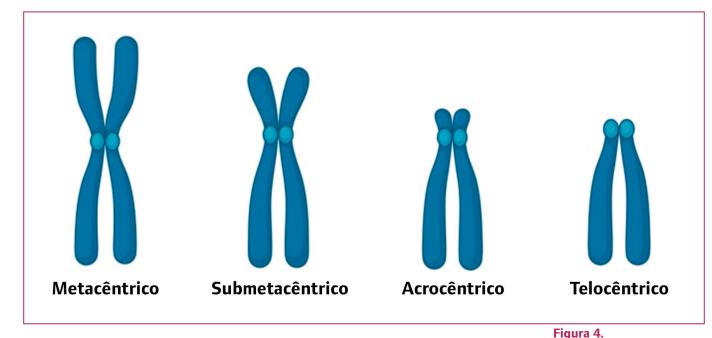
Molécula de DNA (Ácido Desoxirribonucleico) - está presente em núcleos celulares dos organismos eucariontes e em algumas organelas, que codifica a informação genética de um organismo. A estrutura do DNA é formada por uma fita dupla em forma de espiral (dupla-hélice), composta por sequências de nucleotídeos contendo quatro bases nitrogenadas (Timina, Adenina, Citosina e Guanina).

Figura 3.

Representação do empacotamento da molécula de DNA (molécula de dupla hélice) por proteínas histônicas (representadas em rosa) para formar os cromossomos. Fonte da imagem: https://encrypted-tbn0. gstatic.com/ A morfologia dos cromossomos pode ser caracterizada com base na posição do centrômero: cromossomos metacêntricos (m) apresentam o centrômero posicionado na sua região mediana, apresentando braços com tamanhos equivalentes; os submetacêntricos (sm) possuem o centrômero deslocado da região mediana, com um braço mais curto e um mais longo; nos acrocêntricos (a), a localização do centrômero é distal, com um braço longo e um braço muito curto; nos telocêntricos (t) o centrômero é posicionado na região terminal do cromossomo (Figura 4).

Os organismos diploides apresentam normalmente dois conjuntos numéricos de cromossomos: conjunto haploide ou gamético (n), encontrado nos seus gametas, e o conjunto diploide ou somático (2n), no zigoto e nas células corporais. Os núcleos celulares diploides, resultantes do processo de fecundação (óvulo e espermatozoide), se caracterizam pela presença de pares de cromossomos conhecidos como homólogos. O número de cromossomos e sua morfologia podem variar entre as espécies.

Centrômeros - são as constrições primárias dos cromossomos, estruturas essenciais para a ligação de fusos durante a divisão celular.



Para o estudo mais detalhado dos cromossomos, uma grande variedade de metodologias citogenéticas foi desenvolvida, permitindo a identificação de regiões especificas que podem variar em posição e número entre as diferentes espécies. Dentre essas diversas metodologias, podemos citar o bandamento C (CBG), que permite identificar regiões de heterocromatina nos cromossomos; a im-

pregnação por nitrato de prata (bandamento Ag-NOR), que identifica sítios de DNA ribossômicos, ou seja, as regiões organizadoras do nucléolo; o bandamento G (GTG), que mostra regiões ricas em diferentes bases nitrogenadas ao longo dos cromossomos; e a Hibridização *In Situ* Fluorescente (FISH), técnica que permite identificar regiões específicas dentro dos cromossomos (Tabela 1).

Classificação da morfologia dos cromossomos em metacêntrico, submetacêntrico, acrocêntrico e telocêntrico. Criado com Biorender.com (Número do

contrato FZ24PWYMGT).

DNAs ribossômicos - são sequências de DNA que servem de molde para a transcrição de

Heterocromatina -

RNAs ribossômicos.

corresponde a regiões cromossômicas altamente condensadas, com baixa atividade dos genes nas células.

Métodos	Cromossomos	Aplicação
Coloração com Giemsa	AN	Identificação do número, morfologia e organização do conjunto cromossômico
Bandas C	969	Identificação de regiões de DNA altamente condensadas nos cromossomos (heterocromatina)
Ag-NOR	88	Mapeamento de regiões sintetizantes do RNA ribossômico (regiões organizadoras de nucléolo)
Bandas G	Sample of the sa	Identificação de regiões com composição diversa na proporção das bases nitrogenadas do DNA
Hibridização in situ fluorescente		Identificação de sequências específicas de DNA nos cromossomos

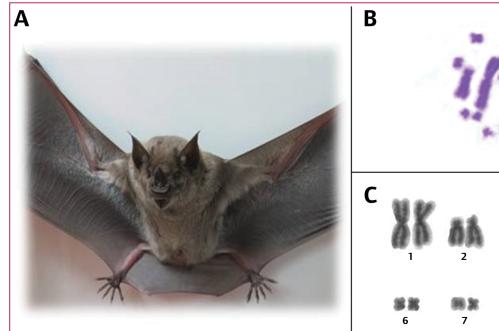
Tabela 1.Diferentes técnicas de coloração para estudos citogenéticos.

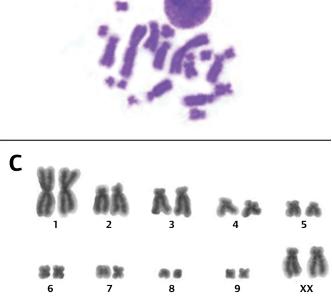
Citogenética e a evolução cromossômica em morcegos

Existe uma grande variação no número cromossômico em espécies de morcegos no Brasil. Por exemplo, a espécie *Tonatia bidens* (família Phyllostomidae) apresenta 16 cro-

mossomos (2n = 16), enquanto *Histiotus montanus* (família Vespertilionidae) tem um total de cinquenta (2n = 50).

Uma espécie muito estudada citogeneticamente é o morcego frugívoro Carollia perspicillata (Figura 5A). Esta espécie apresenta um total de 21 cromossomos nos machos e 20 nas fêmeas (Figura 5B), sendo nove pares autossômicos e um par de cromossomos sexuais; na Figura 5C há dois cromossomos X (acrocêntricos), por se tratar de uma fêmea.





Um dado importante na caracterização de cariótipo é o Número Fundamental (NF), que corresponde ao total de braços cromossômicos, excluindo os cromossomos sexuais. Os dados para *C. perspicillata* indicam número NF = 36. Essa informação é importante para descrever o conjunto dos cromossomos e distinguir as espécies de morcegos.

As técnicas de bandamento muito têm contribuído para o entendimento dos mecanismos que ocorreram na diferenciação das espécies de morcegos ao longo da evolução, auxiliando na identificação e elucidação de diferenças e semelhanças entre os cromossomos que ocorreram ao longo desse processo. Cariótipos aparentemente muito diferentes,

como sete citótipos encontrados na espécie de *Rhogessa túmida*, que têm 2n = 30, 32, 34, 42, 44 ou 52, podem ter suas semelhanças rapidamente reconhecidas pelo padrão de faixas claras e escuras (banda G).

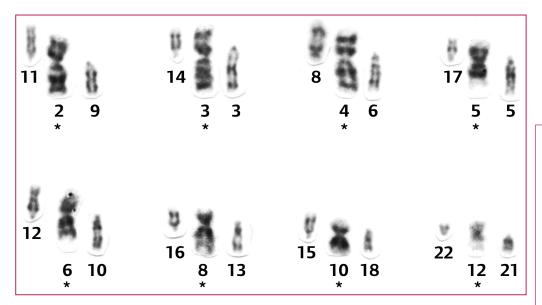
Os morcegos da família Molossidae são cosmopolitas, enquanto a família Phyllostomidae ocorre apenas na região Neotropical. A Figura 6 apresenta os cariótipos de uma espécie de cada família, que podem ser comparados com relação ao seu padrão de bandas G. Pode-se notar que esse padrão de bandas G sugere que alguns cromossomos com dois braços de *Phyllostomus* podem ter se originado por meio da união de dois cromossomos encontrados em *Molossus*.

Figura 5.

Morcego representante da espécie *C. perspicillata* (A). Cromossomos na fase de metáfase, visualizados em microscópio de campo claro, com ampliação 1000x (B). Conjunto cromossômico organizado aos pares (Cariótipo) (C). Fontes das imagens: J.M., Alvarenga (A), autores deste trabalho (B e C).

Citótipos - são variações intraespecíficas no cariótipo, geralmente no número de cromossomos. Pode-se observar em algumas espécies a presença de cariótipos com diferentes números diploides.

Cariótipo - é o conjunto de cromossomos (autossômicos e sexuais) presentes em uma célula de um organismo de uma determinada espécie.



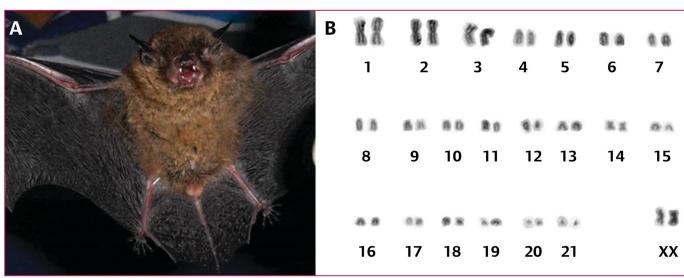
Investigações científicas também já evidenciaram que pequenos morcegos da família Vespertilionidae, representantes do gênero Myotis, contêm sobreposição de medidas morfológicas e o conjunto cromossômico composto por 2n = 44 (Figura 7) está presente em várias espécies. Esse gênero compreende nove espécies distribuídas ao longo de quase todo o território brasileiro: M. albescens, M. dinellii, M. levis, M.

nigricans, M. riparius, M. ruber, M. simus, M. izecksohni e M. lavali. Desta forma, a investigação das diferenças dentro desse grupo de morcegos demanda o uso integrado de análises de características morfológicas, citogenéticas e análises envolvendo diretamente a molécula de DNA, para auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos na diferenciação das espécies ao longo do processo de evolução.

Figura 6.

Homologias no padrão de bandas G entre cromossomos pertencentes às espécies *Phyllostomus hastatus* (Phyllostomidae; marcado com asterisco - *) e *Molossus rufus* (Molossidae), sugerindo que alguns cromossomos com dois braços de *Phyllostomus* podem ter se originado por meio da união de dois cromossomos semelhantes aos encontrados em *Molossus*. Fonte da imagem: Faria (2003).

Homologias - são características presentes em espécies diferentes, originárias de um ancestral comum entre



Considerações finais

Evidências sobre a biologia e evolução de morcegos podem nos ajudar a compreender a

diversidade desses mamíferos voadores. É fascinante a diversidade de espécies de morcegos, suas relações ecológicas e serviços ecossistêmicos prestados por esses animais. No entanto, muitas relações de parentesco entre as famílias, gêneros e espécies ainda não estão definidas.

Figura 7.

Morcego macho representante da espécie *M. nigricans* (A). Conjunto cromossômico (2*n*) igual a 44 de um exemplar fêmea (cromossomos sexuais XX). Visualização dos cromossomos em microscópio de campo claro, com coloração *Giemsa*, e ampliação 1000x (B). Fonte das imagens: autores deste trabalho.



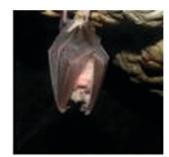






Imagem: canvas.com

Dados citogenéticos são importantes aliados na caracterização de espécies e na compreensão da evolução dos morcegos. Fornecem informações valiosas que permitem distinguir algumas espécies e entender a reorganização das estruturas cromossômicas associadas a processos de diversificação do grupo. Evidências como as exemplificadas aqui indicam a importância de estudar a composição cromossômica das espécies de morcegos. Os estudos atuais estão ampliando pesquisas com marcadores genéticos para gerar melhores informações sobre as relações evolutivas entre os morcegos, assim como suas interações com diferentes ambientes na natureza.

Somente o conhecimento aprofundado da biologia desses fascinantes animais pode nos ajudar a protegê-los e a conservar os importantes serviços ecossistêmicos prestados por eles.

Para saber mais

FARIA, KARINA de CASSIA (2003). Análise citogenética comparativa em espécies de morcegos dos gêneros Molossus (Molossidae), Artibeus, Platyrrhinus, Sturnira, Glossophaga, Phyllostomus e Carollia (Phyllostomidae) – Chiroptera (Mammalia). Dissertação. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil. 113f.

GARBINO, G. S. T.; GREGORIN, R.; LIMA, I. P.; LOUREIRO, L.; MORAS, L.; MORATELLI, R.; NOGUEIRA, M. R.; PAVAN, A. C.; TA-VARES, V. C.; NASCIMENTO, M. C.; NO-VAES, R. L. M.; PERACCHI, A. L. (2022). Updated checklist of Brazilian bats: versão 2020. Comitê da Lista de Morcegos do Brasil—CLMB. Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (Sbeq). https://www.sbeq.net/lista-de-especies. Acessado em: 20 de fevereiro de 2023.

GUERRA, M. dos S. (2010). Introdução à citogenética geral. Guanabara koogan, 154p.

KASAHARA, S. (2009). Introdução à citogenética de vertebrados. Sociedade Brasileira de Genética, 160p.

REIS, N. R. dos, PERACCHINI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. de (2007). Morcegos do Brasil. Londrina, 253p.

Agradecimentos

À Pró-Reitoria de Inclusão e Pertencimento (PRIP) da Universidade de São Paulo (USP), pela bolsa de pós-doutorado para pesquisadores negros concedida para Adriano S. Santos (Edital 001/2023).