



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ / MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA**

**VARIABILIDADE MORFOMÉTRICA E MOLECULAR EM *Desmodus rotundus*  
(CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) DE DIFERENTES ÁREAS DE RISCO  
PARA RAIVA RURAL NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL**

**FERNANDA ATANAENA GONÇALVES DE ANDRADE**

Belém-PA  
2011

**FERNANDA ATANAENA GONÇALVES DE ANDRADE**



**VARIABILIDADE MORFOMÉTRICA E MOLECULAR EM *Desmodus rotundus*  
(CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) DE DIFERENTES ÁREAS DE RISCO  
PARA RAIVA RURAL NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL**

Trabalhado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Zoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi e Universidade Federal do Pará para obtenção do grau de doutor em zoologia

Orientador: Dr. Marcus Emanuel Barroncas Fernandes

Belém-PA  
2011

**FOLHA DE APRESENTAÇÃO**

Candidato: Fernanda Atanaena Gonçalves de Andrade

Título da Tese: VARIABILIDADE MORFOMÉTRICA E MOLECULAR EM *Desmodus rotundus* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) DE DIFERENTES ÁREAS DE RISCO PARA RAIVA RURAL NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Área de concentração: Zoologia

Orientador: Marcus Emanuel Barroncas Fernandes

A comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em Belém/PA no dia 05/08/2011, considerou

( ) Aprovado(a)      ( ) Reprovado(a)

Banca Examinadora

Examinadora(a): Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome: **Dra. Daniele Barbosa de Almeida Medeiros**  
Instituição: Instituto Evandro Chagas (IEC)/Belém-PA

Examinadora(a): Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome: **Dr. Marcelo Nazareno Vallinoto de Souza**  
Instituição: Universidade Federal do Pará(UFPA)/Campus de Bragança

Examinadora(a): Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome: **Dra. Phyllis Catharina Romijn**  
Instituição: Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RJ)

Examinadora(a): Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome: **Dra. Suely Aparecida Marques-Aguiar**  
Instituição: Museu Paraense Emílio Goledi (MPEG)/Belém-PA

Presidente: Assinatura: \_\_\_\_\_  
Nome: **Dra. Ana Lúcia da Costa Prudente**  
Instituição: Museu Paraense Emílio Goledi (MPEG)/Belém-PA

## EPÍGRAFE

### Mito do morcego chupa sangue

- Tribo Katukina do Rio Biá -

Morcego tem vários tipos de nome, mas o desse chupa sangue seria *Ernan*.

*Ernan* antes era gente e andava com onça (que também era gente) e a onça mandava:

-Tu vai lá com *Kariweuri* tirar um pedacinho de carne pra mim.

*Kariweuri* é como onça chama os *Tukuna*\*.

*Ernan* foi lá, *Kariweuri* tava dormindo. Ele tirou pedaço de couro de gente. Levou para a onça provar e a onça achou bom.

Aí onça falou para morcego para ele chupar o sangue que era que nem sal e mandou ele ir na casa chupar criança, adulto.

A onça quem mandou morcego chupar sangue gostou da carne.

Quando foi de manhã a onça conta:

- Agora você vai virar morcego. E mandou ele andar e disse que sempre que ele chupasse alguém levasse pedaço para ela.

A onça deixou de ser gente e foi embora para o mato, mas com vontade também de chupar sangue de *kariweuri*.

O morcego chupa sangue mora no oco do pau e dorme no buraco da terra e não gosta de sol pra poder chupar gente no escuro. Quando pessoa dorme com mosquito ele não morde.

**Adaptado do relato de Kododon Katukina**

(entrevista obtida por Myrian Barboza)

09/12/2009

\*Os Katukina do Biá chamam a si mesmos de *Tükuna*, termo semelhante à autodenominação *kanamari*, significando "gente"

## DEDICATÓRIA

### **Dedico esta tese aos**

Meus pais Beatriz e Osvaldo por terem me dado  
vida e irmãos maravilhosos.

À memória de meus adorados parentes

Influenciadores do começo dessa jornada, mas que não puderam  
vê-la terminar: Eutália Lobato, Josefina Gonçalves, Hilton Lobato,  
Nagib Lobato, Rosiana Andrade, José Antonio Andrade e Lourenço  
Furtado. Aos que não viram, mas previram. Aos meus queridos Antonio  
de Carvalho, Faustina Andrade, Manoel e, principalmente, a vovó  
Margarida Lobato, que desde o meu primeiro dia de vida declarou-me  
Doutora.

## AGRADECIMENTOS

---

Dos vários contatos, uma rede de amizades foi construída, e a todos que cativei um grande abraço de morcego e meus sinceros agradecimentos:

Ao meu orientador Dr. Marcus Emanuel Barroncas Fernandes (UFPA/Bragança), que antes de tudo já era um grande amigo, depois se tornou irmão, pai, etc. Mas que agora é na verdade meu ídolo. Obrigada pelo carinho, compreensão e pelo do apoio durante essa estadia em Bragança. E acima de tudo, por acreditar em mim, sua força é sempre fonte de inspiração para as minhas vitórias.

Ao meu querido Wilson Uieda (UNESP/Botucatu), por demonstrar a importância do que fazemos e do que ainda temos por fazer, bem como pelo companheirismo e dedicação ao me ensinar a valorizar mais vida e respeitar o próximo, mesmo quando se trata de uma criatura tão pequenina, que luta diariamente pela sobrevivência.

A todos do laboratório de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas (IEC), em Belém-Pará, primeiramente por terem nos recebido, além de cedido às amostras, bem como nos ajudado na triagem e identificação dos morcegos que lá estavam depositados. Dra. Elizabeth Salbe, Dr. Pedro Vasconcelos, Lívia Casseb, Taciana Barbosa e Armando Pereira,

Aos amigos do Departamento de endemias da Secretaria Executiva de Saúde Pública (SESPA), pelo fornecimento do banco de dados sobre os casos de Raiva no Pará. Obrigada: Alberto Begot, Martha, Reynaldo Lima, Luisinho (Capanema) e Simoni. Não esquecendo também do Oséias (FUNASA/Capanema) que nos conduziu nas estradas do nordeste do Pará em busca de informações.

Aos colegas, Ofir Ramos e Lucila Pereira do Laboratório Nacional Agropecuário (Lanagro/Belém), que também nos cederam amostras preciosas

para o bom desempenho deste trabalho, assim também como o José Carlos Victor da Fundação de Vigilância em Saúde do estado do Amazonas (FVG/Manaus).

A Elvira Colino da Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARA), que também nos forneceu informações valiosas, assim como novos contatos para obtenção de amostras nos municípios de Jacareacanga e Itaituba.

Ao meu amigo Eduardo Varela (Ceará), por ter cedido muito do seu pouco tempo à análise dos dados de genética, contribuindo sobremaneira para os resultados finais.

Ao Dr. Murilo Gomes Novaes, que nos ajudou na produção dos mapas de dispersão da Raiva no Pará.

Ao Marcelo Vallinoto (UFPA – Campus de Bragança) pelas dicas construtivas ao desempenho deste trabalho, bem como pelo envolvimento dos seus alunos que me ajudaram muito nas técnicas laboratoriais. Obrigada Diogo e Jackson.

À Dra. Iracilda Sampaio (UFPA – Campus de Bragança) por ter nos recebido e disponibilizado as instalações do laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal do Pará/-Bragança.

As minhas super amigas Erneida, Rita Santos e Celinha Serra (saudades eternas), pelos risos e abraços no dia-a-dia dentro e fora da Universidade.

Aos amigos e amigas do LAMA (Laboratório de Ecologia de Manguezal), Lanna Côrrea, Rubens, Suzane Cerveira (Luluzinha) e Gean, inclusive o pessoal da casta inferior que não trabalha com morcegos: Amanda, Adria, Marcela, Maura Elisabeth, Marquinhos Alexandre, Cleidson Paiva, Danilo Gardunho, Francisco Pereira, João Emílio, Rafael, Taiana, Arthur, Rosivan, Nádia, Juçara.

Ao Edmar (SESPA/Conceição do Araguaia) e Ivan (Diretório Sanitário Especial Indígena - DSEI,/Redenção) pela ajuda nas saídas a campo durante a estadia em Redenção.

A Christina Vinson e Tom pelas traduções na tese e também pelo apoio moral ao final desta.

Primo Edson, Saúde e Luis que nos receberam tão calorosamente durante o trabalho de campo em Itaituba. “Seu Sóis” nosso guia nas estradas perigosas em direção a Jacareacanga.

Aos meus parentes em Parauapebas que também foram maravilhosos durante nossa passagem por lá. Obrigada Laisse, Edileuza, Priscila, Suelen, Júlio e Rosiel.

Aos meus ex-alunos e amigos de Tucuruí, que torceram por mim durante toda essa jornada, principalmente ao Carlos Gustavson Neto. A você criatura eu imploro que não pense que a vida acaba com as “perdas”, pelo contrário as perdas são confirmações do quanto somos especiais, por termos tido a oportunidade de conviver com alguém tão admirável que estará para sempre em nossas lembranças.

À Universidade Federal do Pará (Campus de Bragança), pelo apoio logístico que foi crucial para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

E por fim, desde sempre agradeço aos morceguinhos, quer sejam vampiros ou não.

**Obrigada a todos vocês que  
foram contagiados pelo vírus  
do AMORCEGO.**

## SUMÁRIO

<b>FOLHA DE APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>I</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>IV</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>VII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>X</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>XII</b>
<b>RESUMO GERAL</b> .....	<b>XIV</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1. As guildas de morcegos</b> .....	<b>2</b>
<b>1.2. Os morcegos hematófagos</b> .....	<b>4</b>
<b>1.3. <i>Desmodus rotundus</i></b> .....	<b>7</b>
1.3.1. Distribuição geográfica e morfologia.....	7
1.3.2. Reprodução e comportamento .....	9
1.3.3. Abrigos diurnos e área de vida .....	14
1.3.5. O uso de microssatélites para <i>D. rotundus</i> .....	18
<b>1.4. Lyssavirus e seus reservatórios</b> .....	<b>22</b>
<b>1.5. Focos recentes de Raiva no Brasil</b> .....	<b>25</b>
<b>1.6. Principais objetivos</b> .....	<b>27</b>
<b>1.7. O escopo da tese</b> .....	<b>28</b>
<b>2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>44</b>
<b>ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO VAMPIRO COMUM <i>Desmodus rotundus</i></b> <b>(CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) NO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA</b> <b>BRASILEIRA</b> .....	<b>44</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>45</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>46</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>50</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>54</b>
<b>Análise discriminante</b> .....	<b>56</b>

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65
ANEXOS .....	71
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>88</b>
<b>VARIABILIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL EM <i>Desmodus rotundus</i> (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) NO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA.....</b>	<b>88</b>
RESUMO.....	90
ABSTRACT.....	91
INTRODUÇÃO .....	92
MATERIAL E MÉTODOS .....	94
(a) Área de estudo .....	94
(b) Origem das amostras.....	95
(c) Diversidade genotípica.....	96
(d) Análises populacionais .....	97
RESULTADOS.....	98
Polimorfismo dos marcadores microssatélites .....	98
Caracterização genética de <i>Desmodus rotundus</i> .....	99
Análises populacionais.....	102
DISCUSSÃO .....	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	110
ANEXOS .....	116
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>124</b>
<b>ÁREAS DE RISCO PARA A RAIVA TRANSMITIDA PELO MORCEGO HEMATÓFAGO <i>DESMODUS ROTUNDUS</i> (GEOFFROY, 1810), AO LONGO DE 1999 A 2008, NO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA .....</b>	<b>124</b>
RESUMO.....	125
ABSTRACT.....	126
INTRODUÇÃO .....	127
<i>Desmodus rotundus</i> e a Raiva .....	128
Dimensionamento das áreas de risco.....	129
MATERIAL E MÉTODOS .....	130

Área de estudo.....	130
Base de dados epidemiológicos (BDE) .....	131
Estimativa de tendência temporal da base de dados.....	132
Análise pela função Kernel.....	133
Determinação das áreas de risco pela técnica AHP.....	134
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>136</b>
Estimativas de tendência da Raiva no Pará .....	136
Dispersão e intensidade da Raiva em humanos e bovinos .....	136
Áreas de risco geradas pela técnica AHP .....	138
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>141</b>
Tendência temporal de casos de Raiva.....	141
Distribuição espacial da Raiva .....	141
Valores sociais e econômicos associados a Raiva no Pará.....	142
O uso da terra e as populações de <i>D. rotundus</i> .....	143
Áreas de risco para a Raiva.....	145
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>147</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>149</b>
<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>158</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>158</b>

## LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 .....	1
<b>Figura 1</b> – Morcegos representantes de diferentes guildas e subordens: (A) Microchiroptera onívoros <i>Glossophaga soricina</i> e (B) Megachiroptera frugívoro <i>Pteropus giganteus</i> . Fotos: W. Uieda.....	2
<b>Figura 2</b> – Morcego insetívoro colonial <i>Tadarida brasiliensis</i> . Foto: W. Uieda. ....	3
<b>Figura 3</b> – Espécies de morcegos hematófagos. (A) <i>Diphylla ecaudata</i> , (B) <i>Diaemus youngi</i> e (C) <i>Desmodus rotundus</i> . Fotos: W. Uieda. ....	5
<b>Figura 4</b> – <i>D. rotundus</i> pousado no pescoço do cavalo e se alimentado em ferimento aberto na orelha. Foto: W. Uieda.....	6
<b>Figura 5</b> – Estrutura de agrupamentos de <i>D. rotundus</i> (colônias), representando um harém de menor tamanho em oco-de-árvore, onde o macho dominante (indicado por seta branca) encontra-se separado do grupo (A), e um harém maior com 50 indivíduos em caverna (B). Foto B: W. Uieda.....	11
<b>Figura 6</b> – Vampiro comum no momento de aproximação para se alimentar na vítima em repouso. Foto: W. Uieda. ....	16
CAPÍTULO 2 .....	44
<b>Figura. 1</b> – Mapa ilustrando as cinco regiões do Estado do Pará definidas para o presente estudo, juntamente com os respectivos números amostrais de machos (M) e fêmeas (F).....	50
<b>Figura. 2</b> - Medidas externas (A) e cranianas (B) realizadas em espécimes de <i>D. rotundus</i> provenientes de cinco regiões do Estado do Pará, Brasil. ....	52
<b>Figura. 3</b> – Escores da função discriminante em fêmeas (A) e machos (B) de <i>D. rotundus</i> e suas respectivas mesorregiões no Pará. Símbolos vazios indicam mesorregiões mais ao norte do estado (B. Amazonas, Marajó e Nordeste), enquanto os preenchidos indicam áreas mais ao sul (Sudoeste e Sudeste). ....	59
CAPÍTULO 3 .....	88
<b>Fig. 1</b> - Número de indivíduos adultos machos e fêmeas da espécie <i>D. rotundus</i> procedentes das cinco Mesorregiões no Estado do Pará (círculos pontilhados) e os três Estados adjacentes com seus respectivos números de indivíduos analisados. AM=Estado do Amazonas, AP=Estado do Amapá, MA=Estado do Maranhão e TO=Estado do Tocantins.....	95

**Fig. 2** - Variação entre os grupos da Amazônia, quanto ao: número médio de alelos ( $A$ ), número efetivo de alelos ( $N_e$ ) e Heterozigosidade ( $H_e$ ). As siglas representam os seguintes locais: JURQ (Juruti), OB (Óbidos), ORX (Oriximiná), STM (Santarém), AJU (Limoeiro do Ajurú), AF (Afuá), BRE (Breves), PTL (Portel), TRC (Tracuateua), VZU (Vizeu), AG (Augusto Corrêa), BRG (Bragança), CAP (Capanema), ITB (Itaituba), JAC (Jacareacanga), RED (Redenção), TUC (Tucuruí), Tocantins (TO), Amazonas (AM), Amapá (AP) e Maranhão (MA). ....100

**Fig. 3** - Mapa da densidade de alelos raros (A) e comuns (B) registrados nos grupos geográficos do estado do Pará..... 101

**Fig. 4** - Análise de Componentes Principais com a Matriz de distância genética  $F_{st}$ , com as amostras do Pará..... 105

CAPÍTULO 4 ..... 124

**Figura-1.** Estado do Pará e suas respectivas divisões: política (A) mesorregional (B) e máximas altitudinais (C), segundo o modelo de Sistema de Coordenadas Geográficas e Datum WGS84 de MIRANDA (2005). Articulação compatível com a escala 1:250.000 (IBGE). Fonte: <http://www.relevobr.cnpm.embrapa.br/download/pa/pa.htm> ..... 133

**Figura-2.** Tendências dos diagnósticos positivos da variante antigênica 3 (VAg3) em bovinos quanto a: (A) temporalidade de registros positivo/ano e (B) o número de municípios afetados/ano no estado do Pará, Brasil. A representação de humanos é ilustrativa e não está inserida nos cálculos da análise. .... 137

**Figura-3.** Distribuição espacial da Raiva bovina no Pará ao longo dos anos de 1999 a 2008. .... 138

**Figura-4.** Mapas temáticos das áreas de risco para a zoonose Raiva no Estado do Pará, Brasil. (A) Buffer de rodovias (B) Buffer de rios, (C) áreas desflorestadas, (D) ambientes rurais e indígenas por interpolação da técnica de Kernel, (E) Interpolação do contingente humano rural e indígena e (F) Interpolação do efetivo bovino..... 139

**Figura-5.** Áreas de risco para a circulação da variante antigênica 3 (VAg3) em bovinos e em humanos de 1999 a 2008, cujos fatores utilizados correspondem ao mesmo período de casos notificados no estado do Pará, Brasil..... 140

## LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 .....	44
<b>Tabela. 1</b> - Número de espécimes em ambos os sexos destinados as análises.	55
<b>Tabela. 2</b> - Matriz de análise fatorial com conjunto reduzido de variáveis dos componentes da última rotação com VARIMAX normalizado. ....	56
<b>Tabela. 3</b> - Sumário da análise de função discriminante de 13 variáveis craniométricas de fêmeas e machos de <i>Desmodus rotundus</i> provenientes de diferentes regiões do Estado do Pará, Brasil. ....	57
<b>Tabela. 4</b> - Coeficiente padronizado para variáveis canônicas dos caracteres avaliados que mais contribuíram para a função discriminante em fêmeas e machos.....	58
<b>Tabela. 5</b> - Médias das variáveis canônicas em machos e fêmeas de <i>D. rotundus</i> de cinco mesorregiões paraenses.....	58
<b>Tabela. 6</b> - Avaliação da categorização geográfica dos indivíduos adultos de ambos os sexos da espécie <i>D. rotundus</i> , por meio de Matriz de Classificação Correta da Análise Discriminante dos caracteres que mais contribuíram para essa função. ....	60
<b>Tabela. 7</b> - Matriz de distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) para machos (Matriz A) e fêmeas (Matriz B) de <i>D. rotundus</i> . As mesorregiões estão representadas por BAM = Baixo Amazonas, MRJ = Marajó, NE = Nordeste paraense, SE = sudeste paraense e SO = Sudoeste paraense. ....	61
CAPÍTULO 3 .....	88
<b>Tabela 1.</b> Número de alelos e heterozigosidades do presente estudo, bem como de estudos anteriores de Piaggio (2008) e Costa (2011). ....	99
<b>Tabela 2.</b> Valores de significância da probabilidade de desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg para <i>D. rotundus</i> , sendo que os dados marcados em cinza indicam ocorrência de desequilíbrio ( $p < 0,05$ ).....	102
<b>Tabela 3.</b> Análise hierárquica de variância molecular (AMOVA) inter e intra grupos de <i>Desmodus rotundus</i> da Amazônia. Componentes de variância ( $V_a$ e $V_b$ ), bem como o percentual da variação foram calculados a partir da matriz dos genótipos. <i>Fst</i> significativo para $p < 0,001$ . ....	104

CAPÍTULO 4 .....	124
<b>Tab. 1</b> – Fatores de risco para Raiva em humanos e bovinos, e seus respectivos pesos.....	135
<b>Tab. 2</b> – Ponderação estipulada dos fatores considerados. ....	135
<b>Tab. 3</b> – Municípios e suas respectivas mesorregiões, com as maiores taxas de diagnóstico positivo de Raiva em <b>bovinos</b> , ao longo de 1999 a 2008 no Estado do Pará.....	137

## RESUMO GERAL

O presente estudo objetivou testar a hipótese da heterogeneidade populacional morfológica e molecular em diversos grupos de *Desmodus rotundus* na Amazônia oriental, bem como descrever a relação desta heterogeneidade com processos e padrões de produção da Raiva em humanos e bovinos. Para tanto, um total de 776 exemplares de vampiro comum, de 72 localidades do Pará foram cedidos pelo Instituto Evandro Chagas (IEC - Ministério da Saúde/Belém), Laboratório Nacional Agropecuário (Lanagro/Belém) e Fundação de Vigilância em Saúde do estado do Amazonas (FVG/Manaus). Quanto a descrição espacial e temporal da Raiva em humanos e bovinos no Pará, ao longo de uma década (1999-2008), tais registros foram obtidos junto a Secretaria Executiva de Saúde Pública do Pará (SESPA). Do total de espécimes de *D. rotundus*, apenas os indivíduos adultos (329 machos e 315 fêmeas) foram submetidos a 39 medidas fenotípicas (16 externas e 23 cranianas). Na abordagem genética, 236 indivíduos (53% fêmeas e 47% machos) foram caracterizados por meio de 10 marcadores do tipo microssatélites. Já para a descrição de áreas de risco foram utilizadas feições ecológicas, biológicas, socioeconômicas e de cobertura e uso do solo, georreferenciadas geograficamente. Como um dos principais resultados das inferências fenotípicas foi observado que apenas as fêmeas de *D. rotundus* no Pará, mostraram tendências a formação de grupos que reúnem espécimes da porção mais ao norte do estado (Baixo Amazonas, Marajó e Nordeste), como sendo menos similares as do sudeste e sudoeste. No geral, fenotipicamente *D. rotundus* não mostrou elevada estruturação entre os grupos no Pará. A maior ocorrência de variabilidade observada para *D. rotundus* não foi entre os grupos geográficos. Segundo os dados de análise molecular de variância (AMOVA) ocorreram variações em 96% dos acontecimentos dentro de cada grupo. No geral, muitos grupos estudados do Pará ainda encontram-se sobre equilíbrio de Hardy-Weinberg, levando a crer na existência de uma única população caracteristicamente panmítica, contudo, com tendências à formação de três grandes grupos (Baixo Amazonas, Marajó e Nordeste). Para tal população, os padrões reprodutivos e adaptativos da espécie, garantiriam a alta equidade da riqueza alélica e os bons índices de diversidade genética de *D. rotundus* na Amazônia oriental, mesmo sob os efeitos da fragmentação de áreas, que se processa principalmente no lado leste no estado do Pará.

## ABSTRACT

At the present study the hypothesis of population morphological and molecular heterogeneity was tested in several groups of the common vampire bat *Desmodus rotundus* from oriental Amazonia as well the relationship among the environmental heterogeneity and the process and patterns of rabies outbreaks in human and bovine population was described. For this 776 individuals of common vampire bats from 72 different places of state of Pará were disposed by Instituto Evandro Chagas (IEC - Ministério da Saúde/Belém), Laboratório Nacional Agropecuário (Lanagro/Belém) and Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas (FVG/Manaus). Data from 1999 to 2008 of rabies upon humans and bovines in Pará were disposed by the Secretaria Executiva de Saúde Pública do Pará (SESPA). For morphometric analysis, 39 phenotypic measures (16 bodies and 23 cranials) all adult individuals (329 males and 315 females) were obtained. For genetic analysis, 258 bats (47% males and 53% females) were characterized by 10 microsatellite markers. To describe the areas of rabies risk we used the ecological, biological and socioeconomic shapes of environment as well the soil using, all these geographically georeferenced. One of our results of phenotypic inferences suggest that vampires from Pará showed the tendency to group formation with individuals of the north region of state (Amazonas basin, Marajó and Northeastern regions), only as well they were less similar to bats from southern and southwestern regions. In general, *D. rotundus* did not show high phenotypically structure among the groups in Pará. The highest variability occurrence in *D. rotundus*, was not observed among geographic groups. According to molecular analysis of variance (AMOVA), 96% of them were found within each studied group. Our data showed that several of the groups studied in Pará are still under Hardy-Weinberg equilibrium, suggesting the existence of one single panmitic population of the common vampire bat in this North state, but with tendencies to the formation of three great groups (Amazon basin, Marajó and Northeast). To this panmitic population, the reproduction and adaptation patterns guaranteed the high equity of allelic richness and good rates of genetic diversity in *D. rotundus* from oriental Amazon, even under the fragmentation effects in many areas of Pará state, mainly in the east side.

**CAPÍTULO 1**  
**INTRODUÇÃO GERAL**

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

## 1.1. As guildas de morcegos

A Ordem Chiroptera representa um quarto de toda a fauna de mamíferos do mundo, com 18 famílias, 202 gêneros e aproximadamente 1120 espécies divididas em duas subordens: os Megachiroptera (uma família, Pteropodidae) do velho mundo e os Microchiroptera (demais famílias) de distribuição mundial, com exceção da Antártida (SIMMONS 2005). A grande diversidade de morcegos advém evolutivamente de uma variedade de adaptações alimentares (ALTRINGHAM 1996). Tais adaptações originaram guildas cujas espécies desempenham papéis ecológicos importantes, os quais afetam diretamente a estrutura da vegetação das áreas onde habitam (WALKER 2001) (Figura 1).



**Figura 1** – Morcegos representantes de diferentes guildas e subordens: (A) Microchiroptera onívoros *Glossophaga soricina* e (B) Megachiroptera frugívoro *Pteropus giganteus*. Fotos: W. Uieda.

Dentre os benefícios ambientais desempenhados pelos morcegos está a dispersão de sementes realizadas por espécies frugívoras (BERNARD & FENTON 2003), as quais apresentam um metabolismo com rápida passagem do alimento pelo trato digestivo, para posterior liberação junto com as fezes (30 minutos para

algumas espécies - FLEMING 1988). A potencialidade ambiental dos morcegos frugívoros já havia sido destacada pelo pesquisador botânico HUBER em 1910, que concluiu que na Amazônia brasileira esses mamíferos voadores eram os mais importantes dispersores de sementes. Recentemente, foi detalhado que esses animais podem auxiliar com eficácia no sucesso reprodutivo das plantas, cujos frutos são consumidos, na manutenção da vegetação de florestas e na recuperação de áreas degradadas (REIS & GUILLAUMET 1983, GARCIA *et al.* 2000).

Outra importante guilda é a de morcegos insetívoros. Estudos realizados no Texas (EUA), com *Tadarida brasiliensis* (L. Geoffroy, 1824), indicaram que as chamadas pestes agrícolas fazem parte de sua dieta, sendo que, geralmente, tal morcego empreende longas migrações sazonais atrás desse alimento (WOLF *et al.* 1990). De acordo com KUNZ *et al.* (1995), no último período da gravidez, as fêmeas de *T. brasiliensis* (Figura 2) apresentaram um consumo de insetos, estimado por noite, maior que 70% do que o seu peso corpóreo. Considerando o nível populacional, as exigências energéticas de *T. brasiliensis* sugerem que 100 milhões de indivíduos podem consumir um equivalente a quatro bilhões de insetos por noite, o que totalizaria cerca de 400 insetos por morcego.



**Figura 2** – Morcego insetívoro colonial  
*Tadarida brasiliensis*. Foto: W. Uieda.

Além dos benefícios anteriormente citados, ainda podem ser destacadas atividades como a polinização de plantas por morcegos nectarívoros (WALKER 2001) e a redução de pequenos vertebrados por morcegos carnívoros (HILL & SMITH 1986, UIEDA 2008).

Morcegos também estão associados à incidência e/ou distribuição geográfica de determinadas doenças causadas por bactérias, protozoários, fungos e vírus (GREENHALL *et al.* 1983, HILL & SMITH 1986, CONSTANTINE 1988). Já foi isolado ou detectado um total de 66 viroses em tecido de morcegos (CALISHER *et al.* 2006), incluindo-se o *Lyssavirus* causador da Raiva, que é uma zoonose bastante conhecida, não só por acometer mamíferos silvestres e domésticos, mas também humanos. Quando comparados a outros mamíferos, certas características destacam os morcegos na propagação do vírus causador da Raiva (MESSENGER *et al.* 2003, CALISHER *et al.* 2006). Dentre essas estão a capacidade de vôo, a elevada abundância, a ampla distribuição geográfica e o comportamento altamente gregário. Além, é claro, da existência de espécies de hábito alimentar hematófago, cuja distribuição geográfica é restrita aos biomas neotropicais (MÁLAGA-ALBA 1954). Este autor também enfatiza que o hábito sanguívoro de morcegos vampiros foi associado pela primeira vez à Raiva em 1908, no Estado de Santa Catarina, sul do Brasil, sendo confirmada a presença do *Lyssavirus*, somente em 1911 por Carini.

## **1.2. Os morcegos hematófagos**

O advento da sanguivoria (ou hematofagia) em morcegos é uma aquisição ainda não totalmente esclarecida, principalmente, em função da escassez de registro fóssil (BROWN 1994). Outra razão potencial é a existência de poucos

estudos sobre biologia, comportamento e estrutura das populações dos morcegos hematófagos atuais, principalmente em ambiente natural (W. Uieda, com. pessoal).

Mas, de acordo com HILL & SMITH (1986), na ordem Chiroptera, a prática de “mordedura alimentar” em animais endotérmicos é conhecida em apenas três espécies monotípicas e simpátricas (Figura 3), cuja distribuição é restrita às florestas neotropicais: *Diphylla ecaudata* Spix, 1823, *Diaemus youngi* (Jentink, 1893) e *Desmodus rotundus* (É. Geoffroy Saint-Hilaire, 1810). Tais espécies estão classificadas na subfamília Desmodontinae, família Phyllostomidae, com base na sua morfologia externa e craniana, além de outros critérios, tais como: cariótipo e fauna de ectoparasitas (GREENHALL *et al.* 1983, GREENHALL *et al.* 1984, GREENHALL & SCHUTT JR. 1996). Dentre os hematófagos apenas *D. rotundus*, conhecido como “vampiro comum”, alimenta-se, preferencialmente, de sangue de mamíferos (Figura 4). As outras duas espécies alimentam-se, preferencialmente, de sangue de aves, enquanto sangue de mamíferos é uma fonte eventual (BRASS 1994). UIEDA (2008) questiona a informação sobre o uso de mamíferos como fonte alimentar eventual por *D. youngi* e *D. ecaudata*, afirmando que, de fato, tais dados são oriundos de informações reduzidas e inconsistentes.



**Figura 3** – Espécies de morcegos hematófagos. (A) *Diphylla ecaudata*, (B) *Diaemus youngi* e (C) *Desmodus rotundus*. Fotos: W. Uieda.



**Figura 4** – *D. rotundus* pousado no pescoço do cavalo e se alimentando em ferimento aberto na orelha. Foto: W. Uieda.

A saliva de *D. rotundus* contém anticoagulantes e proteínas fibrinolíticas - os quais são inibidores da coagulação, bem como ativadores plasminogênicos e inibidores de agregação plaquetária (APITZ-CASTRO *et al.* 1995, FERNANDEZ *et al.* 1999), o que lhes permite *in natura* o consumo de sangue diário, cujo volume representaria 40% de seu peso corpóreo (MCFARLAND & WIMSATT 1969). Segundo BROWN (1994), a preferência por sangue de mamíferos é uma adaptação evolutiva do vampiro comum, principalmente, associada à presença na saliva do morcego, de uma enzima chamada Desmokinase. Esta enzima ativa a produção de um plasminogênio específico (trombolítico), o qual reduz com muita eficiência, principalmente, no gado, no cavalo e no Homem, a coagulação sanguínea. O efeito do anticoagulante na saliva é intenso e persistente, causando na presa “hemorragia residual” mesmo depois de horas que o morcego se alimentou (MCFARLAND & WIMSATT 1969, GREENHALL *et al.* 1983). Devido à ação da Desmokinase, muitos cientistas acreditam ser essa uma enzima-chave na descoberta de fármacos, que possam prevenir problemas circulatórios, como embolias e derrames cerebrais. A ausência desta enzima na saliva de *D. youngi* e

*D. ecaudata* pode justificar o não aproveitamento de sangue de mamíferos por ambas as espécies (UIEDA 2008).

### **1.3. *Desmodus rotundus***

#### 1.3.1. Distribuição geográfica e morfologia

Antes da colonização do Novo Mundo pelos europeus, a especialização sanguívora de *D. rotundus* propiciava-lhe, exclusivamente, nas relações tróficas, o mais alto nível ecológico dentre as guildas existentes (FLEMING *et al.* 1972, BROWN 1994). Tal espécie hematófaga é, portanto, ainda hoje, considerada rara em ecossistemas naturais, distribuídos desde Sonora e Tamaulipas no norte do México até o norte da Argentina (DALQUEST 1955, GREENHALL *et al.* 1983, KOOPMAN 1988, BREDT *et al.* 1998) – Figura 5. RAY (1988) desenvolveu um tratado paleontológico sobre o desaparecimento - após o Pleistoceno - e contínua ausência de morcegos vampiros na fronteira do México com EUA (Flórida) e Antilhas. Nesse estudo, o autor cita que o acontecimento poderia ter sido mais em função da escassez de alimento, do que pela ausência de abrigos, e que os fatores climáticos seriam secundários.

Mais recentemente, HOLMES *et al.* (2002) citaram que a introdução de herbívoros domésticos pelos novos colonizadores europeus proporcionou a propagação de novas, acessíveis e fartas fontes de alimento para *D. rotundus*. Então, após um longo período de adaptação à essas presas, o vampiro comum teria expandido sua distribuição geográfica e aumentado drasticamente sua população, tornando-se, então, uma espécie bastante comum em ambientes não naturais (TADDEI *et al.* 1991, UIEDA 1996).

Morfologicamente, GREENHALL *et al.* 1983 destacam para *D. rotundus* a presença de estrutura adequada para a locomoção quadrúpede que os permite saltar e alçar vôo a partir do solo. Outras peculiaridades referem-se ao tamanho mediano (antebraço 52–63 mm, peso 25–40 g), onde as fêmeas são maiores e mais pesadas do que os machos, o polegar é alongado com três almofadas características da espécie, que são úteis nos deslocamentos sobre o solo. Ainda segundo os mesmos autores nesse morcego hematófago a cauda não é evidente e a membrana interfemural, geralmente, é estreita, sendo que algumas vezes pode ser bastante alongada e, vez por outra, ausente. O lábio inferior é profundamente sulcado, sendo os caninos e incisivos superiores grandes e cortantes, enquanto os incisivos inferiores são curtos e bilobados. Ainda é observado um focinho curto com uma discreta protuberância, que aparenta uma folha nasal rudimentar, que é uma estrutura típica de representantes da família Phyllostomidae. O corpo é revestido por pelagem curta e macia, cuja coloração varia do marrom-avermelhado passando pelo ferrugíneo até o cinza-escuro (DALQUEST 1955). No Brasil, em algumas regiões (Norte e Sudeste), a pelagem alaranjada tem aparecido com frequência (UIEDA 2008).

Muitos trabalhos fornecem uma série de dados de variação morfométrica corporal e craniana de *D. rotundus* (SWANEPOEL & GENOWAYS 1979, MANN & AULAGNIER 1993), com diversos autores defendendo a existência de subespécies para o vampiro comum (OSGOOD 1943, JONES & CARTER 1976, SCHMIDT 1978, MARTINS 2008). No entanto, KOOPMAN (1988) enfatizou que tais subespécies, de fato, não existiriam em virtude da falta de bases científicas significativas que legitimassem o acontecimento. Para este autor, as validações em nível de subespécies seriam decorrentes da grande variação individual, bem como de variação geográfica, e talvez até mesmo da existência de alguns ecótipos

resultantes de heterogeneidade ambiental, as clinas. Este fato não é improvável para uma espécie cuja adaptabilidade aos diversos ambientes, bem como a uma variedade de fontes alimentares, é favorecedora das suas altas taxas de sobrevivência (FLORES-CRESPO & ARELLANO-SOTA 1991, SCHNEIDER *et al.* 2009). É possível ainda, que as inferências morfológicas sobre subespécie estejam sinalizando para as diversas direções da variabilidade intraespecífica, talvez como consequência da plasticidade fenotípica, sobretudo, dentro de níveis mais regionais como, por exemplo, na Amazônia.

### 1.3.2. Reprodução e comportamento

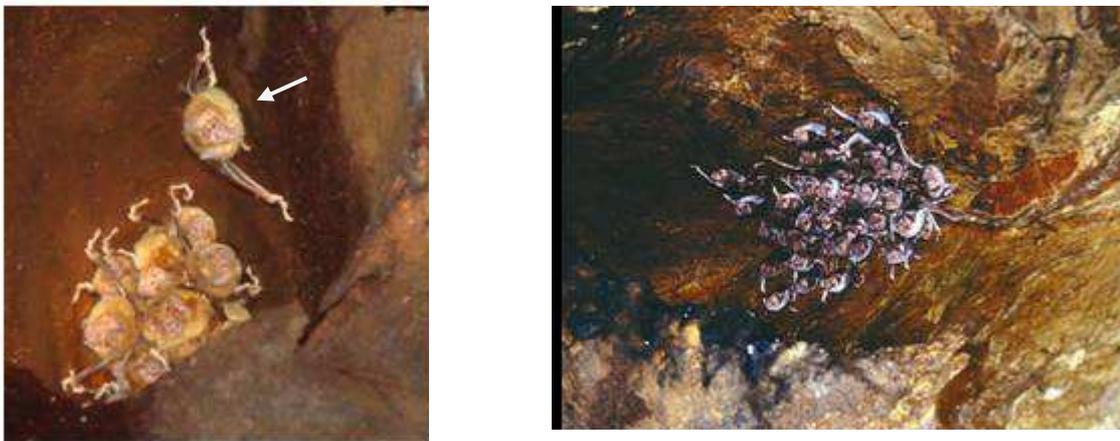
Dependo da região geográfica, o ciclo reprodutivo dos morcegos pode ser regulado por diversos fatores, tais como: temperatura, chuvas e estado nutricional (BROWN 1994). No caso de regiões tropicais, o período reprodutivo é afetado indiretamente pelas condições climáticas, a qual tem influência direta sobre a disponibilidade de alimento. Então, muitas espécies de morcegos, como, por exemplo, os da família Phyllostomidae, teriam ciclo reprodutivo do tipo poliétrico bimodal, com picos de nascimento relatados para estação chuvosa (SCHMIDT 1988). Mas, quando se trata de *D. rotundus*, o mesmo apresentaria uma dinâmica diferente, sendo considerado poliétrico e, portanto, ativo ao longo do ano com até quatro estros (LANGGUTH & ACHAVAL, 1972, BROWN 1994). Todavia, o habitual para as fêmeas do vampiro comum é a ocorrência de apenas uma gestação por ano, com um único filhote, tendo esta duração de sete meses (GREENHALL *et al.* 1983, SCHMIDT 1988, UIEDA 2008). Portanto, é natural que haja sobreposições nos ciclos de nascimento, sendo comum encontrar fêmeas grávidas ainda amamentando filhotes do ano anterior.

A maturidade sexual nas fêmeas dá-se ao final do primeiro ano (WILKINSON 1985a), já a descida testicular nos machos seria em torno de 300 dias (SCHIMDT 1978), então, machos e fêmeas parecem torna-se sexualmente maduros por volta do mesmo período. De qualquer maneira, quando os descendentes são do sexo masculino, estes deverão ser expulsos do grupo pelo macho dominante após completar um ano de idade (WILKINSON 1984). Então, os machos solteiros devem:

- i) permanecer próximo ao local de origem e aguardar a ausência do macho dominante para acasalar com as fêmeas, ii) constituir seus próprios haréns em outros locais ou iii) empreender deslocamentos para prováveis cópulas com fêmeas de outros haréns. Em contraste, espécimes do sexo feminino são imediatamente recrutadas pelo macho dominante, para que quando adultas, além da procriação, sejam responsáveis pela proteção e repasse aos filhotes de interações altruístas, que fortalecem o convívio afetivo e social (WILKINSON 1985a). Para tanto, as fêmeas adultas do vampiro comum empreendem cuidado parental durante um ano e amamentação em torno de 250 dias, apesar de que a partir do quarto mês de idade os filhotes já ingerem sangue por regurgitação (SCHIMDT 1988). Quanto à longevidade, observada através dos anéis de crescimento do cemento dental, este indica que eles podem sobreviver por 18 anos em condições naturais (LORD *et al.* 1976).

Portanto, na estrutura social do morcego vampiro, há ocorrência de hierarquia, com dominância de um macho alfa sobre outros machos ditos como subalternos ou intrusos (WILKINSON 1988, GOMES & UIEDA 2004), bem como fêmeas pouco ou nada aparentadas (WILKINSON 1990). Em suma, há formação de haréns com 50 indivíduos (Figura 5), contendo de 10 a 20 fêmeas adultas, além dos filhotes e dos machos solteiros (WILKINSON 1985b). Assim, as colônias podem ter normalmente de 20 a 100 indivíduos (WIMSATT 1969, LORD *et al.* 1976, UIEDA

1987). Abrigos com mais de 100 espécimes são considerados atípicos por UIEDA *et al.* (1996) e UIEDA (2008). Para *D. rotundus* já foram registrados em abrigos diurnos desde agregações que se constituíram por uma colônia (WILKINSON 1985b), bem como por 2000 espécimes (WILKINSON 1988). Contudo, UIEDA (2008) comenta que tanto a capacidade de suporte do ambiente quanto a disponibilidade de alimento, incluindo grandes fazendas, manteriam colônias tão numerosas, sendo mais provável a ocorrência de dispersão antes que tais níveis fossem atingidos.



**Figura 5** – Estrutura de agrupamentos de *D. rotundus* (colônias), representando um harém de menor tamanho em oco-de-árvore, onde o macho dominante (indicado por seta branca) encontra-se separado do grupo (A), e um harém maior com 50 indivíduos em caverna (B). Foto B: W. Uieda.

Segundo LINHART *et al.* (1972), dentro dos abrigos há um intenso contato corporal entre os indivíduos, principalmente, fêmeas da colônia de *D. rotundus*, onde o posicionamento lado a lado permite o contato de asas, bem como de ventre e dorso (Figura 5). Também foram registrados pelos autores atividades de limpeza mútua (limpeza dos pêlos) e regurgitação de alimento entre membros de um mesmo refúgio. Tais comportamentos sociais foram utilizados como base

para o desenvolvimento do método de controle populacional da espécie, através da aplicação tópica de substância tóxica de ação letal. No entanto, segundo WILKINSON (1988 e 1990), existe diferença na interação social dos adultos, onde apenas as fêmeas adultas e os jovens, independentemente do sexo, participariam dessa limpeza em grupo, assim também como somente as fêmeas adultas partilhariam alimento, primeiramente, com os filhotes, sejam seus ou não, e depois entre si. Em diversos abrigos essas interações foram observadas em colônias dominadas por um único macho adulto (WILKINSON 1990, LORD 1992, GOMES & UIEDA 2004), que assim como os machos subalternos, pouco participa dos processos de interação social.

Dentre os raros momentos de contato entre os machos nas colônias o mais efetivo seria durante o comportamento agonístico, envolvendo brigas e vocalizações, ou seja, intimidações em defesa de seu harém e posição hierárquica nos agrupamentos (LINHART *et al.* 1972, SAZIMA 1978, WILKINSON 1990, UIEDA 2008). Outro evento agonístico entre machos foi observado quando na defesa da fonte de alimento, principalmente, depois de ferida a presa (ROCHA 2005).

No trabalho de GOMES *et al.* (2006) sobre o controle químico das populações de *D. rotundus* no Estado de São Paulo, o maior número de carcaças tratadas com pasta vampiricida foi de fêmeas, o que levou os autores a sugerir uma maior ação do efeito da pasta nas mesmas. WILKINSON (1990) e TRAJANO (1996) já haviam citado o comportamento gregário das fêmeas, bem como o deslocamento entre abrigos. Sendo assim, o maior tempo de contato entre as fêmeas nos abrigos, tornou-as importantes disseminadoras da pasta no controle químico populacional dos agrupamentos, uma vez que são eliminadas mais fêmeas do que machos (GOMES *et al.* 2006). Esses autores recomendam

também, que os machos em áreas de controle deveriam ser tratados com a pasta, sendo importante destinar alguns exemplares a exames laboratoriais de pesquisa e prevalência do *Lyssavirus*. Haja vista a morte das fêmeas induzir os machos ao deslocamento.

As estratégias comportamentais de *D. rotundus* também incluem características de uma espécie tipicamente não migratória, porém de intenso intercâmbio entre os indivíduos provenientes de diversos abrigos numa mesma área de vida (GREENHALL *et al.* 1983, ARELLANO-SOTA 1988, TRAJANO 1996). Apesar de WILKINSON (1985a) demonstrar uma maior contribuição das fêmeas para o fortalecimento do convívio afetivo, WIMSATT (1969) já havia observado fêmeas deslocando-se de um abrigo para outro em busca de parceiros reprodutivos, somente retornando depois de alguns dias ao local de origem. Fato que de certa maneira, segundo o autor, contribuiria para a variabilidade genética da população.

Aos machos dominantes coube a defesa de sua colônia e se possível, um grande número de acasalamentos aleatórios. Esta última estratégia é considerada por WILKINSON (1985a, 1988) de fundamental importância também na manutenção da variabilidade genética dessa espécie, uma vez que os machos dominantes conseguem alcançar uma média de paternidade de 46%. Quanto aos machos intrusos, apesar de um menor número de acasalamentos, estes se mostraram altamente importantes para a manutenção de mais de 50% da variabilidade genética da espécie, sobretudo, devido à elevada dispersão dos mesmos. Além dos deslocamentos individuais, ainda é descrito na literatura o uso de múltiplos abrigos ou refúgios pelas colônias da espécie (WIMSATT 1969, LORD *et al.* 1975b, GREENHALL *et al.* 1983, ARELLANO-SOTA 1988, TRAJANO 1996). Enquanto esses trabalhos relatam separadamente o intercâmbio e o uso de

múltiplos abrigos, WIMSATT (1969) e WILKINSON (1985a,b) descreveram ambos os eventos ocorrendo em colônias residentes na mesma área.

### 1.3.3. Abrigos diurnos e área de vida

Em geral, *D. rotundus* utiliza abrigos internos, sendo que em condições naturais estes incluem: ocos de árvores, grutas, cavernas, fendas em rochas dentre outras possibilidades que lhes permitem formar colônias (UIEDA 1996). Um dos fatores que pode influenciar na escolha de um local é a umidade relativa do seu microambiente, uma vez que o vampiro comum tende a perder muita água por evaporação ao longo do dia (MCFARLAND & WIMSATT 1969). No entanto, a redução dos abrigos naturais do vampiro comum tem promovido a sua adaptação a novos refúgios artificiais (SCHMIDT 1988, BROWN 1994). Para W. Uieda (Com. Pess.), a maior acessibilidade e proximidade dos abrigos artificiais às fontes de alimento têm levado o vampiro comum a abandonar os abrigos naturais. Dentre os novos locais podem estar incluídas minas abandonadas, túneis, casas habitadas ou não, bem como bueiros, (GREENHALL *et al.* 1983, FLORES-CRESPO & ARELLANO-SOTA 1991, GOMES & UIEDA 2004). Segundo BROWN (1994), na formação de abrigos, o mais importante é a disponibilidade no ambiente de locais adequados para acomodar as colônias de *D. rotundus*. No trabalho de LORD (1988), na Argentina, foi identificada uma relação entre as características ambientais de uma região e o tamanho da população de *D. rotundus*, onde um número maior de abrigos foi evidenciado próximo aos grandes rios.

No Brasil, TADDEI *et al.* (1991) apontara para o fato de que os principais rios do Estado de São Paulo também teriam sido feições geográficas fundamentais para a presença do morcego, bem como para o desdobramento de uma epidemia de Raiva em bovinos na década de 1980. Esta hipótese foi

fundamentada na maior concentração de herbívoros domésticos ao longo dos grandes rios paulistas e seus principais afluentes. Então, na medida em que diversos trabalhos descrevem a estreita relação entre a presença de bovinos com a população de *D. rotundus* (MÁLAGA-ALBA 1954, FINDLEY 1993, BRASS 1994, BROWN 1994), é razoável considerar o efetivo bovino como um forte condicionante de risco para focos de Raiva em herbívoros domésticos.

SCHNEIDER *et al.* (2009) acredita também que a ocorrência da Raiva em humanos envolveria fatores que oferecessem condições mínimas para a manutenção da virose. Contudo, tais condições incluem tanto a disponibilidade de alimento quanto a disponibilidade de abrigo ao morcego hematófago. Para CONFALONIERI (2005), na Amazônia, uma vez que o elemento abrigo esteja relacionado às características regionais das práticas de uso da terra, tal evento pode gerar muitas transformações ambientais com riscos para a saúde humana. No Brasil, as taxas mais altas de transmissão a humanos por morcego hematófago foram de acontecimentos em localidades rurais na Amazônia nos anos de 2004 e 2005 no Estado do Pará (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). Segundo SCHNEIDER *et al.* (2009), as áreas rurais na Amazônia apresentam particularidades que diferenciam seus focos. Dentre estas estariam: i) a percepção das vítimas sobre as agressões por morcegos, que é considerada bastante comum (Figura 6); e ii) a pouca conscientização das populações tradicionais (ribeirinhos, indígenas, pescadores, coletores e outros) sobre a Raiva. Para TRAVASSOS DA ROSA *et al.* (2006), também seria incluído a fácil acessibilidade dos morcegos às habitações do tipo casa sem janelas e portas.

Na teoria dos “focos naturais” de PAVLOVSKY (1967), as doenças têm a participação dos humanos, quando estes promovem ações sobre a natureza originando focos, que ficariam limitados a um único panorama ambiental ou

biogeográfico devido à correlação entre os fatores envolvidos. No caso da Raiva em bovinos, GOMES (2009), ao avaliar a zoonose no estado de São Paulo, Brasil, demonstrou que as áreas características de ambiente pecuário são fortemente influenciadas por novos condicionantes, do tipo: áreas agrícolas, manchas urbanas, áreas florestadas e topografia. Tal interação exerceria forte pressão sobre alguns eventos como: a distribuição do efetivo bovino, a mobilidade de *D. rotundus*, os padrões espaciais e as características de migração da epidemia. Portanto, gerando diferentes feições espaciais de risco para a Raiva bovina.



**Figura 6** – Vampiro comum no momento de aproximação para se alimentar na vítima em repouso. Foto: W. Uieda.

A análise dos casos de Raiva envolve uma riqueza de informações regionais, demográficas, de práticas de uso da terra e de seus impactos ambientais e sociais. Mas, o estudo do processo de produção dessa zoonose, e do dimensionamento de áreas de risco, depende de ferramentas que dêem suporte à integração da grandeza espaço-temporal da informação (DIAS *et al.* 2004). Tais mecanismos também devem permitir à análise, associação entre os registros temporais com eventos naturais, ou não naturais do ambiente (DRUCK *et al.* 2004).

O geoprocessamento é um conjunto de tecnologias, cujas atividades são executadas por sistemas específicos para cada aplicação. Estes sistemas são mais comumente tratados como Sistemas de Informação Geográfica (SIG) e tem auxiliado, sobremaneira, na gestão, no armazenamento, na análise e no mapeamento de fenômenos que envolvem a saúde pública (GATRELL & BAILEY 1996). Na última década, em áreas extra-amazônicas, tem sido amplamente consolidada a incorporação dessa tecnologia da informação em avaliações da incidência e distribuição da Raiva (MURRAY *et al.* 1986, CHILDS *et al.* 2000, SILVA *et al.* 2001, GUERRA *et al.* 2003, JONES *et al.* 2003, CASTRO e SINGER 2007, RECUENCO *et al.* 2007, GOMES *et al.* 2007, GAO *et al.* 2008).

Quanto à área de vida de *D. rotundus*, MCNAB (1973), demonstrou que o padrão de atividade diária é simples, isto é, passam cerca de 22 horas em seus abrigos, voam a noite até um local de alimentação e voltam após terem se alimentado. O forrageio seria único por noite, principalmente, nas primeiras horas, mas quando são observados horários distintos acredita-se na existência de dois grupos diferentes no mesmo refúgio (WIMSATT 1969). Um vampiro típico voaria cerca de 10 quilômetros (ida e volta) a uma velocidade de 20 km/hora para encontrar uma refeição, assim, gastaria cerca de meia hora por dia voando e o restante do tempo alimentando-se (MCNAB 1973). A área de vida do vampiro comum tem sido estimada desde os primeiros trabalhos realizados por MÁLAGA-ALBA (1954), sendo citado que, no México, essas áreas apresentariam uma extensão entre 15 a 20 km. Posteriormente, CRESPO *et al.* (1961) identificou em Córdoba, na Argentina, que a mesma espécie não ultrapassaria uma distância de 5 a 8 km. Já para WILKINSON (1985b), os machos e fêmeas de *D. rotundus* na Costa Rica, cobririam uma área de vida em média de 3,4 km. No Brasil, TRAJANO

(1996) estimou que a área de forrageio do vampiro comum estaria dentro de um raio de apenas 2 a 3 km.

Portanto, parece que o vampiro comum tende a apresentar plasticidade no seu forrageamento, uma vez que parece ajustar-se facilmente às diferentes condições ambientais (GREENHALL *et al.* 1983, GERMANO *et al.* 1992). No entanto, não há evidências de que tais adaptações comportamentais estejam associadas também às diferenças morfológicas, ou até mesmo, de variação genotípica, as quais podem estar respondendo de maneira direta às pressões externas de uso e cobertura da terra. Até o momento, o trabalho de MARTINS (2008) foi o único no Brasil a inferir sobre tais variações, contudo, dentro de uma escala maior entre regiões e diferentes biomas.

#### 1.3.5. O uso de microssatélites para *D. rotundus*

Poucos estudos sobre a diversidade genotípica de *D. rotundus* têm sido realizados no Brasil (MARTINS *et al.* 2007, MARTINS *et al.* 2009, COSTA 2011), e nenhum voltado de maneira mais específica para a Amazônia. Dos estudos citados os MARTINS *et al.* (2007 e 2009) apontam para existência de um padrão filogeográfico, genético e morfológico para *D. rotundus*, com a formação de quatro populações geograficamente circunscritas: i) Mata Atlântica do Norte; ii) Mata Atlântica do Sul; iii) Pantanal e iv) Cerrado, juntamente com a Amazônia. Para os autores, essa divisão é um indício de que *D. rotundus*, possivelmente, abriga populações crípticas. MARTINS *et al.* (2009) propôs o reconhecimento de duas linhagens atribuídas a *D. rotundus* como duas possíveis subespécies distintas. Estando uma a leste (Mata Atlântica) e outra ao oeste (Cerrado e a Amazônia) do Brasil. Para os esses autores, os espécimes da Amazônia e da América Central formariam uma população homogênea. Os estudos de MARTINS

*et al.* (2007, 2009) são as primeiras inferências que incluem a Amazônia brasileira, entretanto, com uma representatividade amostral de menor extensão quando comparada às dimensões do próprio bioma.

DITCHFIELD (2000), utilizando o marcador Cytocromo *b* para *D. rotundus*, sugeriu que, na Mata Atlântica, os espécimes de áreas muito próximas tenderiam à heterogeneidade populacional em uma escala mais regional. Na revisão de McCracken (1987), sobre estudos genéticos com morcegos neotropicais, também ficou evidente que embora a subdivisão seja pouco aparente, as colônias individuais podem apresentar alguma heterogeneidade devido à coancestria. Nesse caso, a equivalência alélica por descendência estaria diretamente associada a um baixo declínio reprodutivo, ou seja, a um alto nível de dispersão, principalmente, em função do comportamento da espécie. De acordo com Goldstein & Schlotterer (2001), os marcadores de DNA são ferramentas cuja origem deve fornecer um polimorfismo detectável e comparável dos organismos a serem estudados. A existência de diversos marcadores é assinalada por características importantes, mas, principalmente, devem obedecer aos requerimentos de cada investigação científica.

Pesquisas no “GenBank” (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>), utilizando o nome da espécie do morcego vampiro comum, *Desmodus rotundus*, listam 73 marcadores moleculares distribuídos em 15 trabalhos realizados de 1991 a 2008. Esse número pode ser considerado insignificante quando comparado às buscas com o nome da ordem Chiroptera (com 655.476 informações) e até mesmo para a expressão *Rabies virus*, com 6.416 informações. Dentre os marcadores encontrados para *D. rotundus* no “Genbank” estão os doze microssatélites polimórficos desenvolvido por Piaggio *et al.* (2008),

destinados aos estudos populacionais referentes à estrutura, conexão e dispersão dessa espécie.

Os microssatélites também são conhecidos como SSR (*Sequence Simple Repeats*) ou STR (*Short Tandem Repeats*) e representam as seqüências repetitivas mais polimórficas e informativas do genoma de animais e plantas (OLIVEIRA *et al.* 2006). Tal característica, provavelmente, deve ter origem no atributo particular de apresentar as taxas mais elevadas de mutações do genoma (JARNE & LAGODA 1996). Além de altamente polimórficos, os microssatélites são alelos codominantes e de herança Mendeliana, o que permite a distinção entre homozigotos e heterozigotos, que são encontrados altamente dispersos no genoma, em regiões codificadoras e não codificadoras de proteínas sob baixas frequências. Os microssatélites são compostos por séries de seqüências pequenas (*Sequence Motif*) de um a seis nucleotídeos repetidos em linha (TÓTH *et al.* 2000).

As mutações a serem avaliadas em cada marcador microssatélite são oriundas de alterações no número de repetições, que se encontram difundidas no genoma de eucariotos e procariotos. Dentre os diversos mecanismos sugeridos como causadores das variações nos microssatélites estariam os erros de pareamento durante os deslizamentos das fitas de DNA, ou seja, no momento da replicação, num mecanismo chamado de **slippage** da DNA polimerase ou de *crossing over* desigual durante a replicação (STRAND *et al.* 1993). Estes erros são responsáveis pela adição ou deleção de repetições conferindo polimorfismo aos locos. Em mamíferos as repetições mais comuns são das bases GT/AC (FRANKHAM *et al.* 2008). Para estes autores, outras características importantes dos marcadores SSR incluem a presença de seletividade neutra e a possibilidade da utilização de DNA com baixa integridade qualitativa.

Atualmente, os microssatélites têm sido muito utilizados em pesquisas devido às suas características: i) permitir a construção de mapas genéticos de muitos organismos (KNAPIK *et al.* 1998, CREGAN *et al.* 1999), ii) facilitar a associação entre a instabilidade do número de repetições com doenças genéticas humanas (MAHADEVAN *et al.* 1992, STALLINGS 1994, O'DONNELL & WARREN 2002) e iii) propiciar a genotipagem de paternidade (SCHLÖTTERER 2000). Além do mais, há o fato dos microssatélites poderem gerar informações relevantes sobre diversidade genética (FRANKHAM *et al.* 2008), bem como sobre os seguintes processos genéticos populacionais: padrões do fluxo gênico, diagnóstico de parentesco, ocorrência de direção ou tendência genética (HEYWOOD & IRIONDO 2003) e o reconhecimento de espécies negligenciadas (CLARE *et al.* 2006).

É bem verdade que diversos outros marcadores genéticos têm sido utilizados em estudo sobre a Raiva, mas esses geralmente são voltados apenas à interpretação do vírus. BARBOSA *et al.* (2008) e CASTILLO *et al.* (2010), por exemplo, já demonstraram a aplicação da molecular no estudo na migração do *Lyssavirus* e suas origens. Entretanto, uma vez que o vírus pode migrar através do morcego (DIEGO & VALOTTA 1973), torna-se imprescindível investigar as prováveis relações intraespecíficas que ocorrem nas populações de *D. rotundus*, pois, certamente, tão importante quanto identificar a origem dos vírus é perfazê-lo com o seu subsequente local de instalação. Assim, os marcadores microssatélites parecem viáveis para o estudo das interações relativas entre indivíduos de diferentes agrupamentos de *D. rotundus* que, no intercâmbio em bases diárias (WIMSATT 1969, LOPEZ-FORMET *et al.* 1971), facilitariam a difusão do agente causador da Raiva (LORD *et al.* 1975b).

#### 1.4. *Lyssavirus* e seus reservatórios

A Raiva é uma doença infecciosa que envolve uma cepa de vírus do gênero *Lyssavirus*, família *Rhabdoviridae*, a qual juntamente com as Famílias *Paramyxoviridae*, *Filoviridae* e *Bornaviridae*, constituem a ordem *Mononegavirales*. Todos os vírus registrados dessa ordem apresentam genoma de RNA não-segmentado, de sentido negativo, bem como de RNA de fita simples (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES 2005).

Antes de 1956 acreditava-se que o Vírus da Raiva era único. Mas logo depois desse período começaram as classificações de *Lyssavirus* em sorotipos. Com o recente advento de técnicas antigênicas e moleculares, além do isolamento de novos vírus, descobriu-se que tal gênero seria na verdade constituído por sete espécies ou genótipos. O genótipo I (vírus clássico de raiva-RABV), o genótipo II (Lagos bat vírus-LBV), genótipo III (Mokola vírus-MOKV), genótipo IV (Duvnhage vírus-DUVV), genótipo V (European bat lyssavirus 1-EBLV1), genótipo IV (European bat Lyssavirus 2-EBL2) e o genótipo VII (Australian bat lyssavirus-ABL). Além destes, foram atualmente reconhecidos em morcegos quatro novos genótipos, sendo estes: o genótipo VIII (Aravan vírus-ARAV), genótipo IX (Khujand vírus-KHUV), genótipo X (Irkut vírus-IRKV) e o genótipo XI (West Caucasian bat vírus-WCBV) (HANLON *et al.* 2005).

O RABV se instala e multiplica primeiro nos nervos periféricos, depois passa para o sistema nervoso central causando uma encefalomielite (inflamação aguda no cérebro), para depois atingir as glândulas salivares, onde também se multiplica e propaga. Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Raiva é uma doença causada apenas pelo vírus clássico, ou seja, o genótipo I, que possui ampla distribuição mundial.

Até o presente, todos os vírus isolados na América foram diagnosticados como pertencente ao genótipo 1, sendo este constituído por variantes, frequentemente, associadas a um hospedeiro específico (macacos, canídeos e morcego). Dentre as mais importantes está a variante 2 (VAg2), comumente isolada de cães domésticos, a variante 3 (VAg3) isolada de morcego hematófago *D. rotundus* (DELPIETRO *et al.* 1997, BARBOSA *et al.* 2008). Contudo, esta última variante já foi diagnosticada também em outras espécies não hematófagas de quirópteros (SODRÉ *et al.* 2010). Segundo LORD *et al.* (1975a) e WILKINSON (1988), entre os hematófagos, a disseminação da virose dar-se-ia via comportamento agonístico, limpeza social e regurgitação. Os morcegos hematófagos quando infectados teriam um período de incubação em média de 25 dias, o que, subsequentemente, culminaria em um conjunto de estágios ditos invasivos, ocorrendo ao longo de 12 a 24 horas, sendo estes seguidos por momento de excitabilidade, paralisia e, finalmente, a morte (MÁLAGA-ALBA 1954).

HOLMES *et al.* (2002) associaram a expansão adaptativa de *D. rotundus* à diversificação das linhagens atuais de *Lyssavirus* genótipo 1, cujo acontecimento foi geneticamente estimado para os últimos 500 anos; paralelamente, a colonização do Novo Mundo. Esses autores também ressaltam que antes da chegada dos europeus, o Vírus da Raiva (RABV) já se fazia naturalmente presente em morcegos hematófagos na América do Sul. Atualmente, o vampiro comum destaca-se, sobretudo, pela propagação da Raiva transmitida por morcego a vertebrados homeotérmicos, incluindo humanos, bem como pelos grandes prejuízos econômicos causados à pecuária (MÁLAGA-ALBA 1954, ACHA & MÁLAGA-ALBA 1988, FINDLEY 1993, BRASS 1994, BROWN 1994).

Na Amazônia, CASTILLO *et al.* (2010) identificaram geneticamente que na dispersão de VAg3 no Pará teria ocorrido uma divisão recente em duas

linhagens, havendo um subgrupo no nordeste do Pará e a outro no Marajó. Segundo o autor, tais grupos estariam separados por barreiras naturais, como a cobertura da terra e extensos divisores de água. Já BARBOSA *et al.* (2008), além da separação da linhagem do Marajó, demonstraram que as cepas virais transmitidas por *D. rotundus* nessa área, constituiriam um nicho singular de uma linhagem estabelecida a mais tempo do que as outras identificadas.

Apesar dos morcegos serem considerados os únicos reservatórios naturais de vírus (DIMITROV *et al.* 2007), por muitas vezes estes podem contaminar outros organismos, perfazendo quatro ciclos: i) urbano (cães e gatos); ii) rural terrestre (bovinos, bubalinos, suínos, caprinos, ovinos, equinos e porcos) iii) silvestre terrestre (raposas, macacos, coatis, gambás, guaxinim, etc) e iv) silvestre aéreo (morcegos hematófagos e não-hematófagos). Os seres humanos também podem ser infectados, sendo que tal acontecimento poderia ocorrer em qualquer um dos ciclos anteriores (UIEDA *et al.* 1995). Contudo, organismos como os ruminantes e humanos são, de fato, hospedeiros irrelevantes na cadeia de transmissão do Lyssavirus aos outros animais (LOZA-RUBIO *et al.* 1999).

De acordo com estudos em outras regiões do Brasil (TADDEI *et al.* 1991) e até mesmo em outros países vizinhos (CRESPO *et al.* 1961), humanos seriam uma fonte secundária de alimento para o *D. rotundus*, enquanto que os rebanhos bovinos são a fonte principal, permitindo um fácil acesso e, por muitas vezes, uma grande oferta. Nesse contexto, para a Amazônia e diante do modo de vida em áreas rurais, esse cenário reforça a sugestão de UIEDA *et al.* (1996) sobre o quanto é importante acompanhar o ciclo da Raiva em grupos infectados, no intuito de revelar as prováveis relações entre os casos registrados e os organismos envolvidos nesses casos.

## 1.5. Focos recentes de Raiva no Brasil

Mesmo na condição de fonte secundária, de acordo com os dados da Fundação Nacional de Saúde (BREDT *et al.* 1998), no período de 1992 a 1993, o número de casos de Raiva humana transmitida por morcegos hematófagos, insetívoros e frugívoros representou 20,7% (18 casos) do total no Brasil. Ainda no ano de 1998, os morcegos passaram a ocupar o segundo lugar entre os principais transmissores do *Lyssavirus* aos humanos, sendo superados apenas pelos cães.

Em 2004, o Ministério da Saúde notificou o registro de dois focos de Raiva humana transmitidas por morcegos hematófagos (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). Esses focos incluíram os municípios de Portel (15 casos) e Vizeu (6 casos), no Estado do Pará. Em 2005, mais 15 casos foram diagnosticados em localidades pertencentes ao município de Augusto Corrêa, também no Pará. Assim, por causa dos focos ocorridos na região amazônica, a partir de 2004, ocorre uma modificação da situação da Raiva humana no Brasil, onde o morcego passa a ser considerado como o principal transmissor no cenário nacional.

Contribuindo com a tendência descrita acima, estão as ações de controle da Raiva transmitidas por cães e gatos incluindo, por exemplo, as campanhas anuais de vacinação de animais domésticos. A partir dessas ações, a variante II, específica desse grupo, é induzida a baixa circulação, ao contrário da variante III, específica de *D. rotundus*, cujas taxas de dispersão podem ter aumento. Tudo isso associado também a uma maior e mais fácil exposição das espécies-alvo, os ruminantes (HILL & SMITH 1986).

Ainda na Amazônia Legal a situação da Raiva humana, transmitida por morcego hematófago, foi mantida no ano subsequente (2005), onde foram registrados novos focos no noroeste do Estado do Maranhão, nos municípios de

Carutapera, Godofredo Viana, Cândido Mendes e Turiaçú. Estes acontecimentos, provavelmente, refletem o relato precedente de MAYEN (2003) acerca do desequilíbrio que se estabelece gradativamente na dinâmica natural do agente patogênico com o hospedeiro silvestre.

MAYEN (2003) também menciona que o controle das populações de morcegos realizado através de campanhas governamentais no Brasil é considerado necessário pelos fazendeiros locais e por autoridades nacionais. Contudo, tais campanhas poderiam resultar na morte de muitos morcegos, inclusive de outras espécies, cuja importância reflete o balanço ecológico e a diversidade do grupo. O autor também acredita que isso possa ocorrer devido à existência de poucos estudos sobre os fatores ecológicos que estão envolvidos na epidemiologia da Raiva no Brasil.

Por fim, *D. rotundus* é atualmente uma espécie de importância econômica e epidemiológica, cuja versatilidade biológica na Amazônia talvez esteja acessada por grupos geográficos de divergências morfológicas e/ou genéticas. Conseqüentemente, esses grupos teriam contribuído de maneira distinta nos casos mais recentes de Raiva em humanos no Brasil, bem como ter sido favorecidos por processos e padrões ambientais de produção da Raiva em humanos e bovinos.

## **1.6. Principais objetivos**

Os principais objetivos do presente trabalho são: i) investigar possíveis padrões de segregação geográfica dos caracteres cranianos e de morfologia externa, em exemplares da espécie *D. rotundus* no Estado do Pará, ii) analisar a estrutura genética das populações de *D. rotundus* no Estado do Pará e iii) investigar os focos de Raiva no estado, de 1999 a 2008, sob o ponto de vista espacial, através da propagação dessa zoonose em seres e herbívoros domésticos humanos infectados por VAg3.

## 1.7. O escopo da tese

O Capítulo 2 apresenta informações sobre a congruência entre a variação dos caracteres fenotípicos e a distribuição geográfica do morcego vampiro no estado do Pará. Sendo neste caso, geradas informações sobre a viabilidade da análise com sexos combinados, diagramas das relações fenotípicas entre os grupos geográficos definidos, e cálculos das relações entre as variáveis aferidas para a avaliação dos grupos.

O Capítulo 3 é uma continuidade do estudo populacional de *D. rotundus* representado por grupos de diferentes áreas geográficas do estado do Pará. Nesse capítulo foram gerados diagramas populacionais a partir da análise genética molecular com marcador microssatélites, promovendo a modelagem da estrutura genética populacional dessa espécie.

O Capítulo 4 avalia alguns fatores potenciais à dispersão do *Lyssavirus* causador da Raiva em áreas rurais, tais fatores também foram interrelacionados para o nivelamento de risco das áreas com casos positivos da doença em humanos e bovinos. Para tanto foi realizada a avaliação dos registros de casos positivos notificados em ambas as categorias no Estado do Pará, com a análise da densidade espaço-temporal dos casos positivos, e com a geração de mapas de risco de uma década de registros (1999 a 2008).

Por fim, o Capítulo 5 apresentará uma análise macroscópica, baseada nas informações produzidas nos capítulos anteriores (Capítulos 2, 3 e 4), no intuito de i) promover uma melhor visão sobre aspectos epidemio-ecológicos da Raiva transmitida por morcegos vampiros comuns e ii) subsidiar uma proposta que venha minimizar a possibilidades de novos casos de Raiva, bem como o manejo das populações de *D. rotundus* no Estado do Pará.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA P N & A MÁLAGA-ALBA. 1988. Economic losses due to *Desmodus rotundus*.  
In: GREENHALL A M AND U SCHMIDT. (Eds). **Natural History of Vampire Bats**.  
Florida: Boca Raton, CRC Press. p. 207-214.
- ALTRINGHAM J D. 1996. **Bats Biology and Behaviour**. Oxford University Press,  
Oxford, 261p.
- APITZ-CASTRO R, S BEGUIN, A TABLANTE, F BARTOLI, J C HOLT & H C HEMKER. 1995.  
Purification and partial characterization of draculin the anticoagulant factor  
present in the saliva of vampire bats (*Desmodus rotundus*). **Thrombosis  
and Haemostasis**, **73**:94–100.
- ARELLANO-SOTA C. 1988. Biology, ecology, and control of the vampire bat.  
**Reviews of Infection Diseases**, **10**(4):615-619.
- BARBOSA T S, D B A MEDEIROS, E S TRAVASSOS DA ROSA, L M N CASSEB, R  
MEDEIROS, A S PEREIRA , A C R VALLINOTO, M VALLINOTO, A L BEGOT, R J S  
LIMA, P F C VASCONCELOS & M R T NUNES. 2008. Molecular epidemiology of  
rabies virus isolated from different sources during a bat-transmitted human  
outbreak occurring in Augusto Correa municipality, Brazilian Amazon.  
**Virology**, **370**:228-236.
- BERNARD E & M B FENTON. 2003. Bat mobility and roosts in a fragmented  
landscape in Central Amazonia, Brazil. **Biotropica**, **35**(2):262-277.
- BRASS D A. 1994. **Rabies in Bats**. Natural History and Public Health Implications.  
Livia Press, Ridgefield, 352p.
- BREDT A, F A ARAUJO, J CAETANO-Jr, M G R RODRIGUES, M YOSHIKAWA & M M S  
SILVA, N M S HARMANI, P N T MASSUNAGA, S P BURER, V A R PORTO & W  
UIEDA. 1998. **Morcegos em áreas urbanas e rurais: Manual de manejo e  
controle**. Brasília, Fundação Nacional de Saúde, 117p.

- BROWN E B. 1994. **Vampiro: the vampire bat in fact and fantasy**. High-Lone some Books, Silver City, 148p.
- CABRERA A. 1958. Catalogo de los mamíferos Del Suriname. **Revista de Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”**, Ciencias Zoológicas, **4**:93.
- CALISHER C H, J E CHILDS, H E FIELD, K V HOLMES & T SCHOUNTZ. 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, **19**(3):531-545.
- CASTILLO J G, P CARNIELLI JR, E A DURYMANOVA, W O FAHI, R N OLIVEIRA, C I MACEDO, E S TRAVASSOS DA ROSA, A MANTILLA, M L CARRIERI & I KOTAIT. 2010. Human rabies transmitted by vampire bats: antigenic and genetic characterization of rabies virus isolates from the Amazon region (Brazil and Ecuador). **Virus Research**, **153**(1):100-105.
- CASTRO, M C C & B H SINGER. 2007. Meio ambiente e saúde: metodologia para análise espacial da ocorrência de malária em projetos de assentamento. **Revista Brasileira de Estudo Populacional**, **24**:247-262.
- CHILDS J E, A T CURNS, M E DEY, L A REAL, L FEINSTEIN, O N BJØRNSTAD & J W KREBS. 2000. Predicting the local dynamics of epizootic rabies among racoons in the United States. **PNAS**, **97**(25):13666-13667.
- CLARE E L, B K LIM, M D ENGSTROM, J L EGER & P D N HEBERT. 2006. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. **Molecular Ecology Notes**, 1-7.
- CONFALONIERI U E C. 2005. Saúde na Amazônia: um modelo conceitual para a análise de paisagens e doenças. **EstudosAvançados**, **19**(53):221-236.

- CONSTANTINE D G. 1988. Transmission of pathogenic microorganisms by vampire bats, 167-190. In: GREENHALL A M & U SCHMIDT (Eds.). **Natural history of vampire bats**. CRC Press, Boca Raton, Florida.246p.
- COSTA P P. 2011. **Ecologia molecular de *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae) no parque estadual de Campinhos, Paraná, Brasil**. Dissertação apresentada a pós-graduação em Zoologia, Universidade Federal do Paraná, 115p.
- CREGAN B, J MUDGE, E W FICKUS, L F MAREK, D DANESH, R DENNY, R C SHOEMAKER, B F MATTHEWS, T JARVIK & N DYOUNG. 1999. Targeted isolation of simple sequence repeat markers through the use of bacterial artificial chromosomes. **Theoretical and Applied Genetics**, **98**:919-928.
- CRESPO J A, J M VANELLA, B D BLOOD & J M DE CARLO. 1961. Observaciones ecológicas del vampiro *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy) em el norte de Córdoba. **Revista Museo Argentino Ciencias Naturales**, **6**:131–160.
- DALQUEST W W. 1955. Natural history of the Vampire Bats of Eastern México. **American Midland Naturalist**, **53**(1):79-87.
- DELPIETRO H A, F GURY-DHOMEN, O P LARGHI, C MENA-SEGURA & L ABRAMO. 1997. Monoclonal antibody characterization of rabies virus strains isolated in the River Plate Basin. **Zentralbl Veterinäre Medical**, **44**(8):477-83.
- DIAS J E, M H B GOES, J X SILVA & O V O GOMES. 2004. Geoprocessamento aplicado à análise ambiental: o caso do município de Volta Redonda – RJ. In.: Xavier da Silva J & R T Zaidan (org.). **Geoprocessamento & análise ambiental: aplicações**. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 368 p.
- DIEGO A & J R VALOTTA. 1973. Rabia transmitida por mucielagos. Situation en la Republica Argentina. **Revista de Medicina Veterinaria**, **54**(4):275.

- DIMITROV D T, T G HALLAN, C E RUPPRECHT, A S TURMELLE & G F MACCRACKEN. 2007. Integrative models of bat rabies immunology, epizootiology and disease demography. **Journal of Theoretical Biology**, **245**:498–509.
- DITCHFIELD A D. 2000. The comparative phylogeography of neotropical Mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals. **Molecular Ecology**, **9**:1307-1318.
- DRUCK S, M S CARVALHO, G CÂMARA & A M O MONTEIRO. 2004. **Análise Espacial de Dados Geográficos**. Brasília, EMBRAPA, (ISBN: 85-7383-260-6). <http://www.dpi.inpe.br/gilberto/livro/analise/cap1-intro.pdf>. (acesso: 12/04/2010)
- FERNANDEZ A Z, A TABLANTE, S BEGUIN, H C HEMKER & R APITZ-CASTRO. 1999. Draculin, the anticoagulant factor in vampire bat saliva, is a tight-binding, noncompetitive inhibitor of activated factor X. **Biochimicaet Biophysica Acta**, **1434**:135–142.
- FINDLEY J S. 1993. **Bats: a Community Perspective**. Cambridge studies in ecology. Cambridge University Press. Cambridge, 167p.
- FLEMING T H. 1988. **The short-tailed fruit bat. A study in plant-animal interaction**. Chicago, University of Chicago Press, 380p.
- FLEMING T H, E T HOOPER & D E WILSON. 1972. Three Central American Bat Communities: Structure, Reproductive Cycles, and Movement Patterns. **Ecology**, **53**(4):555-569.
- FLORES-CRESPO R & C ARELLANO-SOTA. 1991. Biology and control of the vampire bat. Pp. 462-474. In: BAER G M (ed.). **The natural history of rabies**. 2a. ed., Boca Raton, CRC Press.

- FRANKHAM R, J D BALLOU & D A BRISCOE. 2008. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, Holos Editora e SBG (Sociedade Brasileira de Genética), 280p.
- GAO S, D MIOC, F ANTON, X YI & D J COLEMAN. 2008. Online GIS services for mapping and sharing disease information. **International Journal of Health Geographics**, 7(8):1-12.
- GARCIA Q S, J L P REZENDE & L M S AGUIAR. 2000. Seed dispersal by bats in a disturbed area of southeastern Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, 48:125-128.
- GATRELL A C & T C BAILEY. 1996. Interactive spatial data analysis in medical geography. **Society of Sciences of Medicine**, 42(6):843-855.
- GERMANO P M L, M I S GERMANO, O MIGUEL & C B T LAGOS. 1992. O papel dos morcegos hematófagos na cadeia de transmissão da Raiva silvestre. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP**, 16(1):21-25.
- GOLDSTEIN B D & C SCHLOTTERER. 2001. **Microsatellites: Evolution and Applications**. Oxford University Press, 352 p.
- GOMES M N & W UIEDA. 2004. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 21(3):629–638.
- GOMES M N. 2009. **Padrões espaciais da Raiva bovina e seus determinantes no Estado de São Paulo entre 1992 e 2003**. 2009. Tese de doutorado do curso de pós-graduação em Sensoriamento Remoto, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos (INPE), 277p.

- GOMES M N, W UIEDA & M R D O LATORRE. 2006. Influência do sexo de indivíduos da mesma colônia no controle químico das populações de morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Phyllostomidae) no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, **26**(1):38-43.
- GOMES M N, A M V MONTEIRO, V S NOGUEIRA FILHO & C A GONÇALVES. 2007. Áreas propícias para o ataque de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* em bovinos na região de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, **27**(7):307-313.
- GREENHALL A M & W A SCHUTT JR. 1996. *Diaemus youngi*. **Mammalian Species**, **533**:1-7.
- GREENHALL A M, G JOERMANN & U SCHMIDT 1983. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**, 202:1-6.
- GREENHALL A M, U SCHMIDT & G JOERMANN. 1984. *Diphylla ecaudata*. **Mammalian Species**, **227**:1-3.
- GUERRA T C, C E RUPPRECHT, C A HANLON, J W KREBS & J E CHILDS. 2003. Skunk and Raccoon Rabies in the Eastern United States: Temporal and Spatial Analysis. **Emerging Infectious Diseases**, **9**(9):1143-1150.
- HANLON C A, I V KUZMIN, J D BLANTON, W C WELDON, J S MANANGAN & C E RUPPRECHT. 2005. Efficacy of rabies biologics against new lyssaviruses from Eurasia. **Virus Research**, **111**:44-54.
- HEYWOOD V H & J M IRIONDO. 2003. Plant conservation: Old problems, new perspectives. **Biological Conservation**, **113**:321-335.
- HILL J E & J D SMITH. 1986. **Bats: natural history**. 2<sup>nd</sup> Ed. University of Texas Press, 243p.
- HOLMES E C, C H WOELK, R KASSIS & H A BOURHY. 2002. Genetic Constraints and the Adaptive Evolution of Rabies Virus in Nature. **Virology**, **292**:247-257

- HUBER J. 1910. Matas e madeiras amazônicas. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, 6(91):91-225.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMIC OF VIRUSES. 2005. Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viruses: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, Academic Press, pp. 630-634.
- JARNE P & P J L LAGODA. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. **Trends in Ecology and Evolution**, 11:424-429.
- JONES J K JR & D C CARTER. 1976. Annotated checklist with keys to subfamilies and genera. In: BAKER R J, J K JONES JR & D C CARTER (eds). Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part I. **Special Publication of The Museum, Texas Tech University**, 10:7-38.
- JONES M E, A T CURNS, J W KREBS & J E CHILDS. 2003. Environmental and human demographic features associated with epizootic raccoon rabies in Maryland, Pennsylvania, and Virginia. Short communications, **Journal of Wildlife Diseases**, 39(4):869-874.
- KNAPIK EW, A GOODMAN, M EKKER, M CHEVRETTE, J DELGADO, S NEUHAUSS, N SHIMODA, W DRIEVER, M C FISHMAN & H J JACOB. 1998. A microsatellite genetic linkage map for zebrafish (*Daniorerio*). **Nature Genetics**, 18:338-343.
- KOOPMAN K F. 1988. Systematics and distribution, Pp. 7-17. In: GREENHALL, A M & U SCHMIDT (eds.). **Natural history of vampire bats**. Boca Raton, CRC Press, 245p.
- KUNZ T H, O T OFTEDAL, S K ROBSON, M B KRETZMANN & C KIRK. 1995. Changes in milk composition during lactation in three species of insectivorous bats.

**Journal of Comparative Physiology, B. Biochemical, Systematic, and Environmental Physiology, 164:543–551**

- LANGGUTH A & F ACHAVAL. 1972. Notas ecológicas sobre el vampiro *Desmodus rotundus* en el Uruguay. **Neotropica**, **18**:45-53.
- LINHART S B, R FLORES-CRESPO & G C MITCHELL. 1972. Control of vampire bats by tropical application of naanticoagolantchlorophacinone. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, **6(2)**:31-38.
- LOPEZ-FORMENT W, U SCHMIDT & A M GREENHALL. 1971. Movement and population studies of the vampire bat (*Desmodus rotundus*) in Mexico. **Journal of Mammalogy**, **52**:227-228.
- LORD D. 1988. Control of vampire bats. Pp.215-226. In: GREENHALL A M & U SCHMIDT (eds.), **Natural History of Vampire Bats**. Boca Raton, CRC Press, 246p.
- LORD R D. 1992. Seasonal reproduction of vampire bats and its relation to seasonality of bovine rabies. **Journal of Wildlife Diseases**, **28**:292-294.
- LORD R D, H DELPIETRO, E FUENZALIDA, A M O DIAZ & L LAZARO. 1975a. Presence of rabies neutralizing antibodies in wild carnivores following an outbreak of bovine rabies. **Journal of Wildlife Diseases**, **11**:210-213.
- LORD R D, E FUENZALIDA, H DELPIETRO, O P LARGHI, A M O DIAZ & L LAZARO. 1975b. Observations on the epizootiology of vampiro bats. **Bulletin of Pan American Health Organization**, **9(3)**:189-195.
- LORD R D, F MURADALI & L LAZARO. 1976. Age composition of vampire (*Desmodus rotundus*) bats in northern Argentina and southern Brazil. **Journal of Mammalogy**, **57**:573-575.

- LOZA-RUBIO E, S A AGUILAR, C H BAHLOAL, B BROCHIER, P P PASTORET & N TORDO. 1999. Discrimination between epidemiological cycles of rabies in México. **Reviews Infectious Diseases**, **30**:144-149.
- MAHADEVAN M, C TSILFIDIS, L SABOURIN, L SHUTLER, C AMEMIYA, G JANSEN, C NEVILLE, J NARANG, J BARCELO, K O'HOY, S LEBLOND, J E MACDONALD, J DE JONG & B WIERINGA. 1992. Myotonic dystrophy mutation: An unstable CTG repeat in the 38 untranslated region of the gene. **Science**, **255**: 1253-1258.
- MALAGÁ-ALBA A. 1954. Vampire bat as a carrier of rabies. **American Journal of public health**, **44**:909-918.
- MARTINS F M. 2008. **Filogeografia intraespecífica do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae)**. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Biologia – Genética. 153 p.
- MARTINS F M, D MEYER, A D DITCHFIELD, & J M MORGANTE. 2007. Mitochondrial DNA phylogeography reveals marked population structure in the common vampire bat, *Desmodus rotundus* (Phyllostomidae). **Journal of Zoology, Systematics and Evolution Researchs**, **45**(4):372–378.
- MARTINS F M, A R TEMPLETON, A C O PAVAN, B C KOHLBACH & J M MORGANTE. 2009. Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance and incongruence between nuclear and mtDNA markers. **BMC Evolutionary Biology**, **9**(4):294.
- MANN C S & S AULAGNER. 1993. Biométrie crânien neetbrachiale de *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae) de Guyane Française. **Mammalia**, **57**(4):590-599.

- MAYEN F. 2003. Haematophagous bats in Brazil, their role in rabies transmission, impact on public health, livestock industry and alternatives to an indiscriminate reduction of bat population. **Journal of Veterinary Medicine**, **50**:469-472.
- MCCRACKEN G F. 1987. Genetic structure of bat social groups. Pp. 281-298. In: RACEY, P.A., FENTON, M.B. & RAYNER, J. M. (Eds). **Recent advances in the study of bats**. Cambridge. Cambridge University Press.
- McFARLAND W N & W A WIMSATT. 1969. Renal function and its relation to the ecology of the Vampire Bat, *Desmodus rotundus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, **28**:985-1006.
- MCNAB B K. 1973. Energetics and the distribution of vampires. **Journal of Mammalogy**, **54**(1):131-144.
- MESSENGER S L, C E RUPPRECHT & J S SMITH. 2003. Bats, emerging virus infections, and the rabies paradigm. Pp. 622-679. In: KUNZ T H & M B FENTON (eds.), **Bat Ecology**, Chicago, The University of Chicago Press, 779p.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2005. Surtos de raiva humana transmitida por morcegos no município de Portel-Pará. Março/Abril de 2004. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, **4**:2-5.
- MURRAY J D, E A STANLEY & D L BROWN. 1986. On the spatial spread of rabies among foxes. **Proceedings of Royal Society of London**, **229**:111-150.
- O'DONNELL W T & S T WARREN. 2002. A decade of molecular studies of fragile X syndrome. **Neurosciences**, **25**:315-338.
- OLIVEIRA E J, J G PÁDUA, M I ZUCCHI, R VENCOVSKY & M L C VIEIRA. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, **29**(2):294-307.

- OSGOOD W H. 1943. The mammals of Chile. **Field Museum of Natural History, Zoological Series, 30(1):3-268.**
- PAVLOVSKY E N. 1967. **Natural nidity of transmissible diseases in relation to landscape epidemiology of zoonthroponoses.** ed. Moscow: Peace Publishers.
- PIAGGIO A J, J J JOHNSTON, S L PERKINS & A USDA. 2008. Development of polymorphic microsatellite loco for the common vampire bat, *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Molecular Ecology Resources, 8:440–442.**
- RAY C E, O J LINARES & G S MORGAN. 1988. Paleontology. Pp. 19-30. In: GREENHALL A M & U SCCHMIDT (EDS.). **The natural history of vampire bats.** Boca Raton, CRC Press, 245p.
- RECUENCO S, M EIDSON, M KULLDORFF, G JOHNSON & B CHERRY. 2007. Spatial and temporal patterns of enzootic raccoon rabies adjusted for multiple covariate. **International Journal of Health Geographics, 6:14.** Disponível em: <http://www.ij-healthgeographics.com/content/pdf/1476-072X-6-14.pdf>. Acesso em: 12/07/2010.
- REIS N R & J L GUILLAUMET. 1983. Les chauves-souris frugivores de la région de Manaus et leur rôle dans da dissémination des espèces végétales. **Revue d' Ecologie La Terre et La Vie, 38(2):147-169.**
- ROCHA, F. A. 2005. Abrigos **Diurnos, Agrupamentos e Lesões Corporais no Morcego Hematófago *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae) do Estado de São Paulo.** Dissertação (Mestrado em Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 82p.

- SAZIMA I. 1978. Aspectos do comportamento alimentar do morcego hematófago, *Desmodus rotundus*. **Boletim de Zoologia, Universidade de São Paulo**, **3**:97-119.
- SCHMIDT C. 1988. Reproduction. Pp. 99-110. In: GREENHALL A M & U SCHMIDT (Eds.) In: **Natural history of vampire bats**. Boca Raton, CRC Press, 245p.
- SCHLÖTTERER C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromossoma 109**:365-371.
- SCHMIDT U. 1978. **Vampirfledermäuse**, Ziemsen, Wittenberg Lutherstadt, 99p.
- SCHNEIDER M C, P C ROMJIN, W UIEDA, H TAMAYO, D F DA SILVA, A BELOTTO, J B DA SILVA & L F LEANES. 2009. Rabies transmitted by vampire bats to humans: na emerging zoonotic disease in Latin America? **Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health**, **25(3)**:260-269.
- SILVA JA, E.C. MOREIRA, J P A HADDAD, C M MODENA & M A S TUBALDINI. 2001. Distribuição temporal e espacial da Raiva bovina em Minas Gerais, 1976 a 1997. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, **53(3)**:263-272.
- SIMMONS N B. 2005. Order Chiroptera. Pp. 312-529. In: WILSON, D. E. & D.M. REEDER (EDS). **Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference**. 3.ed. Baltimore, Johns Hopkins University Press.
- SODRÉ M M, A R GAMA & M F ALMEIDA. 2010. Updated list of bat species positive for rabies in Brazil. **Revista do Instituto Medicina Tropical**, **51**:75-81.
- STALLINGS R L. 1994. Distribution of trinucleotide microsatellites in different categories of mammalian genomic sequence: Implication for human genetic diseases. **Genomics**, **21**:116-121.

- STRAND M, T A PROLLA, R M LISKAY & T D PETES. 1993. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. **Nature**, **365**:274-276.
- SWANEPOEL P & H H GENOWAYS. 1979. Morphometrics. In: R J BAKER, J K JONES JR & D C CARTER (EDS) **Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae**. Part III. Special Publication of the Museum. Texas Tech University 16:13-106.
- TADDEI V A, C A GONÇALVES, W A PEDRO, W J TADDEI, I KOTAIT & C ARIETA. 1991. **Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* no Estado de São Paulo e a Raiva dos animais domésticos**. Campinas, Impresso Especial da CATI. 107 pp.
- TÓTH G, Z GÁSPARI & J JURKA. 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. **Genome Research**, **10**:967-981.
- TRAJANO E. 1996. Movements of cave bats in southeastern Brazil, with emphasis on the population ecology of the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. **Biotropica**, **28**(1):121-129.
- TRAVASSOS DA ROSA E S, I KOTAIT, T F S BARBOSA, M L CARRIERI, P E BRANDÃO, A S PINHEIRO, A L BEGOT, M Y WADA, R C OLIVEIRA, E C GRISARD, M FERREIRA, R J S LIMA, L MONTEBELLO, D B A MEDEIROS, R C M SOUZA, G BENSABATH, E H CARMO & P F C VASCONCELOS. 2006. Bat transmitted human rabies outbreaks, Brazilian Amazon. **Emerging Infectious Diseases**, **12**:1197-1202.
- UIEDA W. 1987. Morcegos hematófagos e a Raiva dos herbívoros no Brasil. **Anais do Seminário de Ciências da Faculdades Integradas de Uberaba, FIUBE**, **1**:13-29.

- UIEDA W. 1996. Biologia e dinâmica populacional de morcegos hematófagos. **Anais do II Curso de Atualização em Raiva dos Herbívoros**. Curitiba, PR, 2:63-87.
- UIEDA W. 2008. História natural dos morcegos hematófagos no Brasil. In: PACHECO S M, R V MARQUES & C E L ESBÉRARD (Org) – ainda não publicado. **Morcegos no Brasil: biologia, sistemática, ecologia e conservação**. Porto Alegre: Editora Armazém Digital. 510 p. (DVD incluso som e imagens).
- UIEDA W, N M S HARMANI & M M S SILVA. 1995. Raiva em morcegos insetívoros (Molossidae) do Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 29(5):393-397.
- UIEDA W, M M HAYASHI, L H GOMES & M M S SILVA. 1996. Espécies de quirópteros diagnosticadas com Raiva no Brasil. **Boletim do Instituto Pasteur**, 2(1):17-36.
- WALKER S M 2001. Conservation progress in Latin American. **Bats Magazine**, 19:1-13.
- WILKINSON G S. 1984. Reciprocal food sharing in the vampire bat. **Nature**, 308:181-184.
- WILKINSON G S. 1985a. The social organization of the common vampire bat. I. Pattern and cause of association. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 17:111-121.
- WILKINSON G S. 1985b. The social organization of the common vampire bat. II. Mating system, genetic structure, and relatedness. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 17:123-134.

- WILKINSON G S. 1988. Social organization and behavior. Pp. 85-97. In:  
GREENHALL, A M & U SCHIMDT (eds), **Natural history of vampire bats**. Boca  
Raton, CRC Press, 246p.
- WILKINSON G S. 1990. Food sharing in vampire bats. **Scientific American**,  
**262**(2):64-70.
- WIMSATT W A.1969. Transient behavior, nocturnal activity patterns, and feeding  
efficiency of vampire bats (*Desmodus rotundus*) under natural conditions.  
**Journal of Mammalogy**, **50**:233–244.
- WOLF W W, J K WESTBROOK, J R RAULSTON, S D PAIR & S E HOBBS. 1990. Recent  
airborne radar observations of migrant pests in the United States.  
**Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, B. Biological  
Sciences **328**:619–630.

## **CAPÍTULO 2**

### **ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO VAMPIRO COMUM *Desmodus rotundus* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) NO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA BRASILEIRA**

# ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA ESPÉCIE *Desmodus rotundus* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) COLETADOS NO ESTADO DO PARÁ, NORTE DO BRASIL

Fernanda Atanaena Gonçalves de Andrade<sup>1</sup>, Wilson Uieda<sup>2</sup> & Marcus Emanuel Barroncas Fernandes<sup>3</sup>

1 - Museu Paraense Emílio Goeldi/UFPA - Departamento Zoologia; e-mail: atanaena@yahoo.com.br

2 - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita" (UNESP) Departamento de Zoologia

3 - Universidade Federal do Pará (UFPA)/Campus de Bragança – Laboratório de Ecologia de Manguezal;

## RESUMO

O presente estudo investigou 39 marcadores fenotípicos e considerou a influência destes na segregação e distribuição geográfica do vampiro comum no Estado do Pará. Dessa forma, foram obtidas medidas de caracteres externos (n=16) e cranianos (n=23) em 644 espécimes adultos, de 72 localidades e cinco áreas do Estado. Do total de amostras foram removidos os *outliers*, resultando em um menor número de indivíduos machos (n=248) e fêmeas (n=224). O teste de Mann Whitney (*U*) demonstrou heterogeneidade entre ambos os sexos em 99,03% dos caracteres medidos, assim assegurando a importância da análise sem combinação sexual para *D. rotundus* no Pará. Os resultados da análise fatorial mostraram 11 caracteres com cargas representativas acima de 0,70, dos quais oito foram comuns a ambos os sexos. No geral, a análise discriminante entre essas variáveis foi significativa tanto para os machos ( $\lambda=0,58$ ;  $F(24,32)=2,27$ ;  $p<0,001$ ) quanto para as fêmeas ( $\lambda=0,65$ ;  $F(12,21)=3,09$ ;  $p<0,001$ ). Entretanto, alguns caracteres apresentaram contribuições mais expressivas para a distinção entre grupos. Apesar das funções discriminantes terem revelado boa precisão preditiva para machos (42%) e fêmeas (45%), apenas estas últimas apresentaram divergência significativa, segundo a análise canônica discriminante entre os grupos do Marajó e Sudoeste ( $D^2=2,47$ ;  $F=4,30$ ;  $p=0,001$ ). Baseado nesses resultados, o presente trabalho enfatiza que tal tendência observada nas fêmeas pode ser uma resposta da alta filopatria das mesmas às áreas habitadas. No entanto, para os machos seria a grande variabilidade intraespecífica já apontada por trabalhos anteriores com *D. rotundus*. Sendo assim, ainda é discutida a relevância de se separar os grupos sexuais quando da análise dos dados. Por fim, ressalta-se a pouca estruturação fenotípica regional, a qual poderia estar sinalizando para adaptações às mudanças físico-ambientais decorrentes de ações antrópicas quanto ao uso da terra, cujas consequências poderiam favorecer paulatinamente diferenças genotípicas interregionais.

**Palavras-chave:** morfometria, *Desmodus rotundus*, Raiva, Pará, Amazônia brasileira

## **MORPHOMETRIC ANALYSIS OF *Desmodus rotundus* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) FROM PARÁ STATE, NORTHERN BRAZIL**

Fernanda Atanaena Gonçalves de Andrade<sup>1</sup>, Wilson Uieda<sup>2</sup> & Marcus Emanuel Barroncas Fernandes<sup>3</sup>

1 - Museu Paraense Emílio Goeldi/UFPA - Departamento Zoologia; e-mail: atanaena@yahoo.com.br

2 - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita" (UNESP) Departamento de Zoologia

3 - Universidade Federal do Pará (UFPA)/Campus de Bragança – Laboratório de Ecologia de Manguezal;

### **ABSTRACT**

This study investigated 39 phenotypic markers, considering the influence of the factors mentioned above and the geographical distribution of the common vampire bat in Pará State, Brazil. Measurements were taken of external characteristics (n = 16) and cranial characters (n = 23) 644 specimens from five areas of the state. From the total of the samples the outliers were removed, resulting in a smaller number of male individuals (n = 248) and females (n = 224). The Mann Whitney (U) test detected heterogeneity among both sexes in 99.03% of the measured characteristics, thus ensuring the importance of sexual combining analysis in *D. rotundus* in Pará. The results of the factorial analysis showed 11 characters with significance above 0.70, of which eight were common to both sexes. Overall, the discriminant analysis between these variables was significant for males ( $\lambda = 0.58$ ,  $F(24.32) = 2.27$ ,  $p < 0.001$ ) and females ( $\lambda = 0.65$ ,  $F(12.21) = 3.09$ ,  $p < 0.001$ ). However, some characters presented more significant contributions to the differences between groups. Although the discriminant functions showed good predictive accuracy for male (42%) and females (45%), only the latter showed significant discrepancies, according to the canonical discriminant analysis, between groups from Marajó and the Southwest ( $D_2 = 2.47$ ,  $F = 4.30$ ,  $p = 0.001$ ). This work emphasizes the great intraspecific variability in *D. rotundus*, in agreement with previous work, and discusses the relevance of separate sex groups when analyzing the data. Finally, it highlights the low degree of phenotypic regional structure, which could be indicating adaptation to the physical and environmental changes resulting from human activities and land use, consequences of which could gradually promote inter-genotypic differences.

**Keywords:** morphometry, *Desmodus rotundus*, Rabies, Amazon, Pará

## INTRODUÇÃO

A espécie hematófaga *Desmodus rotundus* (É. Geoffroy Saint-Hilarie, 1810), conhecida como “morcego vampiro comum”, alimenta-se preferencialmente em mamíferos (BRASS 1994), sendo que sua nutrição tem lhe propiciado o mais alto nível trófico entre as guildas de morcegos neotropicais. Em ecossistemas naturais *D. rotundus* é uma espécie rara (BROWN 1994), encontrada tanto em regiões temperadas quanto em florestas tropicais, distribuídas desde o norte do México até o norte da Argentina (GREENHALL *et al.* 1983, KOOPMAN 1988; BREDT *et al.* 1998).

Em regiões, onde existem numerosos rebanhos de gado, como por exemplo, no sul do Brasil, *D. rotundus* tem se tornado bastante comum (TADDEI *et al.* 1991, UIEDA 1996), fato constantemente relacionado a fácil acessibilidade do alimento e a disponibilidade de abrigos para formação de colônias (FLORES-CRESPO & ARELLANO-SOTA 1991, SCHNEIDER *et al.* 2009). Conseqüentemente, *D. rotundus* tornou-se uma espécie de grande importância para o setor pecuário, bem como para pesquisa de seus aspectos biológicos (MÁLAGA-ALBA 1954, JONES & CARTER 1976, FINDLEY 1993, BRASS 1994, BROWN 1994, MARTINS 2008). Dentre as primeiras investigações encontram-se a constantes reclassificações taxonômicas.

A primeira classificação para o vampiro comum foi *Phyllostoma rotundum* (Geoffroy 1810). A partir de então foram propostos mais três sinonímias para o gênero e oito para a espécie, sendo tal dinâmica de identificação bem documentada por GREENHALL *et al.* (1983) e mais recentemente por WILSON & REEDER (2005). Entretanto, segundo KOOPMAN (1988), desde 1938 todos os nomes propostos para a espécie passaram a ser tratados como sinônimos de *D. rotundus*, com exceção de *Desmodus rotundus dorbignyi* Waterhouse 1838 (Chile

na parte central) e *Desmodus rotundus murinus* Wagner 1810 (México, Belize, Trinidad e Sul da Bacia Amazônica). Para OSGOOD (1943), *D. r. murinus* seria na verdade uma subespécie de menor tamanho, enquanto *D. r. dorbignyi* maior e de coloração conspícua. No entanto, esta última subespécie foi rejeitada na revisão de CABRERA (1958), em função da característica defendida por OSGOOD (1943) ter sido observada somente nos morcegos do leste Andino.

Na reavaliação de JONES & CARTER (1976), novamente foi mencionada a existência da subespécie *D. r. murinus* (tamanho menor, ocorrendo do México até a bacia amazônica na América do Sul), porém geograficamente distinta de *D. r. rotundus* (tamanho maior, ocorrendo do norte nos Andes ao sul da América do Sul). Contudo, é importante ressaltar que a partir dos trabalhos supracitados, uma série de dados sobre a variação morfométrica corporal e craniana do vampiro comum foi publicada (SCHMIDT 1978, SWANEPOEL & GENOWAYS 1979, MANN & AULAGNIER 1993, MARTINS 2008). Algumas publicações comprovaram o tamanho mediano dessa espécie (antebraço 52–63 mm, peso 25–40 g), bem como as maiores dimensões corpóreas das fêmeas em relação aos machos (HUSSON 1962, WILLIG 1983, BRASS 1994), muito embora, segundo GRENHALL *et al.* (1983), o dimorfismo sexual, pode por muitas vezes, ter sido mascarado em tais trabalhos.

Diante dos dados anteriores, mas baseado em novas amostras, KOOPMAN (1988) inferiu que não existiriam subespécies para *D. rotundus*, sobretudo, pela ausência de bases científicas significativas que validassem essas subespécies. Para esse autor, muitas validações em nível de subespécies seriam conseqüências da grande variação individual, bem como de certa variação geográfica e, talvez, até mesmo da existência de alguns ecótipos resultantes de heterogeneidade ambiental (clinas). MANN & AULAGNIER (1993), por sua vez,

citaram novamente como indutores do registro de subespécies para *D. rotundus*: i) a ampla variação individual, principalmente quando diante de baixa amostragem e ii) o dimorfismo sexual. Esta última hipótese foi comprovada quando comparados, por exemplo, os estudos de JONES & CARTER (1976) e SCHMIDT (1978), para os quais o efeito da análise combinada de machos e fêmeas, consumou-se nos valores morfométricos contraditórios de *D. r. murinus* e *D. r. rotundus* coletados em datas distintas, mas com a mesma origem geográfica.

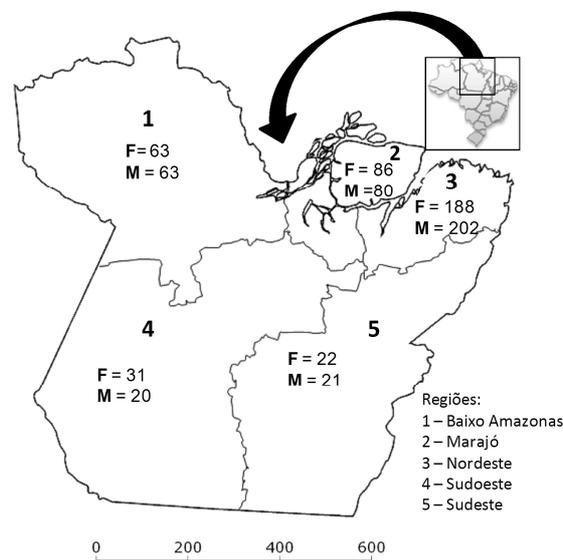
Em MARTINS (2008) a investigação morfológica das subespécies por análise combinada dos sexos, resultou na ausência de variação considerável apenas para *D. rotundus* ao oeste do Brasil, sinalizando como subespécie *murinus*. Para o mesmo autor, tal subespécie seria de grande viabilidade quanto à caracterização em termos de morfometria craniana, tornando-se relativamente distinta de *D. r. rotundus* da porção leste do Brasil. Mas, o autor também reconhece que tal morcego hematófago possui reconhecida variação morfológica ao longo de toda a sua distribuição geográfica, sendo possível que a sua variabilidade intraespecífica esteja sinalizando para as várias direções de uma diversidade fenotípica. Assim, se faz necessária uma análise mais minuciosa e, sobretudo, em escala mais regional, em ambientes como na Amazônia, onde é possível que *D. rotundus* apresente variabilidade individual, mesmo que baixa, segregando diferenças por plasticidade fenotípica.

Nesse contexto, o presente estudo pretende buscar por variações morfológicas, através da investigação de caracteres cranianos e de medidas corpóreas externas para *D. rotundus*, sem combinação sexual, em diferentes grupos geográficos do Estado do Pará. Permitindo assim, uma análise acerca da

existência de populações distintas, bem como sobre a versatilidade morfológica de uma espécie chave na transmissão do vírus da Raiva.

## MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo foram mensurados 644 indivíduos adultos de *D. rotundus*, provenientes de 72 localidades, pertencentes a cinco regiões geográficas do Estado do Pará (**Figura 1**). Os grupos geográficos foram definidos de acordo com a origem dos espécimes segundo as mesoregiões do estado: Baixo Amazonas, Marajó, Nordeste, Sudoeste e Sudeste (Anexo 1). Do total de espécimes estudados, cerca de 80% foram cedidos pelo Laboratório de Diagnóstico de Raiva, após Prova Biológica (PB) e resultado negativo para a zoonose. Tal prova foi realizada por especialistas da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB) do Instituto Evandro Chagas (IEC), em Belém-Pará.

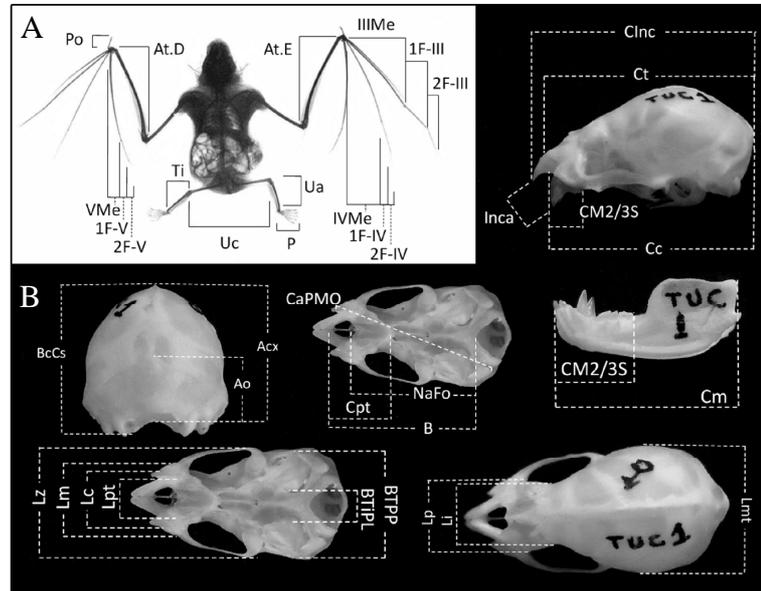


**Figura. 1** – Mapa ilustrando as cinco regiões do Estado do Pará definidas para o presente estudo, juntamente com os respectivos números amostrais de machos (M) e fêmeas (F).

As amostras foram enviadas ao IEC nos anos de 2004 e 2005, por órgãos de saúde pública do Estado, dentre estes, o Departamento de Endemias (DE), da Secretaria Executiva de Saúde Pública do Pará (SESPA) e a Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARA). Quanto aos demais exemplares de *D. rotundus*, um total de 122 indivíduos pertence a Coleção de Mastozoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi em Belém, Pará, Brasil (Anexo 1). Apenas 22 espécimes é que foram obtidas na Coelção de Zoologia de Bragança, bem como em coletas de campo realizadas em áreas do nordeste paraense (Bragança, Augusto Corrêa e Viseu) sobre autorização número 16839-1.

Foram realizadas 16 medidas externas (**Figura 2A**) e 23 crânicos (**Figura 2B**), adaptadas de VIZZOTO & TADDEI (1973) e MARTINS (2008), sendo essas: pé (**P**), antebraço esquerdo (**AtE**), antebraço direito (**AtD**), polegar esquerdo (**Po**), III metacarpo (**IIIMe**), 1ª falange do terceiro metacarpo (**1F-III**), 2ª falange do terceiro metacarpo (**2F-III**), IV metacarpo (**IVMe**), 1ª falange do quarto metacarpo (**1F-IV**), 2ª falange do quarto metacarpo (**2F-IV**), V metacarpo (**VMe**), 1ª falange do quinto metacarpo (**1F-V**), 2ª falange do quinto metacarpo (**2F-V**), tibia (**Ti**), uropatágio altura (**Ua**), uropatágio comprimento (**Uc**), comprimento total (**Ct**), comprimento cômulo-canino (**Cc**), comprimento basal (**B**), comprimento palatal (**Cpt**), comprimento da série de dentes superiores (**CM2/3S**), comprimento da série de dentes inferiores (**CM2/3I**), comprimento da mandíbula (**Cm**), Largura externa dos *cingula*-caninos (**Lc**), largura externa dos molares (**Lm**), largura interorbital (**Li**), largura posorbitária (**Lp**), largura zigomática (**Lz**), largura mastóidea (**Lmt**), largura palatal (**Lpt**), altura da caixa craniana (**Acx**), altura do occipital (**Ao**), comprimento do crânio até o incisivos (**CInc**), comprimento do canino ao processo mastóideo oposto (**CaPMO**), comprimento do nasal ao forâmen (**NaFo**), largura bula timpânica porção mais larga (**BTiPL**), largura bula timpânica na

porção mais próximas (**BTTP**) distância entre incisivo e o caninos (**Inca**) e altura da base do crânio a crista sagital (**BcCs**).



**Figura. 2** - Medidas externas (A) e cranianas (B) realizadas em espécimes de *D. rotundus* provenientes de cinco regiões do Estado do Pará, Brasil.

A retirada da estrutura craniana foi feita pela abertura bucal com o rebatimento da pele e limpeza através do uso de larvas e adultos de insetos do gênero *Dermestes* (Coleoptera, Dermestidae), no criadouro do Laboratório de Mastozoologia (UFPA/Bragança). Depois de limpos, os crânios foram clareados com água sanitária, enumerados e acondicionados em frasco identificados. Todos os crânios mensurados estão depositados na Coleção de Zoologia de Bragança (CZB), da Universidade Federal do Pará. A tabela contendo os indivíduos e suas respectivas localidades encontra-se no Anexo 1.

Em machos e fêmeas foram feitos os cálculos de média, desvio padrão e erro padrão de todos os caracteres medidos. Posteriormente, medidas com valores fora do limite padrão foram removidas, por representarem *outliers*.

Considerando-se o dimorfismo sexual, cada medida foi avaliada quanto a diferenças significativas entre as médias por meio do teste não paramétrico de Mann Whitney (*U*). Os resultados obtidos foram importantes para as análises subsequente multivariadas, a medida que são determinantes na permanência, ou não, dos dados em um único banco com combinação sexual.

A análise fatorial de ordenação exploratória possibilitou a seleção das medidas a serem retirados do total de variáveis mensuradas (MONTEIRO & REIS 1999, MINGOTI 2007). Para tanto, a associação entre as variáveis foi testada nos espécimes machos e fêmeas, pelo método de rotação ortogonal Varimax normalizado, que redistribuiu as variâncias dos primeiros fatores na busca de um padrão mais simples. Neste caso, as variáveis somente foram consideradas significativas ( $\alpha=0,05$ ) quando superiores ao valor de 0,70, dentro de um mínimo amostral de até 60 exemplares (HAIR JUNIOR *et al.* 2009). A avaliação do compartilhamento da variância de uma variável, com todas as outras variáveis (comunalidade), foi limitada a uma correlação de 0,5 com contribuição de 25% de cada caráter.

As variáveis selecionadas foram avaliadas com relação à hipótese da existência de diferenças significativas entre os valores amostrais médios para cada grupo estabelecido *a priori*. Uma Análise Canônica Discriminante foi realizada com base na Matriz de Distância de Mahalanobis (MD). Segundo HAIR JUNIOR *et al.* (2009), a MD é sensível ao tamanho amostral, devendo ser antes ajustada quanto ao número de variáveis independentes (no mínimo de cinco observações por variável) e de dependentes (à categoria de menor tamanho amostral).

Em seguida os dados foram corrigidos pela Análise Canônica Discriminante de Tamanho Livre (MAZONNI & PEREZ-NETO 1994), para que as

variações dentro do grupo tornassem a análise discriminante independente do tamanho. Segundo PEREZ-NETO (1995) e LESSA *et al.* (2005), tal método é acrescido de uma correção útil para controlar a variação de formas devido ao tamanho intrapopulacional (crescimento), maximizando-se a variação interpopulacional. De acordo com BOOKSTEIN (1982), na interpretação da diferenciação e da divergência morfológica em nível do organismo é preciso levar em conta que as medidas devem expressar alterações em estruturas homólogas em diferentes formas. Contudo, os estimadores de forma não devem discriminar a contribuição do tamanho e da forma para as diferenças encontradas entre os organismos. As análises univariadas e multivariadas utilizadas no presente estudo foram realizadas nos seguintes programas: BioEstat 5.0 (AYRES *et al.* 2005) e Statistic 5.0. (STATSOFT 2007).

## RESULTADOS

As fêmeas apresentaram médias de tamanho maiores que os machos em 37 medidas realizadas em 644 indivíduos adultos de *D. rotundus* (Anexo 2). Inicialmente, alguns dos caracteres externos e cranianos mostraram tendências convergentes em ambos os sexos, onde espécimes da mesorregião Sudeste do Pará apresentaram as menores média de tamanho em quase 20 caracteres (Anexo 2). Já as maiores médias de tamanho destacaram os machos da mesorregião do Marajó (20 medidas), e as fêmeas na mesorregião sudoeste (22 medidas). Posteriormente, diante de tais resultados, foram removidos os *outliers* e indivíduos de medidas duvidosa, observadas em cada caráter, restando às demais análises um total de 224 fêmeas e 248 machos de *D. rotundus* (Tabela 1).

A comparação entre machos e fêmeas pelo teste de Mann Whitney (*U*) detectou heterogeneidade na maioria dos 39 caracteres utilizados. No entanto,

quatro variáveis não apresentaram diferenças significativas (**Acx**,  $U=18938$ ;  $p=0,135$  – **Inca**,  $U=18798,5$ ;  $p=0,111$  – **Lp**,  $U=18410,5$ ;  $p=0,060$  e **BcCs**,  $U=18545,5$ ;  $p=0,075$ ). Em machos de *D. rotundus*, estas quatro variáveis foram excluídas após a análise de ordenação fatorial, devido à representatividade de suas cargas estarem abaixo de 0,70. Para as fêmeas a variável Acx, juntamente com BcCs, apresentaram diferenças bastante significativas e de alta comunalidade (Acx,  $h^2=0,86$ ; BcCs,  $h^2=0,88$ ).

**Tabela. 1** – Número de espécimes em ambos os sexos destinados as análises.

Grupos	Machos	Fêmeas	Total
Baixo Amazonas	36	30	66
Marajó	53	57	110
Nordeste	119	89	208
Sudeste	20	22	42
Sudoeste	20	26	46
Total	248	224	472

No geral, em machos as medidas originaram dois fatores que explicaram 68,3% da variação morfométrica total, envolvendo 10 variáveis positivamente relacionadas. Neste caso, o FATOR-1 agrupou características cranianas (**Tabela 2**). Para as fêmeas na mesma tabela, três fatores explicariam 72,8% de toda variação fenotípica acumulada, estando o FATOR-1 representado por 05 variáveis corpóreas. De fato todas as medições selecionadas pela análise fatorial, atenderam a níveis aceitáveis de explicação, tanto pelas cargas significativas, bem como pela alta comunalidade, ou seja, quantia de variância no compartilhamento com as demais medidas da análise (**Tabela 2**). Sendo assim, puderam ser aplicadas como variáveis independentes na análise discriminante, sem combinação sexual.

## Analise discriminante

No geral, para o vampiro comum, a discriminação entre a média das variáveis pelo método *stepwise* foi significativa, tanto para os machos ( $\lambda=0,58$ ;  $F(24,32)=2,27$ ;  $p<0,001$ ) quanto para as fêmeas ( $\lambda=0,65$ ;  $F(12,21)=3,09$ ;  $p<0,001$ ). Mas, alguns caracteres em cada modelo demonstraram valores de  $\lambda$  parcial, cujas contribuições foram mais expressivas para a distinção entre os grupos, sendo: CaPMo e B para as fêmeas e CaPMO, Clnc e IVMe para os machos (**Tabela 3**). Ainda sobre a análise desses caracteres, duas funções discriminantes para os machos foram significativas a 5% pelo teste do  $\chi^2$  (autovalor=0,16, Canonical R=0,38,  $\lambda=0,86$ ,  $\chi^2=12,75$ ,  $p=0,04$ ), e uma para os fêmeas a 1% (autovalor=0,38, Canonical R=0,53,  $\lambda=0,58$ ,  $\chi^2=52,12$ ,  $p=0,0007$ ).

**Tabela. 2-** Matriz de análise fatorial com conjunto reduzido de variáveis dos componentes da última rotação com VARIMAX normalizado.

Conjunto reduzido de variáveis	Machos			Fêmeas			
	Factor 1	Factor 2	h <sup>2</sup>	Factor 1	Factor 2	Factor 3	h <sup>2</sup>
Antebraço Esquerdo (AtE)	-	0,87	0,83	0,81	-	-	0,90
Antebraço Direito (AtD)	-	0,85	0,84	0,80	-	-	0,91
Terceiro Metacarpo (III Me)	-	0,77	0,66	0,77	-	-	0,68
Quarto Metacarpo (IV Me)	-	0,76	0,61	0,80	-	-	0,72
Quinto Metacarpo (V Me)	-	0,74	0,56	0,83	-	-	0,69
Comp. Total (Ct)	0,86	-	0,81	-	-	-	-
Comp. Basal (B)	0,83	-	0,69	-	0,75	-	0,62
Comp. da Mandíbula (Cm)	-	-	-	-	0,87	-	0,74
Altura da Caixa Craniana (Acx)	-	-	-	-	-	0,86	0,75
Comp. Crânio até os Incisivo (Clnc)	0,84	-	0,80	-	0,76	-	0,71
Comp. Canino ao Mastóide Oposto (Cε)	0,77	-	0,62	-	0,84	-	0,73
Comp. do Nasal ao Forâmen (NaFo)	0,71	-	0,54	-	-	-	-
Altura da base do crânio a crista sagital (BcCs)	-	-	-	-	-	0,88	0,76
Eigenvalue	4,78	2,05		4,64	2,16	1,21	
% Total variance	47,84	20,47		42,22	19,64	10,96	
Cumulative %	47,84	68,30		42,22	61,87	72,82	

h<sup>2</sup>=comunalidade

Extraction: Principal factors (communalities = multiple R-square)

Marked loadings are 0,70

**Tabela. 3** - Sumário da análise de função discriminante de 13 variáveis craniométricas de fêmeas e machos de *Desmodus rotundus* provenientes de diferentes regiões do Estado do Pará, Brasil.

Caracteres	Machos (n = 248)				Fêmeas (n = 224)			
	$\lambda$	$\lambda$ parcial	Teste F	p	$\lambda$	$\lambda$ parcial	Teste F	p
CaPMO	0,75	0,87	2,93	0,02*	0,68	0,85	3,97	0,005*
B	0,63	0,96	0,78	0,54	0,67	0,87	3,47	0,01*
III Me	0,64	0,98	0,27	0,89	0,62	0,93	1,75	0,14
CInc	0,74	0,88	2,63	0,03*	0,62	0,94	1,39	0,24
Cm	-	-	-	-	0,61	0,94	1,29	0,27
At.D	0,63	0,97	0,50	0,73	0,61	0,95	1,16	0,32
Acx	-	-	-	-	0,56	0,97	0,66	0,61
IV Me	0,74	0,88	2,62	0,04*	0,57	0,98	0,39	0,80
BcCs	-	-	-	-	0,57	0,98	0,34	0,84
V me	0,64	0,99	0,20	0,93	0,57	0,98	0,25	0,90
At.E	0,64	0,98	0,26	0,90	0,57	0,98	0,25	0,90
NaFo	0,64	0,98	0,28	0,88	-	-	-	-
Ct	0,62	0,95	0,91	0,46	-	-	-	-

$\lambda$  = Lambda de Wilks

$\lambda$  parcial = Lambda parcial de Wilks

\* Variáveis de maior poder discriminante em machos e fêmeas ( $p < 0,05$ )

Os coeficientes padronizados para variáveis canônicas dessas medidas indicam quais características contribuíram para a função discriminante, sendo que estas estão presentes na **Tabela 4**. Para fêmeas a única raiz gerada explicou 63% da variação entre as populações estudadas, onde as características que mais contribuíram foram Comprimento do Canino ao Mastóide Oposto (CaPMO) e o Comprimento Basal (B). Para os machos, as raízes 1 e 2 explicam 99% da variação, com maior contribuição do Comprimento do Crânio ao Incisivo (CInc), CaPMO e IV Metacarpo (IVMe).

Na classificação entre os grupos geográficos, a única raiz obtida para as fêmeas de *D. rotundus*, compartilhou tendências positivas entre os espécimes da porção mais ao norte do estado (Baixo Amazonas, Marajó e Nordeste), bem

como negativas entre os indivíduos do Sudeste e Sudoeste (**Tabela 5**). Além disso, o valor discriminante mais elevado foi do **Sudoeste**, indicando que as fêmeas nesta área é que tendem a maiores medidas em contraste aos limites mais ao norte. Para os machos as relações se modificam, como mostra a raiz 1, tendo o Marajó as mesmas tendências que o Sudeste, além de apresentar o maior valor discriminante (**Tabela 5**).

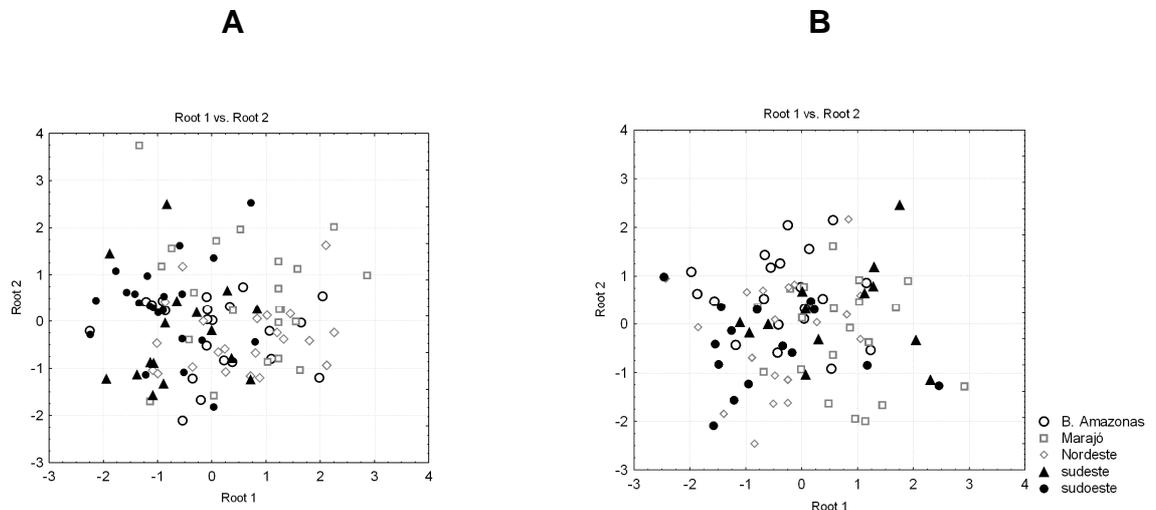
**Tabela. 4** – Coeficiente padronizado para variáveis canônicas dos caracteres avaliados que mais contribuíram para a função discriminante em fêmeas e machos.

Caracteres	Machos (n = 248)		Fêmeas (n = 224)
	Raiz 1	Raiz 2	Raiz 1
At. D	-	-	-0,01
Cm	-	-	0,05
III Me	-	-	-0,23
CInc	0,70	-0,45	0,40
CaPMO	0,66	0,69	1,04
B	-	-	-1,04
IV Me	0,40	0,91	-
Autovalores	0,31	0,16	0,38
% cumulativa	0,65	0,99	0,63

**Tabela. 5** – Médias das variáveis canônicas em machos e fêmeas de *D. rotundus* de cinco mesorregiões paraenses.

Mesorregiões	Machos (n = 248)		Fêmeas (n = 224)
	Raiz 1	Raiz 2	Raiz 1
B. Amazonas	-0,29	<b>0,62</b>	0,07
Marajó	<b>0,74</b>	-0,25	<b>0,66</b>
Sudoeste	<b>-0,62</b>	-0,47	<b>-0,84</b>
Nordeste	-0,36	-0,17	0,55
Sudeste	0,59	0,24	-0,61

Mesmo diante dos resultados da análise canônica, nos mapas territoriais de dispersão dos espécimes, não houve uma perfeita distinção de *clusters* nas categorias sexuais, apenas tendências fenotípicas, onde todos ainda permanecem em torno de um centróide (**Figura 3A e B**). Contudo, as taxas de classificação correta dos grupos geográficos de *D. rotundus*, demonstraram boa precisão preditiva geral (razão de sucesso) segundo as funções discriminantes. Tanto em os machos (42%) quanto nas fêmeas (45%), cujos grupos tinham mesmo tamanho amostral, os níveis de classificação ao acaso foram aceitáveis, devido a estar acima do cálculo estimado de 20%. A determinação deste nível é feita dividindo-se “um” pelo número de grupos (HAIR JUNIOR *et al.* 2009). Dessa maneira, as informações parecem pertinentes para interpretação, pois a precisão de classificação, segundo HAIR JUNIOR *et al.* (2009), deve ser pelo menos  $\frac{1}{4}$  da obtida ao acaso, ou seja, de 25% ( $1.25 \times 20$ ).



**Figura. 3** – Escores da função discriminante em fêmeas (A) e machos (B) de *D. rotundus* e suas respectivas mesorregiões no Pará. Símbolos vazios indicam mesorregiões mais ao norte do estado (B. Amazonas, Marajó e Nordeste), enquanto os preenchidos indicam áreas mais ao sul (Sudoeste e Sudeste).

Quanto a classificação atribuída a cada espécime, ou seja, dentro dos grupos geográficos, nos machos foi baixa a porcentagem de indivíduos que corresponderam às atribuições nordeste (20%) e sudeste (15%) - **Tabela 6**. Fato que pode ter sido influenciado, pelo número de espécimes selecionados durante a análise. Portanto, não assegurando as diferenças significativas observadas entre Sudeste/Sudoeste ( $D^2=1,95$ ;  $F=4,43$ ;  $p<0.001$ ), e alta similaridade Nordeste/Sudoeste ( $D^2=0,16$ ;  $F=0,44$ ;  $p>0.05$ ) - **Tabela 7A**. Apenas nas fêmeas de *D. rotundus* é que todos os grupos apresentaram níveis aceitáveis de precisão preditiva (**Tabela 6**), além de elevada divergência entre os indivíduos do Marajó e Sudoeste ( $D^2=2,470$ ;  $F=4,301$ ;  $p<0.001$ ) – **Tabela 7B**. Portanto, para as fêmeas corrobora quanto a tendências de formação dos grupos norte e ao sul do Pará, acompanha pela conexão entre ambas por meio da estreita relação entre o Baixo Amazonas e Sudeste.

**Tabela. 6** - Avaliação da categorização geográfica dos indivíduos adultos de ambos os sexos da espécie *D. rotundus*, por meio de Matriz de Classificação Correta da Análise Discriminante dos caracteres que mais contribuíram para essa função.

Mesorregiões	Machos		Fêmeas	
	<i>n</i>	Atribuições confirmadas (%)	<i>n</i>	Atribuições confirmadas (%)
B. Amazonas	36	65	30	32
Marajó	53	65	57	55
Nordeste	119	20	89	36
sudeste	20	15	22	44
sudoeste	20	33	26	59
Total	248	42	224	45

**Tabela. 7**– Matriz de distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) para Machos (Matriz A) e Fêmeas (Matriz B) de *D. rotundus*. As mesorregiões estão representadas por: BAM = Baixo Amazonas, MRJ = Marajó, NE = Nordeste paraense, SE = sudeste paraense e SO = Sudoeste paraense.

<b>Matriz A</b>	BAM	MRJ	NE	SE	SO	<b>Matriz B</b>	BAM	MRJ	NE	SE	SO
BAM		1,08	0,53	0,93	1,28*	BAM		1,84**	0,63	0,93	1,30*
MJ	1,08		0,88	2,29**	2,47**	MJ	1,84**		1,23**	0,28	1,89**
NE	0,53	0,88		1,77*	2,36**	NE	0,63	1,23**		1,08*	0,16
SE	0,93	2,29**	1,77*		0,81	SE	0,93	0,28	1,08*		1,95**
SO	1,28*	2,47**	2,36**	0,81		SO	1,30*	1,89**	0,16	1,95**	

\*p<0,05

\*\*p<0.01

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O presente estudo investigou a variação geográfica intraespecífica craniana e corporal de *D. rotundus* da Amazônia oriental. Análises morfométricas realizadas em outros estudos, não mostraram discriminação entre os espécimes de *D. rotundus* a nível regional (JONES & CARTER 1976, SCHMIDT 1978, SWANEPOEL & GENOWAYS 1979, MANN & AULAGNIER 1993, MARTINS 2008). É fato que a variação geográfica é um evento já observado em diversas espécies de morcegos no mundo, mesmo que relacionada a faixas bastante amplas da distribuição dos táxons, ou seja, entre ambientes distintos (YOSHINO *et al.* 2006, ARMSTRONG 2002, TADDEI & UIEDA 2001, SOLICK & BARCLAY 2006). Todavia, os dados quantitativos do presente trabalho indicaram tendências geográficas dentro de um mesmo ambiente, as mesoregiões na Amazônia. Para tanto, as análises foram embasadas sobre um alto número de variáveis (39 caracteres), elevado número de espécimes e através da ausência de combinação sexual.

Em machos e fêmeas, foram observadas divergências quanto às médias cranianas e corpóreas, onde machos tenderam a apresentar valores mais elevados dos caracteres cranianos nos indivíduos do Marajó, ao contrário do

Sudoeste. As fêmeas revelaram médias das dimensões corpóreas de maior tamanho nos espécimes no Sudoeste, e menores dimensões para as amostras do Marajó. Em ambos os sexos, os espécimes da mesorregião Sudeste foram os únicos que apresentaram os menores valores médios em cerca de 20 caracteres.

A análise discriminante destacou as variáveis cranianas como possíveis gerenciadoras de separação entre grupos. A análise canônica entre os valores amostrais médios, demonstrou que realmente nas fêmeas, a diferenciação entre grupos estaria primeiramente relacionada às medidas Comprimento Canino ao Processo Mastóideo Oposto (CaPMO), bem como ao comprimento basal (B). Quanto aos machos, o CaPMO também ajustou a primeira função discriminante, assim como o Comprimento do Crânio até os Incisivos (CInc) e o Metacarpo (IVMe), cuja tendência geográfica mais significativa para todos foi a redução de tamanho nos indivíduos do Sudoeste.

O baixo número de variáveis discriminantes separando grupos, diante de 39 caracteres, parece refletir alta colineariedade entre as mesmas, o que para HAIR JUNIOR *et al.* (2009) não é um problema, haja vista proporcionar o objetivo principal, a identificação das variáveis inter-correlacionadas. No entanto, GRAHAM (2003) já mencionava que teoricamente a colinearidade, mesmo que em pouca ocorrência, pode causar instabilidade nos menores autovalores, e conseqüentemente, afetar a matriz de covariância. O que de maneira prática comprometeria a eficiência dos métodos de previsão e classificação dos dados coletados. Segundo VIGNON (2011) há diferentes técnicas para lidar com excesso de colinearidade, dentre as quais está a redução das dimensões das variáveis por combinação linear na PCA. Entretanto, neste caso, certas características da amostragem devem ser consideradas, incluindo: a quantidade de observações por grupo que deve ser maior do que o número de variáveis (ZUUR *et al.* 2007), a

equivalência na morfologia entre forma e tamanho (LESSA *et al.* 2005) e a reduzida quantidade de dados perdidos (STRAUSS *et al.* 2003). Fatores que na maioria estão contemplado no presente estudo.

Ainda para VIGNON (2011) a PCA seria ineficiência em reduzir a multicolinearidade diante de pequenas amostras, uma vez que tende a aumentar a variância do coeficiente de regressão, além de não ser capaz de distinguir diferenças mais específicas entre e dentro dos grupos. Nesses casos, o autor propõe a aplicação de um método mais adequado o Partial Least Square (PSL). Entretanto, assim como o Vignon acredita, é difícil dizer com certeza que o desempenho deste método será sempre superior ao PCA. Para tanto, é preciso avaliar sua aplicação em diferentes táxons, incluindo vertebrados e organismos de ampla distribuição geográfica, como *D. rotundus*.

Na diferença entre os grupos de fêmeas de *D. rotundus*, a separação dos espécimes por meio de caracteres cranianos, da porção mais ao norte do estado, das encontradas mais ao sul, bem como a separação dos espécimes do Marajó e Sudoeste com relação às demais mesorregiões, confirma a tendência das fêmeas a apresentar maiores dimensões cranianas e corpóreas quando do Sudoeste do Pará. Tal disposição pode ser uma resposta a processos seletivos como, por exemplo, disponibilidade de recursos alimentares, juntamente com a alta filopatria das fêmeas, cuja ação destes seria mais evidente nos caracteres cranianos. Já quanto aos machos, a ausência de um padrão na variação geográfica seria o reflexo da grande variabilidade individual, associado ao comportamento mais disperso. O que de maneira geral poderia estar homogeneizando fenotipicamente as populações de *D. rotundus* e tornando a estruturação não significativa entre os grupos, haja vista o macho carrear todo um conjunto de haplótipos.

MARTINS (2008) já havia mencionado que os espécimes de *D. rotundus* coletados em áreas ao norte do Brasil seriam de grande viabilidade quanto a caracterização craniana, devido a ausência de variabilidade morfológica e molecular significativa. Inclusive o autor inferiu que esta seria uma subespécie de tamanho menor, restrita ao oeste do Brasil. Modelo que condiz com as evidências de ASHTON *et al.* (2000), sobre a tendência geral em mamíferos de regiões frias e mais quentes, com as populações de climas mais frios tendendo ao maior tamanho do que as que vivem em áreas mais tropicais. Mas, para morcegos também já foram observadas variações entre populações no mesmo ambiente, associadas a uma gradual diferenciação nas condições abióticas e distribuição de recursos (MYERS & WETZEL 1983, SOUZA 2011). Assim, o comportamento de forrageio, e a disponibilidade de alimentos e abrigos podem estar entre os fatores condicionantes, principalmente, nas fêmeas, de variações morfológicas nos grupos geográficos de *D. Rotundus* no Pará. O destaque para as fêmeas, talvez também se promova pelo excessivo cuidado parental, cuja filhote tem uma dependência excepcionalmente longa de 10 meses (SCHMIDT 1988).

A análise preditiva dos dados regionais revelou uma grande sobreposição de valores em ambos os sexos quanto a segregação morfológica, cuja análise discriminante resultou em níveis aceitáveis de atribuições geográficas corretas, sobretudo, para as fêmeas. Mas o grau de sucesso em atribuir um indivíduo macho a um determinado grupo geográfico, possui maior possibilidade de erro, principalmente, quando o espécime é oriundo de áreas que não sejam do Baixo Amazonas e Marajó. Portanto, os machos de *D. rotundus* coletados no Pará, não apresentam caracterização geográfica confiável, principalmente, os do lado leste paraense.

É provável que estudos adicionais, com um maior número de amostras, principalmente do sudeste e sudoeste paraense, associando às variações morfológicas e genéticas as feições ambientais, como, por exemplo, topografia, venham promover a melhor determinação do grau de segregação geográfica da população de *D. rotundus* no Estado do Pará.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMSTRONG K N. 2002. Morphometric divergence among populations of *Rhinonictus aurantius* (Chiroptera: Hipposideridae) in northern Australia. **Australian Journal of Zoology**, 50:649-669.
- ASHTON K G, M C TRACY AND A DE QUEIROZ. 2000. Is Bergmann's rule valid for mammals? **The American Naturalist**, 156:390-415.
- AYRES M, M AYRES-Jr., D L AYRES AND A S SANTOS. 2005. **BioEstat 7.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil de Mamirauá, Belém, 324 p.
- BOOKSTEIN F L. 1982. Foundations of morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 13:451-470.
- BRASS D A. 1994. **Rabies in Bats.** Natural History and Public Health Implications. Livia Press, Ridgefield, 352p.
- BRETT A, F A A ARAÚJO, J CAETANO-Jr, M G R RODRIGUES, M YOSHIKAWA, M M S SILVA, N M S HARMANI, P N T MASSUNAGA, S P BURER, V A R PORTO AND W UEDA. 1998. **Morcegos em áreas urbanas e rurais: Manual de manejo e controle.** Brasília, Fundação Nacional de Saúde, 117p.
- BROWN E B. 1994. **Vampiro: the vampire bat in fact and fantasy.** High-Lonesome Books, Silver City, 148p.

- CABRERA A. 1958. Catalogo de los mamíferos del Sur. **Revista de Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”, Ciencias Zoológicas, 4:93.**
- FINDLEY J S. 1993. **Bats: a Community Perspective. Cambridge studies in ecology.** Cambridge University Press. Cambridge,167p.
- FLORES-CRESPO R AND C ARELLANO-SOTA. 1991. Biology and control of the vampire bat. Pp. 462-474. **In: BAER G M (ed.). The natural history of rabies.** 2a. ed., Boca Raton, CRC Press.
- GRAHAM M H. 2003. Confronting multicollinearity in ecological multiple regression. **Ecology, 84:2809–2815.**
- GREENHALL A M, G JOERMANN AND U SCHMIDT. 1983. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species, 202:1–6.**
- HAIR-JR F, W C BLACK, B J BABIN, R E ANDERSON AND R E TATHAM. 2009. **Análise multivariada de dados** 6ed. Artemed, 688p.
- HUSSON A M. 1962. **Bats of Suriname.** E.J. Brill, Leiden, 281p.
- JONES J K JR AND D C CARTER. 1976. Annotated checklist with keys to subfamilies and genera. **In: BAKER R J, J K JONES JR AND D C CARTER (eds). Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part I. Special Publication of The Museum, Texas Tech University, 10:7-38.**
- KOOPMAN K F. 1988. Systematics and distribution, Pp. 7-17. **In: GREENHALL, A M AND U SCHMIDT (eds.). The natural history of vampire bats.** Boca Raton, CRC Press, 246p.
- LESSA G, P R GONÇALVES AND L M PESSOA. 2005. Variação geográfica em caracteres cranianos quantitativos de *Kerodon rupestris* (WIED, 1820) (Rodentia, Cavidae). **Arquivos do Museu Nacional, 63(1):75-88**

- MALAGÁ-ALBA A. 1954. Vampire bat as a carrier of rabies. **American Journal of Public Health**, **44**:909-918.
- MANN C S AND S AULAGNER. 1993. Biométrie crânienne et brachiale de *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae) de Guyane Française. **Mammalia**, **57**(4):590-599.
- MARTINS F M. 2008. **Filogeografia intraespecífica do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae)**. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Biologia – Genética. 153 p.
- MAZZONI R AND P R PERES-NETO. 1994. Multivariate morphometrical discrimination and pygmentary study of two specie of *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Osteichthyes, Loricariidae) from rio Paraíba do Sul, Brazil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, **37**:561-567.
- MINGOTI S A. 2007. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 297p.
- MONTEIRO L R AND S F REIS. 1999. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirão Preto, Editora Holos, 198p.
- MYERS P AND R M WETZEL. 1983. Systematics and zoogeography of the bats of the Chaco Boreal. **Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan**, **165**:1-59.
- OSGOOD W H. 1943. The mammals of Chile. **Field Museum of Natural History, Zoological Series**, **30 (1)**:3-268.
- PEREZ-NETO P R. 1995. Introdução a análises morfométricas. **Oecologia Brasiliensis**, **2**:57-89p. (Tópicos em tratamentos de dados biológicos).

- SCHMIDT U. 1978. **Vampirfledermäuse**, Ziemsen, Wittenberg Lutherstadt, 99p.
- SCHMIDT U. 1988. Reproduction. In: GRENHALL A M AND U SCHMIDT. Natural history vampire bat. CRC Press.
- SCHNEIDER M C, P C ROMJIN, W UIEDA, H TAMAYO, D F DA SILVA, A BELOTTO, J B DA SILVA & L F LEANES. 2009. Rabies transmitted by vampire bats to humans: na emerging zoonotic disease in Latin America? **Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health, 25(3):260-269.**
- SOLICK D I AND M R BARCLAY. 2006. Morphological differences among western long-eared myotis (*Myotis evotis*) populations in different environments. **Journal of Mammalogy, 87:1020-1026**
- SOUZA D A S. 2011. **Análise morfométrica de *Molossus molossus* (Chiroptera, Molossidae) ao longo de um gradiente latitudinal no Brasil.** Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Federal do rio Grande do Sul. Porto Alegre, 64p.
- STATSOFT Inc. 2007. **STATISTICA (data analysis software system)**, version 8.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- STRAUSS R E, M N ATANASSOV AND J A DE OLIVEIRA. 2003. Evaluation of the principal-component and expectation-maximization methods for estimating missing data in morphometrics studies. **Journal of Vertebrate Paleontology, 23(2):284-296.**
- SWANEPOEL P AND H H GENOWAYS. 1979. Morphometrics. In: R J BAKER, J K JONES JR AND D C CARTER (EDS). Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part III. **Special Publication of the Museum. Texas Tech University, 16:13-106.**

- TADDEI V A AND W UIEDA. 2001. Distribution and morphometrics of *Natalus stramineus* from South America (Chiroptera, Natalidae). **Iheringia, Série Zoologia**, **91**:123-132.
- TADDEI V A, C A GONÇALVES, W A PEDRO, W J TADDEI, I KOTAIT AND C ARIETA. 1991. **Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* no Estado de São Paulo e a Raiva dos animais domésticos**. Campinas, Impresso Especial da CATI. 107 pp.
- UIEDA W. 1996. Biologia e dinâmica populacional de morcegos hematófagos. **Anais do II Curso de Atualização em Raiva dos Herbívoros**. Curitiba, PR, **2**:63-87.
- VIGNON M. 2011. Inference in morphological taxonomy using collinear data and small sample sizes: Momogenean sclerites (Platyhelminthes) as a case study. **Zoologica Scripta**, **40**(3):306-316.
- VIZOTTO L D AND V A TADDEI. 1973. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. **Revista da faculdade de filosofia, ciências e Letras de São José do Rio Preto, Boletim de Ciências**, **1**:1-72.
- WILLIG M R. 1983. Composition microgeographic variation, and sexual dimorphism in Caatingas and Cerrado bat communities from northeastern Brazil. **Bulletin of Carnegie Museum of Natural History**, **23**:1-131.
- WILSON D E AND D M REEDER (Eds). 2005. **Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference**. 3.ed. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 529p.
- YOSHINO H S, S MATSUMURA, K KINJO, H TAMURA, H OTA AND M IZAWA. 2006. Geographical variation in echolocation call and body size of the okinawan least horseshoe bat, *Rhinolophus pumilus* (Mammalia: Rhinolophidae), on

Okinawa-jima Island, Ryukyu archipelago, Japan. **Zoological Science**,  
**23**:661-667.

ZUUR A F, E N LENO AND G M SMITH (EDS). 2007. Introduction to discriminant  
analysis. **In: Analysing Ecological Data**. New York, Springe, pp 245-258.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Listagem de espécimes de *D. rotundus* com descrição do número de campo, sexo, localidade e mesoregião utilizados na morfometria.

AMOSTRA	SEXO	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO
410	F	Abaetetuba	Nordeste
1100	M	Abaetetuba	Nordeste
1114	M	Abaetetuba	Nordeste
1140	F	Abaetetuba	Nordeste
1153	F	Abaetetuba	Nordeste
1163	F	Abaetetuba	Nordeste
1197	F	Abaetetuba	Nordeste
1223	F	Abaetetuba	Nordeste
1249	M	Abaetetuba	Nordeste
1265	F	Abaetetuba	Nordeste
27	M	Acará	Nordeste
39	M	Acará	Nordeste
1033	F	Acará	Nordeste
1067	M	Acará	Nordeste
33	F	Afuá	Marajó
159	F	Afuá	Marajó
165	M	Afuá	Marajó
182	M	Afuá	Marajó
194	M	Afuá	Marajó
195	M	Afuá	Marajó
202	M	Afuá	Marajó
459	M	Afuá	Marajó
501	M	Afuá	Marajó
592	M	Afuá	Marajó
610	F	Afuá	Marajó
614	M	Afuá	Marajó
893	F	Afuá	Marajó
1025	M	Afuá	Marajó
1070	M	Afuá	Marajó
1149	M	Afuá	Marajó
1167	M	Afuá	Marajó
442	F	Alenquer	Baixo Amazonas
453	F	Alenquer	Baixo Amazonas
1311	F	Alenquer	Baixo Amazonas
1333	F	Alenquer	Baixo Amazonas
494	F	Almeirim	Baixo Amazonas
1022	M	Almeirim	Baixo Amazonas
1073	M	Almeirim	Baixo Amazonas
1079	F	Almeirim	Baixo Amazonas
18	M	Almeirim	Baixo Amazonas
111	F	Almeirim	Baixo Amazonas
166	F	Almeirim	Baixo Amazonas
128	M	Altamira	Sudoeste

1160	F	Altamira	Sudoeste
1165	F	Altamira	Sudoeste
MPEG3520	M	Altamira	Sudoeste
MPEG3521	M	Altamira	Sudoeste
1104	F	Anajás	Marajó
1201	F	Anajás	Marajó
1208	F	Anajás	Marajó
1335	F	Anajás	Marajó
19	F	Anapú	Sudoeste
32	F	Anapú	Sudoeste
473	F	Anapú	Sudoeste
947	M	Anapú	Sudoeste
1298	M	Anapú	Sudoeste
1308	M	Anapú	Sudoeste
10	M	Augusto Corrêa	Nordeste
11	F	Augusto Corrêa	Nordeste
52	F	Augusto Corrêa	Nordeste
123	M	Augusto Corrêa	Nordeste
175	M	Augusto Corrêa	Nordeste
1048	M	Augusto Corrêa	Nordeste
1225	M	Augusto Corrêa	Nordeste
4	F	Augusto Corrêa	Nordeste
121	F	Bagre	Marajó
139	F	Bagre	Marajó
156	F	Bagre	Marajó
163	F	Bagre	Marajó
176	M	Bagre	Marajó
198	M	Bagre	Marajó
389	F	Bagre	Marajó
397	M	Bagre	Marajó
406	M	Bagre	Marajó
417	M	Bagre	Marajó
419	M	Bagre	Marajó
601	F	Bagre	Marajó
658	M	Bagre	Marajó
949	M	Bagre	Marajó
968	F	Bagre	Marajó
985	M	Bagre	Marajó
995	F	Bagre	Marajó
996	M	Bagre	Marajó
999	M	Bagre	Marajó
1012	F	Bagre	Marajó
1031	F	Bagre	Marajó
1041	M	Bagre	Marajó
1059	F	Bagre	Marajó
1060	F	Bagre	Marajó

1102	F	Bagre	Marajó
1103	F	Bagre	Marajó
1116	M	Bagre	Marajó
1131	M	Bagre	Marajó
1155	F	Bagre	Marajó
129	M	Baião	Nordeste
189	M	Baião	Nordeste
451	F	Baião	Nordeste
655	F	Baião	Nordeste
881	F	Baião	Nordeste
882	F	Baião	Nordeste
925	F	Baião	Nordeste
933	F	Baião	Nordeste
1139	F	Baião	Nordeste
1154	F	Baião	Nordeste
1184	F	Baião	Nordeste
1236	F	Baião	Nordeste
1242	F	Baião	Nordeste
1248	M	Baião	Nordeste
1251	F	Baião	Nordeste
1264	F	Baião	Nordeste
1330	F	Baião	Nordeste
M368	F	Barcarena	Metropolitana
1093	F	Belterra	Baixo Amazonas
487	F	Bonito	Nordeste
146	F	Bragança	Nordeste
394	F	Bragança	Nordeste
662	M	Bragança	Nordeste
982	M	Bragança	Nordeste
478	F	Brasil Novo	Sudoeste
1148	M	Brasil Novo	Sudoeste
1327	F	Brasil Novo	Sudoeste
R321-1003	F	Breu branco	Sudeste
16	F	Breves	Marajó
24	F	Breves	Marajó
28	M	Breves	Marajó
41	M	Breves	Marajó
119	F	Breves	Marajó
126	M	Breves	Marajó
144	F	Breves	Marajó
149	M	Breves	Marajó
177	M	Breves	Marajó
179	F	Breves	Marajó
197	M	Breves	Marajó
380	M	Breves	Marajó
387	M	Breves	Marajó

409	F	Breves	Marajó
412	F	Breves	Marajó
414	F	Breves	Marajó
422	F	Breves	Marajó
426	F	Breves	Marajó
428	F	Breves	Marajó
431	F	Breves	Marajó
471	F	Breves	Marajó
477	F	Breves	Marajó
498	F	Breves	Marajó
514	F	Breves	Marajó
527	M	Breves	Marajó
616	M	Breves	Marajó
617	F	Breves	Marajó
632	F	Breves	Marajó
634	F	Breves	Marajó
883	F	Breves	Marajó
891	F	Breves	Marajó
906	M	Breves	Marajó
1199	M	Breves	Marajó
1212	M	Breves	Marajó
1233	M	Breves	Marajó
1245	M	Breves	Marajó
1278	M	Breves	Marajó
1301	M	Breves	Marajó
1303	M	Breves	Marajó
1310	F	Breves	Marajó
1319	F	Breves	Marajó
1321	M	Breves	Marajó
1323	M	Breves	Marajó
385	M	Cametá	Marajó
12	F	Cametá	Nordeste
14	F	Cametá	Nordeste
15	F	Cametá	Nordeste
45	F	Cametá	Nordeste
105	M	Cametá	Nordeste
132	M	Cametá	Nordeste
153	M	Cametá	Nordeste
161	M	Cametá	Nordeste
169	F	Cametá	Nordeste
178	M	Cametá	Nordeste
188	F	Cametá	Nordeste
201	F	Cametá	Nordeste
372	F	Cametá	Nordeste
374	F	Cametá	Nordeste
376	F	Cametá	Nordeste

377	F	Cametá	Nordeste
381	F	Cametá	Nordeste
386	F	Cametá	Nordeste
398	M	Cametá	Nordeste
416	F	Cametá	Nordeste
427	F	Cametá	Nordeste
430	F	Cametá	Nordeste
633	F	Cametá	Nordeste
656	M	Cametá	Nordeste
885	M	Cametá	Nordeste
892	F	Cametá	Nordeste
894	M	Cametá	Nordeste
903	F	Cametá	Nordeste
972	F	Cametá	Nordeste
1042	M	Cametá	Nordeste
1050	M	Cametá	Nordeste
1064	F	Cametá	Nordeste
1275	F	Cametá	Nordeste
1291	F	Cametá	Nordeste
R369	M	Cametá	Nordeste
931	F	Capanema	Nordeste
941	F	Capanema	Nordeste
1002	F	Capanema	Nordeste
1044	M	Capanema	Nordeste
1049	M	Capanema	Nordeste
1161	F	Capanema	Nordeste
1186	F	Capanema	Nordeste
1194	M	Capanema	Nordeste
1235	F	Capanema	Nordeste
1255	F	Capanema	Nordeste
1151	M	Colares	Nordeste
1195	M	Colares	Nordeste
589	F	Conceição do Araguaia	Sudeste
1096	M	Concórdia do Pará	Nordeste
1159	M	Concórdia do Pará	Nordeste
1220	F	Concórdia do Pará	Nordeste
1085	F	Curralinho	Marajó
1158	F	Curralinho	Marajó
1260	F	Curralinho	Marajó
154	M	Curuça	Nordeste
171	M	Curuça	Nordeste
186	M	Curuça	Nordeste
196	F	Curuça	Nordeste
1150	M	Curuça	Nordeste
1224	M	Curuça	Nordeste
404	F	Gurupá	Marajó

603	M	Gurupá	Marajó
611	F	Gurupá	Marajó
896	M	Gurupá	Marajó
963	F	Gurupá	Marajó
1141	F	Gurupá	Marajó
1190	M	Gurupá	Marajó
1202	M	Gurupá	Marajó
1231	M	Gurupá	Marajó
1261	F	Gurupá	Marajó
1295	M	Gurupá	Marajó
643	F	Igarapé-Açu	Nordeste
446	F	Irituia	Nordeste
924	M	Irituia	Nordeste
FA 333	F	Itaituba	Sudoeste
FA 334	F	Itaituba	Sudoeste
FA 335	M	Itaituba	Sudoeste
FA 336	F	Itaituba	Sudoeste
FA 337	F	Itaituba	Sudoeste
FA 338	F	Itaituba	Sudoeste
FA 339	M	Itaituba	Sudoeste
FA 340	F	Itaituba	Sudoeste
FA 341	F	Itaituba	Sudoeste
FA 342	F	Itaituba	Sudoeste
FA 343	M	Itaituba	Sudoeste
FA 344	M	Itaituba	Sudoeste
FA 345	M	Itaituba	Sudoeste
FA 347	F	Itaituba	Sudoeste
FA 348	F	Itaituba	Sudoeste
FA 349	F	Itaituba	Sudoeste
FA 350	F	Itaituba	Sudoeste
FA 351	M	Itaituba	Sudoeste
FA 352	M	Itaituba	Sudoeste
FA 353	F	Itaituba	Sudoeste
FA 354	F	Itaituba	Sudoeste
FA 355	F	Itaituba	Sudoeste
FA 356	M	Itaituba	Sudoeste
FA 357	F	Itaituba	Sudoeste
FA 358	F	Itaituba	Sudoeste
FA 359	F	Itaituba	Sudoeste
FA 360	F	Itaituba	Sudoeste
FA 361	F	Itaituba	Sudoeste
FA 362	F	Itaituba	Sudoeste
FA 363	F	Itaituba	Sudoeste
FA 364	M	Itaituba	Sudoeste
FA 365	F	Itaituba	Sudoeste
FA 325	F	Jacareacanga	Sudoeste

FA 326	M	Jacareacanga	Sudoeste
FA 327	M	Jacareacanga	Sudoeste
FA 328	F	Jacareacanga	Sudoeste
FA 329	F	Jacareacanga	Sudoeste
FA 330	M	Jacareacanga	Sudoeste
FA 331	M	Jacareacanga	Sudoeste
FA 332	M	Jacareacanga	Sudoeste
597	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
602	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
615	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
623	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
627	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
628	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
629	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
640	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
650	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
654	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
669	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
884	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
888	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
890	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
899	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
901	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
904	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
907	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
908	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
910	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
911	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
913	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
915	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
916	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
917	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
918	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
920	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
923	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
926	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
929	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
930	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
935	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
936	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
965	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
971	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
994	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
997	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1018	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1019	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste

1026	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1039	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1051	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1052	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1062	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1063	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1069	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1071	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1077	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1086	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1110	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1112	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1135	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1138	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1142	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1171	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1175	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1177	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1193	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1227	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1234	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1238	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1271	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1274	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1276	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1277	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1283	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1285	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1286	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1288	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1290	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1296	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1307	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1314	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1316	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1320	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1322	F	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1324	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1325	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
1334	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
5	M	Limoeiro do Ajurú	Nordeste
184	F	Maracanã	Nordeste
1237	F	Marapanim	Nordeste
371	F	Melgaço	Marajó
604	M	Melgaço	Marajó
660	M	Melgaço	Marajó

1030	M	Melgaço	Marajó
1040	F	Melgaço	Marajó
1168	F	Melgaço	Marajó
106	M	Muaná	Marajó
1157	F	Muaná	Marajó
1180	M	Muaná	Marajó
1294	F	Muaná	Marajó
1300	F	Muaná	Marajó
1304	M	Muaná	Marajó
1313	F	Muaná	Marajó
1315	F	Muaná	Marajó
1331	F	Muaná	Marajó
1336	F	Muaná	Marajó
983	F	Nova Timboteua	Nordeste
1053	M	Nova Timboteua	Nordeste
379	F	Óbidos	Baixo Amazonas
495	F	Óbidos	Baixo Amazonas
1054	M	Óbidos	Baixo Amazonas
1259	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R151-974	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R152-975	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R153-976	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R157-980	M	Óbidos	Baixo Amazonas
R159-982	M	Óbidos	Baixo Amazonas
R155-978	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R154-977	M	Óbidos	Baixo Amazonas
R205-962	M	Óbidos	Baixo Amazonas
R158-981	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R163-985	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R156-979	F	Óbidos	Baixo Amazonas
R149-972	M	Óbidos	Baixo Amazonas
R164-986	F	Óbidos	Baixo Amazonas
902	M	Oeiras do Pará	Nordeste
939	M	Oeiras do Pará	Nordeste
940	M	Oeiras do Pará	Nordeste
952	M	Oeiras do Pará	Nordeste
955	M	Oeiras do Pará	Nordeste
986	F	Oeiras do Pará	Nordeste
998	M	Oeiras do Pará	Nordeste
1006	M	Oeiras do Pará	Nordeste
1034	M	Oeiras do Pará	Nordeste
1081	M	Oeiras do Pará	Nordeste
441	F	Oriximiná	Baixo Amazonas
469	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
475	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
483	M	Oriximiná	Baixo Amazonas

505	F	Oriximiná	Baixo Amazonas
517	F	Oriximiná	Baixo Amazonas
524	F	Oriximiná	Baixo Amazonas
626	F	Oriximiná	Baixo Amazonas
886	F	Oriximiná	Baixo Amazonas
1016	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
1046	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD72	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD61	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD70	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD62	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD64	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD63	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
MD60	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
25	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
51	M	Oriximiná	Baixo Amazonas
20	M	Oueiras do Pará	Nordeste
147	M	Ourém	Nordeste
635	F	Ourém	Nordeste
943	M	Ourém	Nordeste
1017	M	Ourém	Nordeste
136	M	Ouilândia do Norte	Sudeste
157	M	Ouilândia do Norte	Sudeste
481	M	Ouilândia do Norte	Sudeste
491	M	Ouilândia do Norte	Sudeste
510	M	Ouilândia do Norte	Sudeste
1312	M	Ouilândia do Norte	Sudeste
670	F	Pacajá	Sudoeste
164	F	Parauapebas	Sudeste
140	F	Ponta de Pedras	Marajó
167	F	Ponta de Pedras	Marajó
497	F	Ponta de Pedras	Marajó
613	M	Ponta de Pedras	Marajó
644	M	Ponta de Pedras	Marajó
661	M	Ponta de Pedras	Marajó
148	M	Portel	Marajó
152	M	Portel	Marajó
403	M	Portel	Marajó
408	M	Portel	Marajó
429	F	Portel	Marajó
444	F	Portel	Marajó
445	F	Portel	Marajó
458	F	Portel	Marajó
466	F	Portel	Marajó
620	M	Portel	Marajó
649	F	Portel	Marajó

653	F	Portel	Marajó
962	M	Portel	Marajó
970	M	Portel	Marajó
1000	M	Portel	Marajó
1008	M	Portel	Marajó
1013	M	Portel	Marajó
1015	M	Portel	Marajó
1024	F	Portel	Marajó
1038	F	Portel	Marajó
1092	F	Portel	Marajó
1095	M	Portel	Marajó
1166	M	Portel	Marajó
1170	F	Portel	Marajó
1187	F	Portel	Marajó
1228	F	Portel	Marajó
1240	M	Portel	Marajó
1246	F	Portel	Marajó
1250	F	Portel	Marajó
1280	F	Portel	Marajó
1091	F	Porto de Moz	Baixo Amazonas
1136	F	Porto de Moz	Baixo Amazonas
1174	M	Porto de Moz	Baixo Amazonas
1209	F	Porto de Moz	Baixo Amazonas
1215	M	Porto de Moz	Baixo Amazonas
1232	M	Porto de Moz	Baixo Amazonas
1279	F	Porto de Moz	Baixo Amazonas
479	F	Prainha	Baixo Amazonas
609	M	Prainha	Baixo Amazonas
452	M	Quatipuru	Nordeste
1043	F	Quatipuru	Nordeste
1047	M	Quatipuru	Nordeste
1065	M	Quatipuru	Nordeste
646	F	Redenção	Sudeste
659	F	Redenção	Sudeste
1292	M	Redenção	Sudeste
FA 366	M	Redenção	Sudoeste
FA 367	M	Redenção	Sudoeste
FA 368	F	Redenção	Sudoeste
FA 369	F	Redenção	Sudoeste
FA 371	F	Redenção	Sudoeste
FA 372	M	Redenção	Sudoeste
FA 374	F	Redenção	Sudoeste
FA 376	F	Redenção	Sudoeste
1089	F	Salinópolis	Nordeste
43	F	Santa Luzia do Pará	Nordeste
468	F	Santa Maria das Barreiras	Sudeste

23	F	Santarém	Baixo Amazonas
612	F	Santarém	Baixo Amazonas
957	F	Santarém	Baixo Amazonas
981	F	Santarém	Baixo Amazonas
1029	F	Santarém	Baixo Amazonas
1036	F	Santarém	Baixo Amazonas
1127	F	Santarém	Baixo Amazonas
1128	F	Santarém	Baixo Amazonas
1137	F	Santarém	Baixo Amazonas
1176	F	Santarém	Baixo Amazonas
1192	F	Santarém	Baixo Amazonas
1203	M	Santarém	Baixo Amazonas
1263	F	Santarém	Baixo Amazonas
1317	M	Santarém	Baixo Amazonas
1326	F	Santarém	Baixo Amazonas
1328	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4791	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4788	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4836	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4832	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4814	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4834	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4839	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4790	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4854	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4889	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4838	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4822	-	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4845	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4815	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4798	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4782	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4779	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4784	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG5021	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4898	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4890	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG20257	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG20258	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG20256	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG20254	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4909	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4907	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4892	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4906	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG20259	F	Santarém	Baixo Amazonas

MPEG20253	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4899	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4900	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4901	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4871	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4888	F	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4855	M	Santarém	Baixo Amazonas
MPEG4783	M	Santarém	Baixo Amazonas
R118-1025	M	Santarém	Baixo Amazonas
M114	M	Santarém	Baixo Amazonas
R113-1021	M	Santarém	Baixo Amazonas
R116-1027	M	Santarém	Baixo Amazonas
R117-1024	M	Santarém	Baixo Amazonas
R126-931	M	Santarém	Baixo Amazonas
R115-1023	F	Santarém	Baixo Amazonas
R102-947	M	Santarém	Baixo Amazonas
R106-943	M	Santarém	Baixo Amazonas
R121-1030	M	Santarém	Baixo Amazonas
R120-1029	M	Santarém	Baixo Amazonas
R105-1016	M	Santarém	Baixo Amazonas
R114-1022	M	Santarém	Baixo Amazonas
R119-1028	M	Santarém	Baixo Amazonas
1306	F	São Domingos do Capim	Nordeste
1299	M	São Felix do Xingu	Sudeste
31	M	São Francisco do Pará	Nordeste
150	F	São Francisco do Pará	Nordeste
956	M	São Francisco do Pará	Nordeste
973	F	São Francisco do Pará	Nordeste
975	F	São Francisco do Pará	Nordeste
1213	F	São Francisco do Pará	Nordeste
1217	F	São Francisco do Pará	Nordeste
1256	F	São Francisco do Pará	Nordeste
1338	F	São Francisco do Pará	Nordeste
978	F	São João da Ponta	Nordeste
992	F	São João da Ponta	Nordeste
946	M	São João de Pirabas	Nordeste
961	F	São João de Pirabas	Nordeste
1037	F	São João de Pirabas	Nordeste
120	M	São Sebastião da Boa Vista	Marajó
127	F	São Sebastião da Boa Vista	Marajó
1088	F	São Sebastião da Boa Vista	Marajó
1106	F	São Sebastião da Boa Vista	Marajó
1111	M	São Sebastião da Boa Vista	Marajó
1121	F	Senador José Porfírio	Sudeste
116	F	Senador José Porfírio	Sudoeste
467	F	Senador José Porfírio	Sudoeste

480	M	Senador José Porfírio	Sudoeste
506	M	Senador José Porfírio	Sudoeste
521	M	Senador José Porfírio	Sudoeste
593	F	Senador José Porfírio	Sudoeste
1318	M	Soure	Marajó
1252	F	Terra Alta	Nordeste
1214	M	Terra Santa	Baixo Amazonas
960	M	Tomé-Açu	Nordeste
1058	F	Tomé-Açu	Nordeste
1078	F	Tomé-Açu	Nordeste
1083	M	Tomé-Açu	Nordeste
1094	F	Tomé-Açu	Nordeste
1097	F	Tomé-Açu	Nordeste
1101	F	Tomé-Açu	Nordeste
1133	F	Tomé-Açu	Nordeste
1178	F	Tomé-Açu	Nordeste
1188	F	Tomé-Açu	Nordeste
1189	F	Tomé-Açu	Nordeste
49	M	Tracuateua	Nordeste
113	M	Tracuateua	Nordeste
131	M	Tracuateua	Nordeste
174	F	Tracuateua	Nordeste
200	M	Tracuateua	Nordeste
665	M	Tracuateua	Nordeste
934	M	Tracuateua	Nordeste
1011	M	Tracuateua	Nordeste
638	F	Tucuruí	Sudeste
1244	F	Tucuruí	Sudeste
TUC 01	M	Tucuruí	Sudeste
TUC 02	M	Tucuruí	Sudeste
TUC 03	F	Tucuruí	Sudeste
TUC 04	M	Tucuruí	Sudeste
TUC 05	F	Tucuruí	Sudeste
TUC 06	M	Tucuruí	Sudeste
TUC 07	M	Tucuruí	Sudeste
108	F	Uruará	Sudoeste
954	M	Vigia de Nazaré	Nordeste
976	M	Vigia de Nazaré	Nordeste
980	M	Vigia de Nazaré	Nordeste
388	M	Viseu	Nordeste
424	F	Viseu	Nordeste
1001	M	Viseu	Nordeste
1057	M	Viseu	Nordeste
1134	M	Viseu	Nordeste
1147	M	Viseu	Nordeste
1229	F	Viseu	Nordeste

1254	M	Viseu	Nordeste
1262	M	Viseu	Nordeste
1297	F	Viseu	Nordeste

**Anexo 2.** Tabelas contendo os valores médios de 39 caracteres cranianos e corpóreos, mensurados em fêmeas e machos no Pará. Destacando-se os valores mais altos (sombreado em cinza claro) e os mais baixos (cinza escuro com valores em cor branca), entre as mesorregiões.

Caracteres/ regiões	FÊMEAS				
	B. Amazonas	Marajó	Nordeste	Sudeste	Sudoeste
Pé	14.05	12.56	12.87	12.18	12.30
Antebraço esquerdo	60.36	59.96	60.00	60.55	60.95
Antebraço direito	60.30	60.10	60.17	60.64	60.92
Polegar	15.61	14.50	14.75	14.33	14.89
Terceiro metacarpo	50.56	50.84	50.42	51.44	51.73
1ª Falange III	10.68	10.56	10.47	10.64	10.77
2ª Falange III	17.00	17.29	16.88	17.29	17.22
Quarto metacarpo	50.11	49.89	49.61	50.01	51.27
1ª Falange IV	9.99	9.73	9.66	9.71	10.08
2ª Falange IV	15.41	15.35	14.99	15.38	15.69
Quinto metacarpo	48.98	48.68	48.48	48.92	49.45
1ª Falange V	10.18	9.94	9.92	10.00	10.39
2ª Falange V	13.96	14.22	13.81	14.18	14.52
Tíbia	28.16	28.35	27.92	28.18	28.82
Uropatágio Altura	8.27	9.78	9.01	8.52	8.82
Uropatágio comprimento	40.26	39.47	40.25	39.85	39.66
Comprimento total	23.60	23.74	23.79	23.66	23.82
Comp. côndilo canônico	18.69	18.74	18.66	18.71	19.23
Comprimento basal	16.01	16.14	16.11	16.06	16.24
Comprimento palatal	6.53	6.50	6.41	6.35	6.52
Comp. série de dentes superiores	3.29	3.30	3.33	3.17	3.30
Comp. série de dentes inferiores	6.15	6.17	6.20	6.12	6.12
Comprimento da mandíbula	14.45	14.49	14.51	14.33	14.55
Lar. Externa do cingula-caninos	5.88	5.92	5.95	5.87	5.94
Largura externa dos molares	6.36	6.53	6.53	6.37	6.68
Largura interorbital	6.21	6.26	6.27	6.20	6.29
Largura posorbitária	5.33	5.33	5.35	5.28	5.38
Largura zigomática	11.92	11.95	11.98	11.90	12.01
Largura mastóidea	12.29	12.40	12.36	12.22	12.31
Largura palatal	4.86	4.86	4.90	4.86	4.84
Altura da caixa craniana	11.21	11.26	11.30	11.22	11.29
Altura do occipital	8.40	8.31	8.35	8.50	8.57
Comp. caninos até os incisivos	24.61	24.73	24.79	24.54	24.80
Comp. canino ao mastóideo oposto	19.23	19.36	19.32	19.12	19.22
Comp. do nasal ao forâmen	14.04	14.14	14.24	14.13	14.23
Larg. B. Timpânica porção larga	10.74	10.78	10.72	10.65	10.76
Larg. B. Timpânica porção estreita	4.12	4.09	4.13	4.05	4.16
Dist. Incisivo ao canino	3.61	3.65	3.70	3.64	3.67
Alt. base craniana a crista sagital	11.79	11.77	11.81	11.71	11.76

Caracteres/ regiões	MACHOS				
	B. Amazonas	Marajó	Nordeste	Sudeste	Sudoeste
P	12.97	12.24	12.42	11.50	12.21
AtE	56.28	56.39	56.33	55.54	56.72
AtD	56.29	56.43	56.46	55.65	56.86
Po	14.52	13.82	13.89	13.60	13.77
III Me	47.64	47.90	48.00	47.24	48.17
1F-III	10.00	10.06	9.92	9.86	10.10
2F-III	16.46	16.82	15.97	15.83	16.42
IV Me	47.13	47.17	46.94	46.60	47.04
1F-IV	9.36	9.14	9.10	9.20	9.40
2F-IV	14.49	14.82	14.16	14.58	14.77
V me	45.81	45.62	45.63	44.73	45.95
1F-V	9.55	9.42	9.35	9.27	9.70
2F-V	13.42	13.45	12.97	13.18	13.73
Ti	26.57	26.69	26.64	25.97	26.87
Ua	7.98	9.48	8.33	6.99	9.13
Uc	36.77	38.37	37.89	36.65	37.83
Ct	23.26	23.53	23.52	23.12	23.45
Cc	17.98	18.61	18.45	18.68	18.69
B	15.78	15.90	15.87	15.54	15.82
Cpt	6.35	6.35	6.32	6.05	6.25
CM2/3S	3.34	3.35	3.36	3.38	3.32
CM2/3I	6.06	6.13	6.13	6.04	6.04
Cm	14.25	14.39	14.30	14.11	14.16
Lc	5.91	5.82	5.89	5.67	5.78
Lm	6.33	6.38	6.46	6.25	6.49
Li	6.23	6.28	6.21	6.11	6.13
Lp	5.24	5.41	5.34	5.19	5.21
Lz	11.89	11.93	11.89	11.57	11.81
Lmt	12.25	12.20	12.21	12.04	12.11
Lpt	4.81	4.77	4.81	4.67	4.75
Acx	11.18	11.32	11.29	10.87	11.16
Ao	8.07	8.25	8.22	8.20	8.43
CInc	24.23	24.50	24.48	24.17	24.28
CaPMO	19.04	19.14	19.11	18.93	18.93
CNaFo	13.90	14.05	14.04	13.76	14.02
BTiPL	10.62	10.56	10.55	10.35	10.55
BTTPP	4.18	3.98	4.04	3.92	3.96
InCa	3.72	3.73	3.70	3.58	3.59
BcSc	11.70	11.86	11.78	11.43	11.65

### **CAPÍTULO 3**

**VARIABILIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL EM *Desmodus rotundus* (CHIROPTERA, PHYLLOSTOMIDAE) NO ESTADO DO PARÁ,  
AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA**

Corresponding author: *Fernanda Andrade, Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança, Alameda Leandro Ribeiro, s/n 68600-000, Bragança, Pará, Brasil: E-mail: atanena@yahoo.com.br*

*Eduardo Sousa Varela, EMBRAPA Pesca e Aquicultura, 103 S – I, Avenida JK, nº 164, 77015012, Palmas, Tocantins, Brasil: E-mail: eduardo.varela@embrapa.br*

*Marcus Fernandes, Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança, Alameda Leandro Ribeiro, s/n 68600-000, Bragança, Pará, Brasil: E-mail: mebf@ufpa.br*

**Variabilidade genética e estrutura populacional em *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae) no estado do Pará, Amazônia oriental**

Fernanda Andrade, Eduardo Varela, Wilson Uieda, Iracilda Sampaio & Marcus Fernandes

Diversidade genética do vampiro comum na Amazônia  
Andrade. *et al.*

## RESUMO

Andrade, F., Varela, E., Uieda W., Sampaio I. & Fernandes, M. Variabilidade genética e estrutura populacional de vampiro comum (Chiroptera, Phyllostomidae) no estado do Pará, Amazônia oriental. *Zoologica Scripta*, 00, 000-000.

O presente estudo objetivou investigar parâmetros genéticos populacionais em *Desmodus rotundus*, utilizando-se de dez locos microssatélites e 236 amostras da espécie. Estas foram obtidas em 21 localidades na Amazônia, das quais 17 são do estado do Pará. Um total de oito locos foram altamente polimórficos efetivando 165 diferentes alelos, cuja diversidade genética variou entre 0,776 a 0,925. Dos alelos registrados no Pará, cerca de 50% foram raros, 34,5% comuns e 14,5% únicos. Alelos únicos e raros foram numerosos nos grupos do Marajó, enquanto os comuns apresentaram alta frequência no Nordeste paraense. A média geral da estimativa de riqueza alélica foi igual a 4,0 ( $Ra$ ). Quanto a análise do desvio das frequências, de 168 comparações possíveis locus vs populações, 157 seguiam o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), com a heterozigosidade observada ( $Ho$ ) variando entre 0,17 a 1,00. Já a Heterozigosidade esperada ( $He$ ) se ampliou de 0.275 a 0.933. Os valores da matriz de  $Fst$  pa-a-par, mostraram que de 210 pares gerados, 54.8% apresentavam divergência significativa ( $p < 0.001$ ), o que pode representar tendências a subdivisão dentro dos grupos, que foi confirmada com AMOVA significativa em 96% dos casos. Mesmo com baixa variação intergrupos, a PCA mostrou tendência a formação de três populações com certa homogeneidade. Talvez, o polimorfismo dos locos, seja gerenciado em maior parte por deriva em associação com diferentes níveis de fragmentação populacional. Portanto, a Raiva humana transmitida por vampiro comum em 2004 e 2005 no Pará foi parte de eventos distintos, com o grupo de Portel, apresentando um fluxo gênico mais moderado entre os espécimes, em contraste ao Nordeste paraense. O monitorado da diversidade genética de *D. rotundus*, envolve mecanismos de interesses para a saúde pública, uma vez que podem representar o modelo de dispersão espacial da espécie, que atualmente é considerado o principal transmissor da Raiva a humanos no Brasil.

**Palavras-chave:** genética, microssatélites, hematófago, *Desmodus rotundus*, Pará, Amazônia.

*Per Andrade, Laboratório de Ecologia de Manguezal, Campus de Bragança, Universidade Federal do Pará, Alameda Leandro Ribeiro, s/n 68600-000, Bragança, Pará, Brasil: E-mail: [atanaena@yahoo.com.br](mailto:atanaena@yahoo.com.br)*

## ABSTRACT

Andrade, F., Varela, E., Uieda W., Sampaio I. & Fernandes, M. Genetic variability and population structure of the common vampire bat (Chiroptera, Phyllostomidae) in Para State, eastern Amazonia. . *Zoologica Scripta*, 00, 000-000.

This study investigated the population genetics of *Desmodus rotundus*, using ten microsatellite loco and 236 specimens. The specimens are from 21 locations in the Amazon region, of which 17 within the state of Pará, Brazil. Eight microsatellite markers were highly polymorphic and showed 165 different alleles, and genetic diversity ranged from 0.776 to 0.925. The alleles detected in Pará were approximately 50% rare, 34.5% common and 14.5% unique. In the region of Marajó most of the alleles were unique or rare alleles, while the common alleles showed a higher frequency in northeastern Pará. The average estimate of allelic richness was equal to 4.0 (Ra). Analysis of Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) showed 157 out of 168 locus vs population in equilibrium. Observed heterozygosity (Ho) ranged from 0.17 to 1.00 and expected heterozygosity (He) ranged from 0.275 to 0.933. The values of Fst matrix pa-a-par, showed that of 210 pairs generated, 54.8% had significant discrepancies ( $p < 0.001$ ), which may represent the subdivision trends within the groups, confirmed with AMOVA analysis in 96% of cases. Even with low variation between groups PCA showed a trend towards the formation of three homogenous populations. However, the polymorphism of loco may be a result of drift, in combination with different levels of population fragmentation. Furthermore, the hypothesis of distinct events of human rabies transmitted by the common vampire bat in 2004 and 2005 in Pará is supported here, where the samples of Portel showed moderate gene flow amongst the specimens in contrast to those from the Northeast of Pará. The monitored genetic diversity of *D. rotundus* has implications for public health since they represent the model of spatial dispersion of this species which is currently considered the main transmitter of paralytic rabies in Brazil.

**Keywords:** genetics, microsatellites, hematophagous, *Desmodus rotundus*, Pará, Amazônia.

## Introdução

Em áreas silvestres *Desmodus rotundus* (É. Geoffroy Saint-Hilarie, 1810) é uma espécie de morcego considerada rara, distribuída desde Sonora e Tamaulipas no norte do México até o norte da Argentina (Bredt *et al.* 1998, Dalquest 1955, Greenhall *et al.* 1983, Koopman 1988). Entretanto, a presença de herbívoros domésticos, introduzidos desde a colonização do Novo Mundo pelos europeus, conseqüentemente, tornou tal espécie hematófaga muito comum (Málaga-Alba 1954, Holmes *et al.* 2002). Holmes *et al.* (2002) inclusive associaram também a expansão adaptativa de *D. rotundus* à diversificação de linhagens neotropicais do vírus clássico da raiva-RABV (genótipo I), cujo estimativa molecular temporalizou essa relação para cerca de 500 anos. Portanto, paralelo à colonização do Novo Mundo, ou seja, um vestígio de que a Raiva já se fazia presente em morcegos hematófagos antes da chegada dos europeus na América. Na atualidade, o vampiro comum destaca-se como o principal transmissor dessa virose entre os vertebrados, incluindo humanos, assim também como uma fonte de grandes prejuízos econômicos à pecuária (Acha & Málaga-Alba 1988, Findley 1993, Brass 1994, Brown 1994, Schmidt 1988).

Estudos comportamentais indicam que *D. rotundus* é uma espécie poligâmica com hierarquia social, cuja estrutura é formada por haréns sob a dominância de um macho alfa (Gomes & Uieda 2004). Normalmente, as colônias podem conter de 20 a 100 morcegos (Wimsatt 1969, Lord *et al.* 1976, Uieda 1987), sendo que refúgios com mais de 100 espécimes são considerados atípicos por Uieda *et al.* (1996). Além da variação no tamanho dos agrupamentos, na natureza, *D. rotundus* apresenta alta longevidade (18 anos) observada através dos anéis do cemento dental (Lord *et al.* 1976).

Wilkinson (1985a, b), em busca de outros padrões de comportamento e de estrutura populacional, utilizando marcadores aloenzimáticos, observou a ocorrência de intercâmbio entre os agrupamentos, bem como o uso de múltiplos abrigos pelas colônias. As fêmeas

contribuíram mais para o fortalecimento do convívio afetivo, do que para a heterogeneidade populacional (Wilkinson 1985b). Aos machos dominantes coube a defesa de sua colônia, assim como o maior número de acasalamentos aleatórios. Sendo esta estratégia responsável por uma média máxima de paternidade de 46% (Wilkinson 1988). Quanto aos machos intrusos, apesar de um menor número de acasalamentos, estes se mostraram altamente importantes na manutenção de mais de 50% da variabilidade genética do vampiro comum, devido à sua elevada capacidade de dispersão. Contudo, apesar de todas essas contribuições, não foi encontrada estruturação a nível macrogeográfico para *D. rotundus* em áreas na Costa Rica (Wilkinson 1985b).

As divergências populacionais estudadas, quase sempre foram associadas a inferências morfológicas sobre prováveis subsespécies para *D. rotundus* (Osgood 1943, Jones & Carter 1976, Schmidt 1978). Para Koopman (1988) e Mann Aulagnier (1993), a existência de subespécie seria um viés devido a baixa amostragem, a variação individual, a análises com combinação sexual, variação geográfica e, até mesmo, a existência de ecótipos resultantes de heterogeneidade ambiental, as clinas.

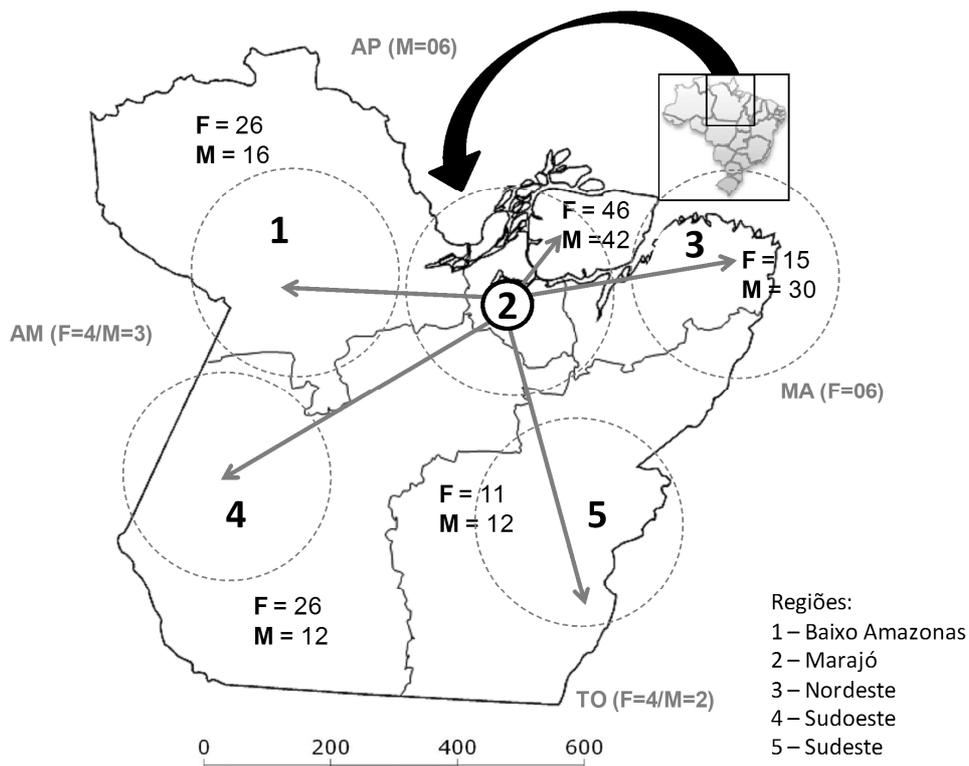
Contudo, na tese de Martins (2008) utilizando marcadores moleculares e morfológicos propôs o reconhecimento de duas linhagens atribuídas a *D. rotundus* no Brasil, onde amostras da Amazônia e da América Central formariam uma população bastante homogênea. Ditchfield (2000), utilizando-se do marcador Citocromo *b* para *D. rotundus*, demonstrou que mesmo em nível de bioma (Mata Atlântica), os espécimes de áreas muito próximas, tenderiam a heterogeneidade populacional. McCracken (1987) por meio de estudos genéticos com morcegos neotropicais, já havia inferido que embora a subdivisão seja pouco aparente, as colônias individuais podem apresentar alguma heterogeneidade. Esta, por sua vez, seria devido à coancestria, ou seja, a equivalência alélica por descendência diretamente associada a um baixo declínio reprodutivo, a um alto nível de dispersão, e, sobretudo, em função do comportamento da espécie.

Segundo Heywood & Iriondo (2003) e Piaggio *et al.* (2008), a utilização de marcadores mais variáveis, do tipo microssatélites, são importantes para gerar informações mais detalhadas acerca dos padrões do fluxo gênico, conectividade e da tendência genética à dispersão. Assim, o presente trabalho objetiva caracterizar a variabilidade genética de *D. rotundus*, por estimativas de diferenciação populacional em uma escala mais regional, utilizando amostras de áreas do Estado do Pará e áreas adjacentes do Amazonas, Amapá, Tocantins e Maranhão.

### **Material e métodos**

#### (a) *Área de estudo*

A área de estudo foi representada, principalmente, pelo estado do Pará, situado no centro leste da região norte do Brasil, sendo tal estado considerado o segundo maior do país, com 1.247.689,515 km<sup>2</sup> (IBGE 2010). Desta grande área da Amazônia oriental foram consideradas cinco mesorregiões políticas conhecidas, para representar o número de indivíduos adultos, machos e fêmeas, e a distribuição dos 17 municípios de origem dos exemplares de *D. rotundus* (Fig. 1). As mesorregiões e os respectivos municípios são os seguintes: **Baixo Amazonas** representando Juruti (n=7), Óbidos (n=8), Oriximiná (n=13), Santarém (n=15); **Marajó** Afuá (n=14), Breves (n=21), Limoeiro do Ajurú (n=25), Portel (n=28); **Nordeste** com Augusto Corrêa (n=9), Bragança (n=9), Capanema (n=8), Tracuateua (n=8), Viseu (n=12); **Sudeste** incluindo Redenção (n=7) e Tucuruí (n=12); **Sudoeste** Itaituba (n=32) e Jacareacanga (n=8). Os centros de distribuição das localidades dentro de cada mesorregião têm entre si uma distância média de 450 km. Além destas áreas também foram incluídos os Estados do Amazonas, Amapá, Maranhão e Tocantins (Fig. 1).



**Fig. 1** - Número de indivíduos adultos machos e fêmeas da espécie *D. rotundus* procedentes das cinco Mesorregiões no Estado do Pará (círculos pontilhados) e os três Estados adjacentes com seus respectivos números de indivíduos analisados. AM=Estado do Amazonas, AP=Estado do Amapá, MA=Estado do Maranhão e TO=Estado do Tocantins.

(b) *Origem das amostras*

Do total de 236 amostras de tecido muscular de espécimes adultos da espécie *D. rotundus*, determinados pela fusão epífese-diáfese, 93% foram cedidos pelo laboratório de Diagnóstico de Raiva, Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas (SAARB), do Instituto Evandro Chagas (IEC), e 4% pelo Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), ambos situados em Belém-Pará. Já os demais 3% são de amostras obtidas junto à Fundação de Vigilância em Saúde do Estado do Amazonas (FVG/Gerência de Zoonoses). Os exemplares do IEC e LANAGRO são oriundos do trabalho de campo dos órgãos responsáveis pelo controle da

zoonose no Estado do Pará, dentre os quais estão o Departamento de Endemias (DE), da Secretaria Executiva de Saúde Pública do Pará (SESPA) e a Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARA). A finalidade do envio de amostras é o diagnóstico laboratorial do *Lyssavirus* pela técnica de Imunofluorescência Direta (IFD) e/ou Prova Biológica (PB).

(c) *Diversidade genotípica*

O DNA total de cada amostra foi extraído através do método “Salting-out” (Sunnucks & Hales 1996), cujas mesmas foram caracterizadas por genotipagem dos seguintes marcadores desenvolvidos por Piaggio *et al.* (2008): Dero\_D06F\_D06R, Dero\_B11F\_B11R, Dero\_C07F\_A02R, Dero\_C12\_B02R, Dero\_B10\_E01R, Dero\_D12\_D12R, Dero\_B03\_B03R, Dero\_C11\_C11R, Dero\_D02\_D02R E Dero\_A08\_B01R. No presente trabalho, tais iniciadores (*forward*) foram identificados por fluorescências 6-FAM (emissão azul) ou HEX (emissão verde), sendo aplicados na PCR convencional com volume final de 10  $\mu$ L (1  $\mu$ L de DNA +9  $\mu$ L demais reagentes) em programa de ciclagem também de Piaggio *et al.* (2008). Após a amplificação, a escala alélica do GeneScan-500<sup>TM</sup> ET-Rox<sup>TM</sup> (Applied Biosystems) disponibilizou uma extensão de 35-500 bases para as genotipagens em eletroforese de capilar no seqüenciador automático ABI PRISM 3100.

De acordo com Ott (1992), o elevado polimorfismo em microssatélites é caracterizado pela heterozigosidade média observada de cada loco, quando esta se encontra com percentual acima de 70%. Na obtenção de tal índice foi considerado o número de alelos por locus ( $N_a$ ), sendo a heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) foram calculados no software Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.* 2006). Alguns desses parâmetros foram testado quanto a normalidade e variâncias entre os locos, bem como entre os grupos geográficos no pacote BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*

2007). O programa Genealex versão 6.4.1 (Peakall & Smouse 2006) foi empregado na identificação dos alelos individuais, do número efetivo de alelos ( $n_e$ ), bem como das suas frequências para a categorização em: comuns ( $\leq 95\%$ ), raros ( $\leq 5\%$ ) e os exclusivos de uma população, ou dito únicos (Hartl & Clark 1997). Posteriormente, dos raros e dos comuns foram gerados mapas por interpolação de Kernel no programa TerraView 4.0 (INPE 2010), para analisar a intensidade pontual de cada tipo alélico no território paraense.

No programa Arlequin 3.1, além do teste do desequilíbrio de ligação, as possíveis ocorrências de desvios heterozigóticos significativos sob o equilíbrio de Hardy-Weinberg (*EHW*) foram realizadas através do Teste Exato de Fisher. Em função das deficiências heterozigóticas observadas, estas foram reavaliadas para confirmação com a estatística *Fis* no pacote FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2002). Neste mesmo programa foi calculado o valor de cada população relacionada com o conjunto de loco. A significância dos testes de desequilíbrio de ligação, *EHW*, *Fis* e diferenças nas frequências alélicas, foram estimadas pelo método da Cadeia Markoviana com 1.000 permutações (Guo & Thompson 1992). O cálculo de Riqueza Alélica gerou o número de alelos de cada amostra, que utiliza a estatística de rarefação para compensar as disparidades dos tamanhos amostrais. Estas medidas foram executadas através do programa HP-Hare versão 1.0 (Kalinowski 2005).

(d) *Análises populacionais*

A hipótese nula da ausência de diferenças entre as populações foi testada por comparações par-a-par da estatística  $F_{ST}$  (Weir & Cockerham 1984), sendo realizadas permutações dos alelos entre as populações. O valor de  $P$  do teste é a proporção de 100.000 permutações em função de um  $F_{ST}$  maior ou igual ao observado. Uma vez que dados microssatélites não apenas produzem informações de frequências, mas também de tamanho, pelo número de unidades repetidas por alelo, foi realizada a análise pelo modelo de mutação escalonada *Rst* (Barroso *et al.* 2005). Por isso esta análise, que é considerada

uma estatística análoga, seria mais apropriada que o  $F_{st}$  (Jarne & Lagoda 1996). Toda a variação genética da amostragem foi dividida em componentes hierárquicos inclusivos pela análise de variância molecular - AMOVA. A partir desta análise foi determinada a contribuição relativa da variação genética entre os grupos amostrados e entre os indivíduos dos grupos de vampiro comum do Estado do Pará. Os testes da AMOVA foram obtidos no Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.* 2006). A significância dos índices de fixação, computados com os dados das diferenças mutacionais entre os alelos, foi testada utilizando-se uma abordagem de permutação não-paramétrica, a Matriz de distância Euclidiana, que foi gerada no programa Genealex versão 6.4.1 (Peakall & Smouse 2006). Por último, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando-se os dados da matriz  $R_{st}$ , também neste caso sendo a análise realizada no programa Genealex.

## **Resultados**

### Polimorfismo dos marcadores microssatélites

Dos dez marcadores microssatélites utilizados no estudo populacional de *D. rotundus* na Amazônia, com exceção dos locos D06 e B11, oito foram polimórficos (100%), com um total de 165 diferentes alelos ( $N_a$ ) e uma média geral de 20,6 alelo/loco (A) - Tabela 1. Na Tabela 1 constam os valores heterozigosidade observada entre os locos, cuja variação foi bastante significativa (ANOVA,  $F=3,42$ ;  $gl=7$ ;  $p<0,0025$ ). A distribuição dos locos polimórficos em cada espécime foi praticamente homogênea (ANOVA,  $F=0,23$ ;  $gl=7$ ;  $p=0,97$ ), independente do tamanho amostral ( $n$ ). O número efetivo de alelos por locos foi menor do que o número de alelos totais por locos, variando entre locos de 1 a 20, com média de 8,87 alelos efetivos ( $A_e$ ) por locos, o que sugere muitos alelos raros ou de baixa frequência.

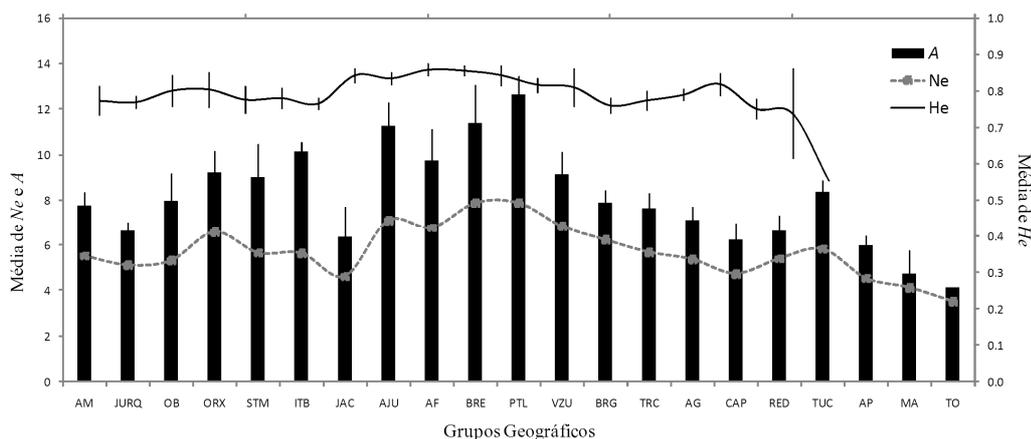
## Caracterização genética de *Desmodus rotundus*

De maneira geral, a média de variação em  $H_o$  para *D. rotundus*, provenientes das localidades da Amazônia, conservaram valores caracteristicamente estáveis, sem diferença significativa (ANOVA,  $F=0,59$ ;  $gl=16$ ;  $p=0,87$ ). O mesmo ocorreu com a distribuição da heterozigosidade média esperada, onde apesar da maioria dos grupos ao oeste do Pará terem apresentado os mais altos valores de  $H_e$  (Fig. 2), as diferenças não foram significativas. Já a média efetiva de alelos ( $N_e$ ,  $F=6,50$ ;  $gl=16$ ;  $p<0,0001$ ) se mostrou significativamente variável entre as localidades, bem como o número médio de alelos por loco ( $A$ ,  $F=8,37$ ;  $gl=16$ ;  $p<0,0001$ ). Na avaliação por grupos mesorregionais, as diferenças entre as médias também foram significativas para  $N_e$  ( $F=3,31$ ;  $gl=16$ ;  $p=0,047$ ). Contudo, o exame de *Bonferroni* acusou que, neste caso, todas as divergências significativas entre as médias incluíram as amostras da mesorregião do Marajó, cuja mesma dispunha de maior tamanho amostral. No geral, as amostras genotipadas descreveram uma média de 5,7 indivíduos/localidade, sendo este um valor abaixo do esperado, para colônias de 20 a 100 indivíduos (Wimsatt 1969, Lord *et al.* 1976, Uieda 1987).

**Tabela 1.** Número de alelos e heterozigosidades do presente estudo, bem como de estudos anteriores de Piaggio *et al.* (2008) e Costa (2011).

Locus	Motif Piaggio(2008)	Presente trabalho $n=263$	Piaggio (2008) $n=41$	Costa (2011) $n=49$	Heterozigosidade					
					Presente trabalho		Piaggio (2008)		Costa (2011)	
					Ho	He	Ho	He	Ho	He
Dero_D06F_D06R	(TC)6	1	2	5	1	0	0,55	0,48	0,88	0,62
Dero_B11F_B11R	(AC)8	1	3	2	1	0	0,51	0,51	0,13	0,16
Dero_C07F_A02R	(TG)9	13	5	-	0,77	0,76	0,67	0,64	-	-
Dero_C12_B02R	(CA)17	15	6	4	0,82	0,88	0,81	0,77	0,37	0,50
Dero_B10_E01R	(GA)20	17	6	5	0,83	0,88	0,79	0,74	0,61	0,65
Dero_D12_D12R	(CA)11(AC)8	18	7	-	0,77	0,84	0,76	0,78	-	-
Dero_B03_B03R	(AC)11	19	5	4	0,84	0,84	0,64	0,66	0,25	0,44
Dero_C11_C11R	(AG)9	21	6	6	0,93	0,94	0,41	0,46	0,42	0,52
Dero_D02_D02R	(GT)7(GA)13(AG)8	24	13	4	0,88	0,94	0,76	0,78	0,09	0,68
Dero_A08_B01R	(TC)27(CA)23	38	13	5	0,83	0,95	0,91	0,90	0,42	0,73
<b>Total</b>		167	66	35						
<b>Média</b>		<b>20,6</b>	<b>7,6</b>	<b>4,7</b>	<b>0,9</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>

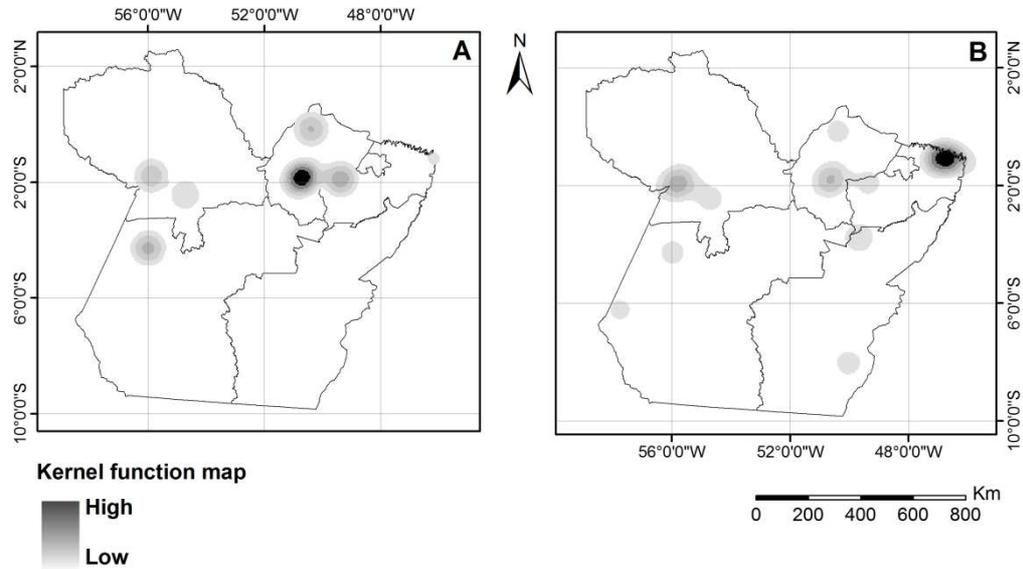
$n$  = número de indivíduos amostrados,  $N_a$  = número de alelos,  $H_o$  = heterozigosidade observada,  $H_e$  = heterozigosidade esperada



**Fig. 2** - Variação entre os grupos da Amazônia, quanto ao: número médio de alelos ( $A$ ), número efetivo de alelos ( $N_e$ ) e Heterozigosidade ( $He$ ). As siglas representam os seguintes locais: JURQ (Juruti), OB (Óbidos), ORX (Oriximiná), STM (Santarém), AJU (Limoeiro do Ajurú), AF (Afuá), BRE (Breves), PTL (Portel), TRC (Tracuateua), VZU (Vizeu), AG (Augusto Corrêa), BRG (Bragança), CAP (Capanema), ITB (Itaituba), JAC (Jacareacanga), RED (Redenção), TUC (Tucuruí), Tocantins (TO), Amazonas (AM), Amapá (AP) e Maranhão (MA).

Dos alelos registrados nas áreas da Amazônia cerca de 50% foram raros, enquanto 34,5% comuns e 14,5% únicos, sendo que com exceção dos alelos comuns as demais categorias foram ausentes nos Estados adjacentes ao Pará (Figura 3). Os alelos raros se concentraram, principalmente, nos locos B10 ( $N_a=8$ ), C12 ( $N_a=8$ ), D02 ( $N_a=10$ ) e C11 ( $N_a=11$ ), os quais se distribuíram em altas densidades nos espécimes de Portel, Limoeiro do Ajurú, Breves e Afuá, ou seja, mesorregião do Marajó. A densidade de alelos raros foi ainda representativa em áreas do Baixo Amazonas e Sudoeste (Fig. 3A). Os alelos comuns apresentaram valores médios que variaram de 0,01 a 0,41, além de alta concentração no loco A08 ( $N_a=28$ ) e a mais baixa em C07 ( $N_a=3$ ). As maiores densidades da frequência de alelos comuns abrangeram os grupos do Nordeste, e em menor quantidade os grupos do Marajó (Fig. 3B). Já o total de alelos únicos ( $U$ ) apresentou distribuição em 11 localidades, tendo as mais altas ocorrências com Limoeiro do Ajurú ( $U=4$ ), Vizeu ( $U=4$ ), Afuá ( $U=3$ ), Portel ( $U=3$ ), Óbidos ( $U=2$ ) e Bragança ( $U=2$ ). O registro de apenas um alelo único/grupo ocorreu em Itaituba, Breves, Augusto Corrêa, Capanema e Redenção.

Portanto, é fato que a mesorregião Marajó foi a área com maior ocorrência de alelos únicos do Pará.



**Fig. 3** - Mapa da densidade de alelos raros (A) e comuns (B) registrados nos grupos geográficos do estado do Pará.

A medida da variabilidade intrapopulacional, com a inclusão da importância dos alelos privados e/ou raros, apresentou uma média geral de riqueza alélica igual a 4,03 ( $Ra$ ). Uma menor variabilidade de  $Ra$  foi observada para a maioria das amostras no lado oeste do Estado do Pará (Jacareacanga, Santarém e Oriximiná), incluindo Itaituba com a menor média ( $3,91 \pm 0,78$ ). Um aumento de  $Ra$  foi observado desde Breves no Marajó ( $4,56 \pm 0,54$ ), bem como em Vizeu no Nordeste paraense ( $4,54 \pm 0,45$ ), tendo apenas como exceção Capanema ( $4,09 \pm 0,63$ ).

Nos grupos estudados os marcadores em equilíbrio de Hardy-Weinberg EHW totalizaram 168 comparações possíveis (locus vs populações), sendo que destas, 157 seguiam o EHW (Tabela 2). Os poucos desvios encontrados (DEHW) estiveram presentes em sete locos e nove grupos, onde Dero\_B03F apresentou o maior número de diferenças significativas em locais distintos. Em contraste, o loco Dero\_C07F foi o único a se distribuir em todos os grupos seguindo o EHW. Os grupos de Óbidos e Vizeu foram os

que mostraram o maior número individual de locos em desequilíbrio (2), enquanto os demais sete, apenas um loco em DEHW (Tabela 2). Mas de maneira geral, de acordo com a distribuição por mesorregiões, o Nordeste do Pará foi a área que apresentou o maior número de populações (Viseu, Bragança e Capanema) com marcadores (B10, B03 e A08) em desequilíbrio (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores de significância da probabilidade de desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg para *D. rotundus*, sendo que os dados marcados em cinza indicam ocorrência de desequilíbrio ( $p < 0,05$ ).

ESTADOS/GRUPOS	LOCO							
	C07	C12	B10	D12	B03	C11	D02	A08
Juruti	0.09	0.04	0.19	0.19	0.19	0.77	0.62	1.00
Óbidos	0.52	0.15	0.78	0.00	0.29	0.74	0.03	0.67
Oriximiná	0.82	0.25	0.39	0.10	0.95	0.92	0.36	0.59
Santarém	0.59	0.78	0.84	0.88	0.12	0.96	0.90	0.33
Itaituba	0.27	0.97	0.61	0.74	0.57	0.25	0.70	0.00
Jacareacanga	1.00	0.12	1.00	1.00	0.01	0.17	1.00	0.63
L. Ajurú	0.64	0.62	0.81	0.41	0.94	0.28	0.62	0.03
Afuá	0.63	0.41	0.46	0.27	0.72	0.53	0.61	0.63
Breves	0.86	0.46	0.13	0.56	0.22	0.00	0.22	0.44
Portel	0.40	0.72	0.41	0.46	0.08	0.65	0.20	0.62
Viseu	0.08	0.66	0.01	0.25	0.00	0.42	0.67	0.55
Bragança	0.54	0.10	0.66	0.05	0.69	0.67	0.96	0.02
Tracuateua	0.55	0.27	0.84	0.59	0.57	0.53	0.56	1.00
A. Corrêa	0.62	1.00	1.00	1.00	0.09	1.00	0.78	0.86
Capanema	1.00	0.48	0.31	1.00	0.04	0.73	0.60	0.55
Redenção	0.44	1.00	1.00	0.49	1.00	0.56	0.89	1.00
Tucuruí	0.25	0.40	0.47	0.78	0.89	0.30	0.85	0.47
AMAZONAS	1.00	0.49	0.94	1.00	0.85	0.70	0.95	0.75
AMAPÁ	0.72	0.62	0.04	1.00	0.14	1.00	0.62	0.51
MARANHÃO	1.00	0.08	0.20	0.77	1.00	1.00	0.47	1.00
TOCANTINS	0.32	0.62	0.31	1.00	-	1.00	-	0.35

### Análises populacionais

O índice de  $H_o$  apresentou uma variação média de 0,78 entre as localidades, e de 0,87 entre os marcadores de *D. rotundus*. Mesmo diante de diferenças altamente significativas, descritas apenas para os dados entre os locos no início destes resultados, a  $H_o$  refletiu valores, no coeficiente de endogamia populacional ( $F_{is}$ ), abaixo de 0,35 para os municípios avaliados, e também para os marcadores microssatélites utilizados. Alguns grupos que mostraram desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg, revelaram um déficit de

heterozigotos, em localidades ao norte do estado, sendo estes: Juruti, Óbidos, L. Ajurú, Breves, Vizeu, Capanema e Amapá. Quando da análise por grupos mesorregionais, o *Fis* resultou em uma média de valores baixos e negativos para o Sudoeste (-0,144) e Sudeste (-0,057) do Pará, bem como para os estados do Tocantins (-0,299) e Amazonas (-0,157). Entretanto, para as amostras do Nordeste (0,009), Baixo Amazonas (0,093) e Marajó (0,026), bem como para os Estados do Amapá (0,000) e Maranhão (0,103), os valores positivos sugerem um maior quantidade de homozigotos, ao contrário das amostras ao norte do Estado do Pará. No entanto, todos os valores de *Fis* não foram significativamente diferentes de zero.

A matriz de distância genética, *Fst* par-a-par, dos oito loci Microsatélites de 21 grupos de *D. rotundus* da região amazônica, mostraram que de 210 pares gerados 54,8% apresentavam diferenciação populacional significativa ( $p < 0,001$ ). Usando o guia de Wright (1978), o percentual acima citado, por sua vez, constituiu-se por 68 pares *Fst* com valores entre 0,05 a 0,15 e 46 pares abaixo de 0,05, indicando moderada e pouca diferenciação, respectivamente. Apenas o par Itaituba e Tocantins apresentou valor do intervalo de 0,15 a 0,25. Neste caso, a diferenciação seria “grande”. Tocantins apresentou diferenciação significativa com todos os grupos, provavelmente, influenciada pela ausência de alguns locos não genotipados. As áreas de a maior frequência de alelos raros pertenciam a mesorregião do Marajó, destacando-se Portel (36) e Limoeiro do Ajurú (31), cujos mesmos apresentaram distâncias genéticas de diferenciação do tipo “pequena”, porém significativa ( $Fst=0,018$ ;  $p < 0,001$ ). Já os dados de *Rst* asseguram a distância genética para Portel e Limoeiro do Ajurú, somente quando associados a Breves (mesorregião Marajó), Capanema e Bragança no Nordeste paraense. Por fim, Afuá apresentou divergências genéticas significativas de *Rst* com todos os grupos do oeste paraense (Baixo Amazonas e Sudoeste).

No geral, no modelo de mutação escalonada (*Rst*), um percentual de 38,1% da matriz mostrou diferenciação genética significativa ( $p < 0,001$ ), ou seja, 80 pares. Destes, um total de 55 confirmaram os pares com significância apresentada pelas relações interpopulacionais (*Fst*), sendo alguns elevados à categoria de moderados (12 pares), outros a grande (19 pares) e o restante a muito grande (11 pares). Os demais 25 pares seriam de diferenciações antes não significativas para o *Fst*, mas que para *Rst* foram bastante expressivas, sendo reclassificadas como moderada (52%) e grande (80%).

A AMOVA detectou que 3,89 de toda variação foi observada entre os grupos geográficos de *D. rotundus*, sendo este, segundo os critérios de sugeridos por Hatl & Clarck (1997), um índice de diferenciação do tipo pequeno ( $Fst = 0,038$ ;  $p < 0,001$ ). A maior parte da variabilidade genética encontrada foi devido às diferenças alocadas em indivíduos dentro das populações (96%) (Tabela 3).

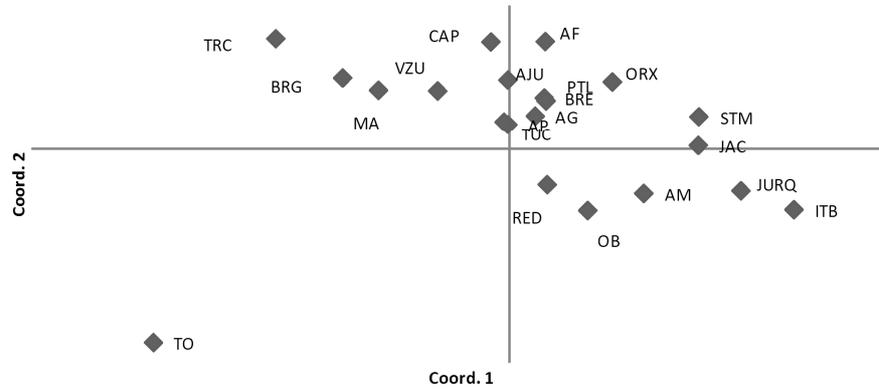
**Tabela 3.** Análise hierárquica de variância molecular (AMOVA) inter e intra grupos de *Desmodus rotundus* da Amazônia. Componentes de variância (Va e Vb), bem como o percentual da variação foram calculados a partir da matriz dos genótipos. *Fst* significativo para  $p < 0,001$ .

Fonte da variação	GL	SQ	Componentes da variação	Porcentagem de variação
Entre populações	20	67,2	0,07Va	3,9
Dentro das populações	489	836,9	1,71Vb	96,1
Total	509	904,1	1,78	

GL – Graus de liberdade, SQ – Somatório dos quadrados

Considerando a classificação dos locos para a variabilidade genética, quatro marcadores apresentaram contribuição do tipo “moderada”, sendo estes: Dero\_A08F, Dero\_C11F, Dero\_C07F e Dero\_B10. Já os do tipo “grande” abrangeram os demais loco, onde Dero\_D02F foi o que mais contribuiu com um índice de diferenciação de 0,14. A

Análise dos Componentes Principais revelou certa tendência para a formação de três grupos, com estruturação não significativa, sendo estes do Baixo Amazonas, do Marajó e do Nordeste do Pará (Figura 4).



**Fig. 4** - Análise de Componentes Principais da Matriz de distância genética com os dados *Fst*, das amostras do Pará.

## Discussão

O presente estudo foi o primeiro a utilizar marcadores microssatélites para avaliação da espécie *Desmodus rotundus* na Amazônia brasileira. Os dados mostraram alto polimorfismo em 80% dos locos selecionados dentre os desenvolvidos (Piaggio *et al* 2008), haja vista, todos os valores de heterozigosidade observada estarem acima de 70%. Apenas os locos Dero\_D06F\_DOR e Dero\_B11F\_B11R foram monomórficos, ao contrário do observado em outros trabalhos do sul do Brasil (Costa 2011) e do México (Piaggio *et al* 2008), sugerindo assim certa diferenciação genética da população do Pará, talvez decorrente de uma elevada fixação de alelos em linhagens da Amazônia. A média geral do número de alelos/loci do presente trabalho foi a maior diante dos demais estudos, provavelmente, em razão do tamanho amostral e da diversidade de origem dos espécimes.

Quanto à média de alelos/mesorregiões, o alto número de exemplares veio favorecer os dados do Marajó ( $X= 10,71$ ), diante das diferenças não significativas das

demais localidades ( $X=7,38$ ,  $p>0,05$ ), pressupondo uma maior diversidade genética naquela área, e garantindo perdas não significativas de alelos na população de *D. rotundus* do Pará. Mesmo assim, a alta porcentagem de alelos comuns no Nordeste do Pará, contrários a alta porcentagem de alelos raros no Marajó, deduz um comprometimento daqueles com a diminuição da variabilidade genética por deriva na população. A perda de alelos leva à redução, na capacidade das espécies, de responder a adversidades ambientais em gerações futuras; podendo ocorrer redução na adaptabilidade das espécies (Young *et al* 1996). Para Frankham *et al.* (2008), os efeitos severos da deriva genética a longo prazo podem causar em populações pequenas a extinção das mesmas por redução no fluxo gênico. Nesses casos, o monitoramento genético das gerações é altamente importante para fins de conservação de uma dada espécie.

No Pará a interferência de fatores externos, como a fragmentação de paisagens por atividades antrópicas (pecuária, agricultura, etc), são causas potenciais de redução da base genética da população de hematófagos. A realização de novos estudos na região, fundamentados em amostras de progênes de *D. rotundus*, descreveriam a situação mais atual da população aqui estudada, pois a deriva genética pode ter sido na verdade um evento de curto prazo, enquanto a endogamia é que de fato seria de longo prazo.

No presente, as amostras deste trabalho foram obtidas de modo a maximizar a probabilidade de que indivíduos de diferentes agrupamentos pertencessem a uma mesma população, cujo  $N_e$  apresentou uma média geral de 5,91, além de variação significativa (ANOVA,  $F=3,52$ ;  $p=0,03$ ). Já no estudo de Costa (2011), sobre hematófagos cavernícolas de uma região do Estado do Paraná, resultou em uma população do tipo fechada e pequena ( $N=49$  e  $N_e=4,67$ ), com frequência alélica composta por alguns *loci* homozigotos, que se modificou amplamente devido a um recente aumento na abundância da espécie na área. As médias de  $N_e$  do presente estudo e dos demais (Piaggio *et al* 2008, Costa 2011) contemplam valores muito aproximados, apesar das diferenças quantitativas na

amostragem. Sugestivamente, nas populações de *D. rotundus* a diversidade alélica, principalmente do Marajó, parece compensar a redução de locos polimórficos em função da diversidade genética do Pará. Segundo Souza *et al.* (2004) é sempre importante lembrar que alguns efeitos da deriva genética (*boottleneck*) podem ser rápidos e dramáticos para as frequências alélicas, sendo que o alelo dependerá de sua vantagem ou desvantagem seletiva no determinado ambiente.

Os locos utilizados apresentaram poucos acontecimentos de desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg para *D. rotundus* de áreas amostradas do Pará. Portanto, indicando ausência de diferenciação significativa entre as localidades e proporcionando apenas um indício de eventos microevolutivos do tipo endocruzamento, migração, mutação, seleção, deriva genética, etc, que estariam interferindo em alguns grupos. Dentre estes, estariam às amostras do nordeste paraense, com três das cinco localidades estudadas apresentando DEHW - inclusive Viseu - área de focos recentes de raiva humana e em herbívoros domésticos. Quanto a Portel, outra área de foco, todos os locos estiveram em EHW, fato que pode indicar ausência de interferência dos processos acima citados, ou também que talvez dois ou mais destes eventos estivessem atuando de forma a se anularem mutuamente.

Viseu e Portel foram os grupos de maior  $N_e$  e altos índices de diversidade genética, os quais devem estar garantindo os baixos números ou ausência de perdas de heterozigosidade para a espécie, portanto, sendo estes grupos apropriados para a formação de acervo de gerações para *D. rotundus*. Segundo Futuyma (1992), as alterações na heterozigosidade são mais facilmente percebidas quando se dá um número maior de gerações após uma fragmentação populacional. Desse modo, para *D. rotundus* as poucas diferenças de heterozigosidade entre grupos de localidades adjacentes a Viseu e Portel se daria por meio de efeito fundador, ou seja, com mesclas genealógicas do antes (adultos) e do depois (jovens). Portanto, primeiro por parte da variação que já existia e dispersou para

áreas próximas, diante de modificações na paisagem, e depois da diversidade resultante deste efeito.

Casos de raiva em humanos e herbívoros, subseqüentes aos focos nos municípios de Portel (15 casos) e Vizeu (6 casos), em 2004 no Estado do Pará, incluíram localidades muito próximas a ambos municípios. No ano seguinte, em 2005, outros casos foram registrados adjacentes a Vizeu, em municípios no Estado do Maranhão, o que coincide com a hipótese da dispersão de gerações. No entanto, tal difusão se deu de maneira muito rápida, provavelmente, devido a processo de controle do vampiro comum, cuja utilização da pasta vampiricida apresenta maior ação do efeito nas fêmeas, haja vista haver uma alta contribuição destas para o fortalecimento do convívio afetivo de *D. rotundus* (Wilkinson 1985b). Conseqüentemente, a redução das fêmeas induz a um deslocamento de machos para outros refúgios, por vezes, mais distantes, sendo que se tais espécimes estiverem contaminados, as mesmas levarão consigo o vírus (Gomes *et al.* 2006).

A quantidade de alelos homozigotos nos espécimes da porção norte do Estado ligeiramente maior do que nos exemplares do sul sugere que, nos hematófagos dessa área há oposição fraca para a endogamia ao longo das gerações, por conseguinte, maior número de cruzamentos entre indivíduos genotipicamente, e talvez fenotipicamente, mais similares entre si. Contudo, a AMOVA detectou uma maior variabilidade genética relacionada à diversidade dentro das populações. Já os parâmetros de subdivisão populacional, que apresentaram valores significativamente diferentes de zero ( $p < 0,05$ ), indicaram que tal separação entre os indivíduos seria moderada. Essa possibilidade pode ser uma conseqüência genética da fragmentação de grupos locais, ou devido, a pressão do manejo por estratégias de controle da população do morcego hematófago.

Para *D. rotundus* na Amazônia a dispersão alélica e diversidade genética ainda são mantidas, principalmente, pelo bem sucedido comportamento poligâmico, e intercâmbio de indivíduos entre as colônias, associada a abundância da espécie e a irrestrita preferência

para a ocupação de nichos. Portanto, para *D. rotundus* na Amazônia, a estratégia reprodutiva também é um importante mecanismo de manutenção da diversidade genética. Já a hipótese de distância geográfica como causa das diferenças alélicas entre os grupos do Marajó e Nordeste paraense talvez seja a menos provável, mesmo sendo *D. rotundus* uma espécie não migratória, uma vez que foram encontradas diferenças significativas entre Afuá e as amostras do Baixo Amazonas e Sudoeste, em contraste à similaridade do município de Afuá com os vários grupos do Nordeste. Além disso, os casos de Raiva transmitida por morcegos em Portel e Vizeu, respectivamente, em 2004 e 2005, foram identificados quanto as variantes como pertencentes a linhagens distintas (Barbosa *et al.* 2007, 2008) .

Barbosa *et al.* (2008) e Castillo *et al.* (2010), ao estudar a composição molecular das cepas virais de Portel e Vizeu dos focos de 2004 e 2005, já haviam proposto a separação dos mesmos. O vírus, transmitido por *D. rotundus*, constituiu um nicho singular no Marajó, haja vista, a linhagem ter-se estabelecido nessa área há mais de 100 anos, ou seja, bem antes das demais cepas encontradas, no nordeste paraense (Barbosa *et al.* 2008). Os morcegos são reservatórios naturais da variante VAg3 do *Lyssavirus* (Dimitrov *et al.* 2007), através dos quais ocorre a migração epizootica da Raiva a uma taxa de 40-50 km/ano (Diego & Valotta 1973). Os resultados apresentados na matriz de distância genética do vampiro comum, embora não significativos, demonstram equivalência nos valores de *Fst* entre Capanema, Tracuateua e Bragança. Por conseguinte, ambos os valores *Fst* e *Rst*, apoiaram uma maior divergência entre Bragança e Augusto Corrêa, mas não entre este último município e Vizeu. É importante ressaltar que não foram registrados casos de Raiva paralítica humana em Bragança, sendo que as notificações se confirmaram em Augusto Corrêa, e no ano seguinte, em municípios próximos a Vizeu, no Estado do Maranhão. Com relação ao Marajó, os casos de Raiva ficaram limitados a Portel, talvez devido a ocorrência de subnotificações.

Por fim, o presente trabalho sugere que o conhecimento da diversidade genética em *D. rotundus* possa servir como indicador de tamanho populacional através da variabilidade alélica bem definida, bem como apontar tendências na variação genética e conservação de grupos em áreas fragmentadas. Para o controle da Raiva, o tamanho populacional do agente transmissor pode sugerir a extensão de uma infecção por VAg3, indicando a diferentes estratégias de controle em áreas com alta e baixa densidade populacional do morcego vampiro comum.

### **Referências bibliográficas**

- Acha P N & A Malaga-alba. 1988. Economic losses due to *Desmodus rotundus*. Pp. 207-214. In: Greenhall A M & U Schimdt (eds). **Natural history of vampire bats**. Roca Raton, CRC Press, 246p.
- Ayres M, M Ayres-Jr., D L Ayres, & A S Santos. 2007. **BioEstat 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil de Mamirauá, Belém, 364 p.
- Barbosa T S, E S Travassos da Rosa, D B A Medeiros, L M N Casseb, A S Pereira, A L. Begot, R J S Lima, M R T Nunes & P F C Vasconcelos. 2007. Epidemiologia molecular do vírus da Raiva no estado do Pará no período de 200 a 2005: emergência e transmissão por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*). **Caderno de Saúde Coletiva**, 15(3):329-348.
- Barbosa T S, D B A Medeiros, E S T da Rosa, L M N Casseb, R Medeiros, A S Pereira , A C R. Vallinoto, M Vallinoto, A L Begot, R J S Lima, P F C Vasconcelos & M R T Nunes. 2008. Molecular epidemiology of rabies virus isolated from different sources during a bat-transmitted human outbreak occurring in Augusto Correa municipality, Brazilian Amazon. **Virology**, 370:228-236.

- Brass D A. 1994. **Rabies in Bats**. Natural History and Public Health Implications. Livia Press, Ridgefield, 352p.
- Bredt A, F A AAraujo, J Caetano-Jr, M G R Rodrigues, M Yoshikawa, M M S Silva, N M S Harmani, P N T Massunaga, S P Burer, V A R Porto & W Uieda. 1998. **Morcegos em áreas urbanas e rurais: Manual de manejo e controle**. Brasília, Fundação Nacional de Saúde, 117p.
- Brown E B. 1994. **Vampiro: the vampire bat in factandfantasy**. High-Lonesome Books, Silver City, 148p.
- Castillo J G, P Carnielli Jr, E A Durymanova, W O Fahi, R N Oliveira, C I Macedo, E S Travassos da Rosa, A Mantilla, M L Carrieri & I Kotait. 2010. Human rabies transmitted by vampire bats: antigenic and genetic characterization of rabies vírus isolates from the Amazon region (Brazil and Ecuador). **Virus Research**, 153(1):100-105.
- Costa P. 2011. **Ecologia molecular de *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae) no parque estadual de Campinhos, Paraná, Brasil**. Dissertação apresentada a pós-graduação em Zoologia, Universidade Federal do Paraná. (Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/25588/POLLYANA%20P%20COSTA%20Ecologia%20Molecular%20de%20Desmodus%20rotundus.pdf?sequence=1>)
- Dalquest W W. 1955. Natural history of the Vampire Bats of Eastern México. **American Midland Naturalist** 53(1):79-87.
- Diego A & J R Valotta. 1973. Rabia transmitida por mucielagos. Situationenla Republica Argentina. **Revista de Medicina Veterinaria**, Argentina. 54(4):275.

- Dimitrov D T, T G Hallan, C E Rupprecht, A S Turmelle & G F MacCracken. 2007. Integrative models of bat rabies immunology, epizootiology and disease demography. **Journal of Theoretical Biology**, 245:498–509.
- Ditchfield A D. 2000. The comparative phylogeography of neotropical Mammals: patterns of intraspecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to nonvolant small mammals. **Molecular Ecology**, 9:1307-1318.
- Excoffier, L G Laval & S Schneider . 2006. Arlequin ver. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50. Disponível em URL: <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>.
- Findley J S. 1993. **Bats: a Community Perspective**. Cambridge studies in ecology. Cambridge University Press, 167p.
- Frankham R, J D Ballou & D A Briscoe. 2008. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, Holos Editora e SBG (Sociedade Brasileira de Genética), 280p.
- Futuyma D J. 1992. **Biologia evolutiva**. 2.ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de genética - SBG, 631p.
- Gomes M N & W Uieda. 2004. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 21(3):629–638.
- Gomes M N, W Uieda & M R D O Latorre. 2006. Influência do sexo de indivíduos da mesma colônia no controle químico das populações de morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Phyllostomidae) no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 26(1):38-43.
- Goudet J. 2002 FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2). Lausanne: University of Lausanne, Department of Ecology

& Evolution. Disponível em: <<http://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm>>.

Acesso em: 21 mar.

Greenhall A M, G Joermann & U Schmidt 1983. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**, 202:1–6.

Guo S W & E A Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, 48:361–372.

Hartl D L & A G Clark. 1997. **Principles of population genetics**. 3rd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates.

Heywood V H & J M Iriondo. 2003. Plant conservation: Old problems, new perspectives. **Biological Conservation**, 113:321-335.

Holmes E C, C H Woelk, R Kassis & H A Bourhy. 2002. Genetic Constraints and the Adaptive Evolution of Rabies Virus in Nature. **Virology**, 292:247-257

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2010. Área territorial oficial: consulta por unidade da federação. <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/principal.shtm> (acessado em 18/10/2010).

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). 2010. **TerraView** 3.3.1. São José dos Campos, SP:..Disponível em: [www.dpi.inpe.br/terraview](http://www.dpi.inpe.br/terraview). Acesso em: 12/02/2010.

Jones J K Jr & D C Carter. 1976. Annotated checklist with keys to subfamilies and genera. In: Baker R J, J K Jones Jr & D C Carter (eds). Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae. Part I. **Special Publication of The Museum, Texas Tech University**, 10: 7-38.

Jarne P & P J L Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. **Trends in Ecology and Evolution**, 11:424-429.

Kalinowski S T. 2005. HP-Rare: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic diversity. **Molecular Ecology**. Notes, 5:187-189.

- Koopman K F. 1988. Systematics and distribution, Pp. 7-17. In: Greenhall A M & U Schmidt (eds.). **The natural history of vampire bats**. Boca Raton, CRC Press, 245p.
- Lord R D, F Muradali & L Lazaro. 1976. Age composition of vampire (*Desmodus rotundus*) bats in northern Argentina and southern Brazil. **Journal of Mammalogy**, 57:573-575.
- Málaga-Alba A. 1954. Vampire bat as a carrier of rabies. **American Journal Public Health**, 44:909-918. 10.
- Mann C S & S Aulagnier. 1993. Biométrie crânienne et brachiale de *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae) de Guyane Française. **Mammalia**, 57(4):590-599.
- Martins F M. 2008. **Filogeografia intraespecífica do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae)**. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Biologia – Genética. 153 p.
- McCracken G F. 1987. Genetic structure of bat social groups. Pp. 281-298. In: Racey, P.A., Fenton, M.B. & Rayner, J. M. (Eds). **Recent advances in the study of bats**. Cambridge. Cambridge University Press.
- Osgood W H. 1943. The mammals of Chile. **Field Museum of Natural History, Zoological Series**, 30(1):3-268.
- Ott J. 1992. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping. **American Journal of Human Genetics**, 51:283-290.
- Peakall R & P E Smouse. 2006. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology**. Notes, 6:288-295.
- Piaggio A J, J J Johnston, S L Perkins & A Usda. 2008. Development of polymorphic microsatellite loci for the common vampire bat, *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Molecular Ecology Resources**, 8:440–442

- Schmidt U. 1978. **Vampirfledermäuse**, Ziemsen, Wittenberg Lutherstadt, 99p.
- Schmidt C. 1988. Reproduction. Pp. 99-110. In: Greenhall A M & U Schmidt (Eds.) In: **Natural history of vampire bats**. Boca Raton, CRC Press, 245p.
- Souza L M F I, P Y Kageyama & A M Sebbenn. 2004. Genetic structure in fragmented populations of *Chorisia speciosa* St Hil. **Scientia Forestalis**, 65:70-79.
- Sunnucks P & Hales D F. 1996. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I–II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera:Aphididae). **Molecular Biology and Evolution**, 13:510–523.
- Uieda W. 1987. Morcegos hematófago e a Raiva dos herbívoros no Brasil. **Anais do Seminário de Ciências da Faculdades Integradas de Uberaba, FIUBE**, 1:13-29.
- Uieda W, M M Hayashi, L H Gomes & M M S Silva. 1996. Espécies de quirópteros diagnosticadas com Raiva no Brasil. **Boletim do Instituto Pasteur**, 2(1):17-36.
- Weir B S & C C Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, 38:1358–1370.
- Wilkinson G S. 1985a. The social organization of the common vampire bat. II. Mating system, genetic structure, and relatedness. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 17:123-134.
- Wilkinson G S. 1985b. The social organization of the common vampire bat. I. Pattern and cause of association. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 17:111-121.
- Wilkinson G S. 1988. Social organization and behavior. Pp. 85-97. In: Greenhall A M & U Schmidt (eds), **Natural history of vampire bats**. Boca Raton, CRC Press, 246p.
- Wimsatt W A. 1969. Transient behavior, nocturnal activity patterns, and feeding efficiency of vampire bats (*Desmodus rotundus*) under natural conditions. **Journal of Mammalogy**, 50:233–244.
- Wright S. 1978. **Evolution and the Genetics of Populations vol. 4, Variability Within and Among Natural Populations**. University of Chicago Press, Chicago, IL.

## **ANEXOS**

**Anexo - 1.** Principais frequências alélicas/localidade encontradas para *Desmodus rotundus* da Amazônia utilizando-se 8 loci de microsatélites. Em destaque (sombreado) os alelos únicos ou exclusivos. As siglas representam os seguintes locais: JURQ (Juruti), OB (Óbidos), ORX (Oriximiná), STM (Santarém), AJU (Limoeiro do Ajurú), AF (Afuá), BRE (Breves), PTL (Portel), TRC (Tracuateua), VZU (Viseu), AG (Augusto Corrêa), BRG (Bragança), CAP (Capanema), ITB (Itaituba), JAC (Jacareacanga), RED (Redenção), TUC (Tucuruí), Tocantins (TO), Amazonas (AM), Amapá (AP) e Maranhão (MA).

LOCO	ALELO	FREQUÊNCIAS ALÉLICAS																				Total	
		AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU		TO
A08	162	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	164	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	166	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	174	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00
	176	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.06	0.03	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	178	0.00	0.00	0.00	0.14	0.07	0.06	0.08	0.00	0.05	0.00	0.00	0.28	0.00	0.12	0.14	0.07	0.00	0.19	0.05	0.05	0.10	0.09
	180	0.00	0.00	0.00	0.04	0.14	0.00	0.03	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.07	0.00	0.13	0.00	0.05	0.00	0.04
	182	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.06	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.02
	184	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.01
	186	0.00	0.08	0.00	0.04	0.21	0.00	0.05	0.00	0.09	0.10	0.08	0.04	0.00	0.00	0.00	0.05	0.13	0.05	0.00	0.00	0.04	0.04
	188	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.00	0.08	0.09	0.08	0.04	0.04	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.20	0.03
	190	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.16	0.10	0.08	0.00	0.08	0.00	0.04	0.00	0.09	0.00	0.00	0.05	0.00	0.04
	192	0.07	0.17	0.00	0.00	0.00	0.06	0.05	0.14	0.07	0.00	0.08	0.00	0.00	0.12	0.16	0.07	0.00	0.00	0.25	0.05	0.00	0.07
	194	0.00	0.08	0.25	0.04	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.04	0.06	0.00	0.27	0.00	0.00	0.14	0.00	0.04
	196	0.21	0.17	0.13	0.36	0.14	0.17	0.21	0.00	0.05	0.00	0.17	0.22	0.08	0.12	0.08	0.14	0.14	0.06	0.05	0.14	0.10	0.14
	198	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.02	0.10	0.08	0.09	0.08	0.00	0.08	0.00	0.05	0.00	0.10	0.00	0.10	0.04
	200	0.07	0.00	0.13	0.00	0.00	0.11	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.02
	202	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.06	0.10	0.05	0.10	0.03
	204	0.00	0.08	0.13	0.00	0.00	0.11	0.05	0.00	0.02	0.30	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.05	0.06	0.05	0.09	0.00	0.04
	206	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.02	0.17	0.04	0.02	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.10	0.02
	208	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.05	0.10	0.08	0.04	0.08	0.12	0.02	0.00	0.09	0.00	0.00	0.05	0.00	0.04
	210	0.00	0.08	0.25	0.00	0.00	0.06	0.05	0.29	0.00	0.00	0.00	0.02	0.08	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	212	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.00	0.10	0.00	0.00	0.02
	214	0.07	0.00	0.13	0.00	0.07	0.06	0.05	0.00	0.02	0.00	0.08	0.02	0.00	0.04	0.04	0.14	0.09	0.25	0.05	0.09	0.00	0.05
	216	0.07	0.00	0.00	0.04	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.06	0.07	0.05	0.00	0.00	0.14	0.00	0.03
	218	0.21	0.00	0.00	0.04	0.07	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.25	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.03
	220	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	222	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.02	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	224	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.14	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01

Continua

LOCO	ALELO	AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU	TO	Total
A08	<b>226</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.07	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	<b>228</b>	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>230</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>232</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>234</b>	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.10	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	<b>236</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>238</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.10	0.00	0.00	0.00	0.04	0.02	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.10	0.01
	<b>240</b>	0.00	0.08	0.00	0.14	0.00	0.00	0.05	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.03
	<b>242</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
B03	<b>202</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>212</b>	0.00	0.25	0.17	0.00	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.06	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	<b>214</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>216</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>218</b>	0.07	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.04	0.06	0.08	0.02	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	<b>220</b>	0.21	0.00	0.00	0.25	0.13	0.22	0.09	0.21	0.23	0.29	0.30	0.17	0.06	0.19	0.09	0.00	0.00	0.19	0.18	0.25	0.00	0.16
	<b>222</b>	0.00	0.13	0.17	0.14	0.13	0.17	0.18	0.29	0.00	0.07	0.20	0.15	0.06	0.08	0.09	0.17	0.07	0.13	0.00	0.25	1.00	0.11
	<b>224</b>	0.36	0.50	0.33	0.36	0.31	0.22	0.35	0.14	0.23	0.14	0.20	0.35	0.31	0.31	0.26	0.25	0.36	0.44	0.23	0.08	0.00	0.28
	<b>226</b>	0.14	0.13	0.33	0.18	0.06	0.00	0.24	0.07	0.37	0.21	0.10	0.17	0.25	0.19	0.22	0.25	0.29	0.13	0.23	0.13	0.00	0.21
	<b>228</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.01
	<b>230</b>	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>236</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	<b>238</b>	0.07	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.07	0.10	0.00	0.00	0.00	0.02	0.17	0.04	0.00	0.05	0.04	0.00	0.03
	<b>240</b>	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.22	0.09	0.07	0.00	0.00	0.10	0.02	0.00	0.08	0.11	0.08	0.04	0.06	0.00	0.08	0.00	0.05
	<b>242</b>	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.02	0.00	0.00	0.04	0.00	0.04	0.02	0.00	0.07	0.00	0.23	0.00	0.00	0.03
	<b>244</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.06	0.00	0.14	0.03	0.00	0.00	0.02	0.06	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.05	0.00	0.00	0.03
	<b>246</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	<b>248</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00
	<b>250</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Continua

LOCO	ALELO	AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU	TO	Total	
B10	242	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	248	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	250	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.03	0.00	0.00	0.06	0.00	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	0.06	0.06	0.00	0.00	0.02
	252	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.06	0.00	0.00	0.00	0.01
	254	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00
	256	0.00	0.00	0.33	0.11	0.06	0.00	0.05	0.14	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.07	0.06	0.17	0.15	0.38	0.06	0.06
	258	0.07	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.21	0.00	0.06	0.31	0.00	0.15	0.00	0.08	0.25	0.14	0.32	0.06	0.06	0.00	0.00	0.00	0.12
	260	0.07	0.10	0.17	0.07	0.17	0.25	0.02	0.07	0.00	0.00	0.08	0.10	0.06	0.15	0.04	0.07	0.04	0.13	0.06	0.15	0.13	0.07	0.07
	262	0.29	0.40	0.00	0.25	0.22	0.06	0.17	0.00	0.23	0.06	0.33	0.06	0.19	0.08	0.23	0.43	0.14	0.00	0.17	0.15	0.38	0.18	0.18
	264	0.14	0.10	0.17	0.18	0.17	0.13	0.12	0.36	0.22	0.31	0.33	0.25	0.44	0.27	0.15	0.00	0.21	0.25	0.28	0.10	0.13	0.20	0.20
	266	0.21	0.20	0.00	0.00	0.06	0.25	0.02	0.29	0.25	0.13	0.00	0.06	0.00	0.19	0.12	0.14	0.04	0.06	0.11	0.15	0.00	0.12	0.12
	268	0.00	0.00	0.17	0.04	0.00	0.00	0.12	0.07	0.09	0.06	0.08	0.02	0.19	0.04	0.00	0.21	0.07	0.00	0.06	0.00	0.00	0.06	0.06
	270	0.07	0.10	0.17	0.14	0.11	0.06	0.12	0.07	0.00	0.00	0.08	0.21	0.06	0.12	0.06	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07
	272	0.07	0.00	0.00	0.07	0.17	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.08	0.08	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04
	274	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.25	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.06	0.04	0.00	0.00	0.00	0.31	0.00	0.25	0.00	0.04	0.04
	276	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C07	148	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	150	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	152	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.01	0.01
	154	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.07	0.08	0.02	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.06	0.07	0.00	0.25	0.00	0.04	0.00	0.04	0.04
	156	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.14	0.08	0.05	0.06	0.00	0.06	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.04	0.04
	158	0.29	0.33	0.13	0.12	0.06	0.00	0.14	0.00	0.07	0.06	0.17	0.18	0.31	0.35	0.10	0.07	0.17	0.06	0.18	0.13	0.13	0.14	0.14
	160	0.64	0.33	0.38	0.27	0.63	0.44	0.31	0.42	0.55	0.50	0.67	0.32	0.25	0.35	0.34	0.50	0.70	0.13	0.36	0.29	0.50	0.41	0.41
	162	0.00	0.17	0.00	0.08	0.00	0.00	0.17	0.08	0.30	0.19	0.08	0.06	0.13	0.04	0.22	0.21	0.07	0.00	0.00	0.08	0.00	0.12	0.12
	164	0.07	0.08	0.50	0.15	0.19	0.33	0.14	0.33	0.02	0.06	0.08	0.22	0.06	0.15	0.16	0.14	0.07	0.38	0.09	0.17	0.13	0.15	0.15
	166	0.00	0.08	0.00	0.12	0.13	0.22	0.02	0.00	0.00	0.13	0.00	0.10	0.13	0.12	0.02	0.00	0.00	0.13	0.32	0.17	0.25	0.08	0.08
	168	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	180	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00
	186	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00

Continua

LOCO	ALELO	AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU	TO	Total	
C11	122	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	128	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.00	0.02
	130	0.21	0.00	0.00	0.04	0.11	0.00	0.08	0.00	0.02	0.21	0.25	0.02	0.06	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04
	132	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.06	0.05	0.00	0.05	0.00	0.00	0.08	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	134	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.07	0.00	0.06	0.00	0.15	0.02	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
	136	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.03	0.00	0.02	0.00	0.08	0.00	0.06	0.00	0.07	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.00	0.02
	138	0.14	0.00	0.25	0.00	0.06	0.00	0.03	0.00	0.06	0.07	0.08	0.02	0.19	0.00	0.09	0.17	0.03	0.19	0.09	0.00	0.20	0.06	0.06
	140	0.21	0.08	0.00	0.00	0.11	0.17	0.05	0.00	0.03	0.21	0.08	0.08	0.00	0.08	0.02	0.08	0.10	0.06	0.09	0.13	0.30	0.07	0.07
	142	0.07	0.08	0.13	0.07	0.17	0.00	0.05	0.00	0.09	0.29	0.17	0.04	0.31	0.08	0.07	0.17	0.10	0.00	0.18	0.08	0.00	0.09	0.09
	144	0.07	0.00	0.25	0.07	0.17	0.00	0.00	0.00	0.23	0.00	0.00	0.08	0.13	0.19	0.05	0.00	0.03	0.00	0.23	0.04	0.00	0.09	0.09
	146	0.00	0.25	0.00	0.07	0.00	0.06	0.15	0.07	0.13	0.00	0.17	0.12	0.06	0.23	0.07	0.00	0.17	0.19	0.00	0.08	0.00	0.10	0.10
	148	0.00	0.00	0.13	0.14	0.00	0.06	0.05	0.00	0.00	0.00	0.08	0.08	0.06	0.12	0.07	0.25	0.10	0.00	0.05	0.17	0.10	0.07	0.07
	150	0.14	0.08	0.00	0.04	0.11	0.00	0.05	0.14	0.16	0.00	0.00	0.10	0.00	0.04	0.04	0.00	0.07	0.00	0.14	0.04	0.20	0.07	0.07
	152	0.07	0.25	0.13	0.11	0.11	0.11	0.15	0.29	0.03	0.00	0.00	0.06	0.00	0.04	0.02	0.08	0.03	0.13	0.05	0.13	0.00	0.07	0.07
	154	0.00	0.00	0.00	0.18	0.06	0.11	0.03	0.00	0.05	0.00	0.00	0.04	0.00	0.04	0.07	0.00	0.13	0.00	0.05	0.17	0.00	0.06	0.06
	156	0.00	0.25	0.00	0.04	0.06	0.17	0.10	0.14	0.00	0.14	0.08	0.10	0.06	0.04	0.07	0.00	0.03	0.13	0.05	0.00	0.20	0.07	0.07
	158	0.00	0.00	0.13	0.11	0.00	0.11	0.08	0.29	0.13	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.05	0.00	0.10	0.06	0.00	0.00	0.00	0.06	0.06
	160	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.05	0.25	0.00	0.13	0.00	0.08	0.00	0.03	0.03
	162	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.17	0.03	0.00	0.02	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.02	0.00	0.07	0.00	0.00	0.04	0.00	0.03	0.03
	164	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
	172	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C12	136	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	138	0.07	0.10	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	140	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	142	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.02	0.06	0.10	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	144	0.00	0.00	0.13	0.00	0.06	0.06	0.05	0.00	0.08	0.06	0.30	0.00	0.06	0.00	0.00	0.21	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.04	0.04
	146	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.10	0.00	0.00	0.06	0.00	0.02	0.31	0.08	0.15	0.07	0.03	0.06	0.09	0.14	0.30	0.07	0.07
	148	0.07	0.40	0.50	0.18	0.69	0.17	0.28	0.21	0.33	0.25	0.10	0.10	0.31	0.12	0.19	0.29	0.07	0.38	0.32	0.23	0.20	0.24	0.24
	150	0.07	0.20	0.00	0.25	0.00	0.17	0.15	0.00	0.00	0.00	0.10	0.34	0.00	0.23	0.06	0.07	0.23	0.00	0.00	0.36	0.00	0.13	0.13
	152	0.21	0.10	0.13	0.00	0.06	0.00	0.08	0.07	0.28	0.00	0.10	0.02	0.00	0.08	0.04	0.00	0.03	0.19	0.14	0.00	0.00	0.08	0.08

Continua

LOCO	ALELO	AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU	TO	Total	
C12	154	0.07	0.00	0.00	0.11	0.13	0.00	0.08	0.29	0.00	0.25	0.00	0.14	0.00	0.15	0.17	0.00	0.10	0.19	0.09	0.00	0.00	0.09	
	156	0.07	0.00	0.25	0.32	0.06	0.17	0.20	0.43	0.06	0.06	0.20	0.10	0.06	0.08	0.12	0.21	0.13	0.19	0.14	0.09	0.00	0.13	
	158	0.07	0.10	0.00	0.04	0.00	0.11	0.05	0.00	0.05	0.13	0.10	0.16	0.06	0.08	0.21	0.07	0.27	0.00	0.14	0.14	0.00	0.10	
	160	0.00	0.10	0.00	0.04	0.00	0.22	0.00	0.00	0.13	0.13	0.00	0.12	0.06	0.08	0.04	0.07	0.13	0.00	0.00	0.00	0.50	0.08	
	162	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.01
	166	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D02	187	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	NA	0.01	
	189	0.07	0.60	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.14	0.00	0.20	0.00	0.08	0.00	0.07	0.00	0.05	0.00	0.20	0.00	NA	0.07	
	191	0.07	0.10	0.00	0.11	0.17	0.00	0.03	0.17	0.09	0.00	0.00	0.03	0.08	0.08	0.27	0.14	0.00	0.19	0.05	0.00	NA	0.09	
	193	0.21	0.10	0.00	0.14	0.17	0.00	0.17	0.00	0.07	0.30	0.30	0.06	0.25	0.00	0.11	0.14	0.20	0.19	0.10	0.15	NA	0.12	
	195	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.28	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.08	0.15	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.15	NA	0.05	
	201	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.10	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NA	0.01	
	203	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.06	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.08	0.08	0.02	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	NA	0.03	
	205	0.07	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.10	0.11	0.00	0.00	0.02	0.14	0.00	0.06	0.00	0.05	NA	0.03	
	207	0.21	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.07	0.00	0.24	0.00	0.10	0.17	0.17	0.04	0.07	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	NA	0.08	
	209	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	0.06	0.03	0.00	0.19	0.30	0.00	0.00	0.00	0.19	0.00	0.07	0.05	0.13	0.05	0.00	NA	0.07	
	211	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.17	0.07	0.25	0.02	0.10	0.20	0.06	0.00	0.08	0.07	0.00	0.15	0.13	0.00	0.05	NA	0.07	
	213	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NA	0.01	
	215	0.00	0.00	0.00	0.11	0.08	0.06	0.03	0.00	0.09	0.00	0.00	0.14	0.08	0.08	0.07	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	NA	0.06	
	217	0.07	0.10	0.00	0.00	0.08	0.00	0.07	0.08	0.00	0.10	0.10	0.08	0.00	0.00	0.07	0.14	0.00	0.06	0.00	0.05	NA	0.04	
	219	0.00	0.00	0.17	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.05	0.00	0.00	0.06	0.35	0.05	NA	0.03	
	221	0.00	0.10	0.00	0.04	0.08	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	NA	0.02	
	223	0.00	0.00	0.33	0.07	0.25	0.11	0.07	0.17	0.05	0.10	0.00	0.14	0.00	0.12	0.02	0.14	0.10	0.13	0.10	0.30	NA	0.10	
	225	0.07	0.00	0.00	0.07	0.08	0.06	0.10	0.00	0.02	0.00	0.00	0.03	0.08	0.08	0.07	0.07	0.20	0.00	0.05	0.05	NA	0.06	
227	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.08	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.05	0.06	0.00	0.00	NA	0.01		
229	0.00	0.00	0.33	0.04	0.00	0.00	0.13	0.08	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	NA	0.03		
231	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NA	0.00		
233	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.08	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	NA	0.01		
235	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NA	0.01		
237	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	NA	0.00		

Continua

LOCO ALELO	AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU	TO	Total
D12 <b>98</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00
<b>100</b>	0.00	0.25	0.13	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	0.04	0.00	0.02
<b>102</b>	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.06	0.08	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13	0.00	0.02
<b>104</b>	0.08	0.17	0.13	0.00	0.22	0.00	0.05	0.29	0.18	0.07	0.08	0.04	0.19	0.00	0.13	0.07	0.04	0.19	0.09	0.00	0.10	0.10
<b>106</b>	0.58	0.17	0.13	0.25	0.28	0.06	0.18	0.29	0.53	0.50	0.42	0.26	0.44	0.65	0.32	0.29	0.50	0.25	0.27	0.13	0.00	0.33
<b>108</b>	0.08	0.08	0.00	0.25	0.00	0.22	0.25	0.07	0.05	0.36	0.25	0.20	0.06	0.00	0.04	0.07	0.14	0.06	0.09	0.21	0.10	0.12
<b>110</b>	0.00	0.00	0.13	0.07	0.06	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13	0.00	0.12	0.00	0.00	0.07	0.13	0.00	0.08	0.00	0.04
<b>112</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	0.01
<b>114</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.01
<b>116</b>	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.21	0.04	0.13	0.09	0.13	0.30	0.04
<b>118</b>	0.08	0.17	0.25	0.00	0.22	0.11	0.03	0.21	0.02	0.00	0.08	0.02	0.13	0.00	0.22	0.36	0.00	0.06	0.23	0.00	0.10	0.09
<b>120</b>	0.08	0.00	0.25	0.14	0.06	0.00	0.10	0.00	0.13	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.10	0.07
<b>122</b>	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.28	0.18	0.00	0.05	0.00	0.08	0.13	0.00	0.15	0.07	0.00	0.11	0.00	0.05	0.17	0.10	0.09
<b>124</b>	0.00	0.08	0.00	0.04	0.00	0.11	0.03	0.00	0.03	0.07	0.00	0.04	0.06	0.00	0.02	0.00	0.07	0.06	0.14	0.00	0.00	0.04
<b>126</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.01
<b>128</b>	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>130</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

**Anexo - 2.** Distâncias genéticas par-a-par dos oito Locos Microssatélites nas populações de *D. rotundus*. Matriz inferior representando os valores de *Fst* com significância em destaque (sombreado cinza com valores em negro) para  $p < 0.001$ . Matriz superior representando os valores de *Rst* com significância destaque (sombreado cinza escuro e valores em cor branca) para  $p < 0.001$ .

	AM	AP	MA	AF	AG	BRG	BRE	CAP	ITB	JAC	JURQ	AJU	OB	ORX	PTL	RED	STM	TRC	TUC	VZU	TO
AM	0.000	0.174	0.064	0.216	-0.010	0.334	0.079	0.466	0.129	0.041	-0.080	0.144	-0.068	0.081	0.043	0.152	0.291	0.086	0.099	0.203	0.199
AP	0.025	0.000	0.041	0.024	0.040	0.143	0.060	0.088	-0.026	0.192	0.158	0.032	0.131	0.046	0.054	0.030	0.042	-0.060	0.165	-0.030	
MA	0.065	0.009	0.000	-0.019	-0.012	0.090	-0.064	0.224	-0.019	0.028	0.062	-0.051	0.050	-0.032	-0.048	-0.043	0.022	-0.063	-0.066	-0.019	-0.060
AF	0.050	0.000	0.016	0.000	0.108	0.040	0.025	0.049	0.037	0.173	0.179	-0.001	0.170	0.061	0.035	-0.045	-0.005	0.004	0.059	-0.003	-0.002
AG	0.041	-0.014	-0.037	0.031	0.000	0.243	0.062	0.298	-0.002	0.029	-0.028	0.039	-0.017	-0.024	0.014	0.052	0.138	-0.024	0.082	0.077	
BRG	0.100	0.040	0.027	0.033	0.068	0.000	0.145	0.131	0.192	0.328	0.314	0.097	0.294	0.216	0.152	0.057	0.143	0.103	0.179	0.066	0.097
BRE	0.020	-0.015	0.014	-0.004	0.025	0.033	0.000	0.182	0.033	0.053	0.077	0.011	0.065	0.028	-0.011	-0.029	0.043	0.025	-0.021	0.053	-0.032
CAP	0.051	0.021	0.025	0.034	0.066	0.063	0.028	0.000	0.153	0.413	0.439	0.142	0.405	0.255	0.184	0.157	0.072	0.095	0.316	0.047	
ITB	0.020	0.035	0.088	0.076	0.053	0.119	0.050	0.064	0.000	0.104	0.068	0.012	0.077	-0.007	0.016	-0.010	0.043	-0.039	0.073	0.018	
JAC	-0.014	0.059	0.087	0.041	0.054	0.073	0.026	0.085	0.018	0.000	-0.014	0.097	0.069	0.055	0.004	0.162	0.183	0.078	0.061	0.187	0.114
JURQ	-0.019	0.048	0.101	0.029	0.062	0.098	0.021	0.086	0.017	-0.018	0.000	0.091	-0.056	0.010	0.021	0.126	0.232	0.039	0.104	0.181	0.170
AJU	0.041	-0.004	0.009	-0.012	0.017	0.027	-0.005	0.045	0.075	0.038	0.041	0.000	0.097	-0.001	-0.005	-0.039	0.023	-0.019	0.016	0.025	-0.009
OB	0.021	0.021	0.036	0.038	0.039	0.086	0.031	0.097	0.052	0.026	-0.012	0.044	0.000	0.045	0.024	0.101	0.240	0.042	0.093	0.163	0.171
ORX	0.037	0.015	0.049	0.013	0.058	0.062	0.010	0.075	0.053	0.012	0.026	0.005	0.016	0.000	-0.016	0.023	0.071	-0.027	0.039	0.068	0.063
PTL	0.031	0.021	0.009	0.016	0.030	0.049	0.007	0.031	0.055	0.030	0.024	0.018	0.045	0.044	0.000	-0.035	0.052	-0.010	-0.007	0.062	-0.015
RED	0.027	0.014	0.004	0.044	0.039	0.052	0.019	0.030	0.024	0.038	0.012	0.042	0.027	0.054	0.000	0.000	0.023	-0.047	0.027	-0.012	0.022
STM	0.041	0.040	0.094	0.022	0.078	0.068	0.016	0.072	0.041	0.003	0.008	0.030	0.073	0.022	0.032	0.027	0.000	0.018	0.106	0.027	0.052
TRC	0.086	0.034	0.000	0.037	0.054	0.031	0.040	0.030	0.136	0.094	0.114	0.030	0.086	0.057	0.042	0.076	0.108	0.000	0.043	-0.019	0.027
TUC	0.031	0.017	-0.033	0.013	0.008	0.040	0.011	0.026	0.054	0.032	0.045	0.016	0.006	0.023	0.013	0.020	0.063	0.026	0.000	0.102	-0.046
VZU	0.074	-0.011	-0.001	0.005	0.026	0.004	0.002	0.045	0.082	0.061	0.072	0.007	0.041	0.023	0.042	0.032	0.045	0.009	0.019	0.000	0.067
TO	0.101	0.062	0.067	0.108	0.103	0.069	0.082	0.119	0.151	0.131	0.131	0.083	0.091	0.120	0.089	0.060	0.135	0.076	0.067	0.063	0.000

- As siglas com duas letras representam os seguintes Estados: Amazonas (AM), Amapá (AP), Maranhão (MA) e Tocantins (TO).
- As siglas com três letras representam os seguintes municípios do Pará: Afuá (AF), Augusto Corrêa (AG), Bragança (BRG), Breves (BRE), Capanema (CAP), Itaituba (ITB), Jacareacanga (JAC), Juruti (JURQ), Limoeiro do Ajurú (AJU), Óbidos (OB), Oriximiná (ORX), Portel (PTL), Redenção (RED), Santarém (STM), Tracuateua (TRC), Tucuruí (TUC) e Viseu (VZU).

## **CAPÍTULO 4**

**ÁREAS DE RISCO PARA A RAIVA TRANSMITIDA PELO MORCEGO  
HEMATÓFAGO *Desmodus rotundus* (Geoffroy, 1810), AO LONGO DE 1999 A  
2008, NO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA**

# ÁREAS DE RISCO PARA A RAIVA TRANSMITIDA PELO MORCEGO HEMATÓFAGO *Desmodus rotundus* (Geoffroy, 1810), AO LONGO DE 1999 A 2008, NO ESTADO DO PARÁ, AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA

Fernanda Atanaena Gonçalves de Andrade<sup>1</sup>, Murilo Gomes Novaes<sup>2</sup>, Wilson Uieda<sup>3</sup>, Alberto Begot<sup>4</sup> & Marcus Emanuel Barroncas Fernandes<sup>5</sup>

1 - Museu Paraense Emílio Goeldi/UFPA - Departamento Zoologia;

2 - Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (CDA)

3 - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita" (UNESP) - Departamento de Zoologia;

4 - Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará (Sespa) – Departamento de Endemias

5 - Universidade Federal do Pará (UFPA)/Campus de Bragança - Departamento Biologia;

## RESUMO

O presente trabalho é o primeiro delineamento do histórico de infecção pela variante antigênica VAg3 da Raiva, transmitida por *Desmodus rotundus* a bovinos e humanos. A análise se perfaz da ocorrência de casos, no Estado do Pará, região norte do Brasil. A base de dados incluiu 10 anos de monitoramento da doença pelo Departamento de Endemias (DE), da Secretaria Executiva de Saúde Pública do Pará (SESPA), sendo o diagnóstico laboratorial realizado pelo Instituto Evandro Chagas (IEC) e Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO). O banco de dados identificou que no geral, ao longo de 1999 a 2008, ocorreu um total de 306 resultados positivos de Raiva. Sendo que, um total de casos atípico de Raiva em humanos, se propagou ao longo dos anos 2004 e 2005, cujos mesmos são os períodos de maior interesse para o presente trabalho. Desse total, 87,3% foram em bovinos de 60 municípios e 12,4% em humanos oriundos de três municípios: Portel, Augusto Corrêa e Vizeu. Para bovinos a distribuição de casos esteve dentro da média anual, com certa tendência observada ao acréscimo de 3,2 casos/ano, acompanhada de um aumento não significativo no número de municípios envolvidos. No método de análise espaço-temporal sobre o desdobramento da Raiva, esse incluiu feições geográficas interpretadas por fatores de risco: ecológicos (densa cobertura vegetal), de cobertura e uso do solo (hidrografia, malha rodoviária) e socioeconômicos (densidade de hospedeiros). De acordo com outros dados, algumas das feições avaliadas, podem promover áreas de risco para a ocorrência da doença em humanos e bovinos, quando diante da presença do Lyssavirus em *D. rotundus*. No presente trabalho, as áreas de maior risco encontram-se, principalmente, ao longo do leste paraense. A compatibilização interativa dos dados da saúde e sócio-demográfico revelou que a associação entre os vários fatores aplicados é essencial ao desfecho do processo de produção da doença no Pará. Além disso, também indicou um conjunto de práticas associadas às transformações ambientais, com riscos para a saúde dos hospedeiros. Por fim, a visualização no contexto regional, de áreas e fatores com maior possibilidade de promoção ou restrição da Raiva é relevante na determinação dos quadros epidêmicos com implicações para a assistência à saúde no Estado do Pará.

**Palavras-chave:** áreas de risco, Raiva, morcegos vampiro, *Desmodus rotundus*.

## **RISK AREAS TO RABIES TRANSMITTED BY THE VAMPIRE BAT *Desmodus rotundus* (Geoffroy, 1810), ALONG 1999 TO 2008, THE IN PARA STATE, EASTERN BRAZILIAN AMAZON**

Fernanda Atanaena Gonçalves de Andrade<sup>1</sup>, Murilo Gomes Novaes<sup>2</sup>, Wilson Uieda<sup>3</sup>, Alberto Begot<sup>4</sup> & Marcus Emanuel Barroncas Fernandes<sup>5</sup>

1 - Museu Paraense Emílio Goeldi/UFPA - Departamento Zoologia;

2 - Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (CDA)

3 - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita" (UNESP) - Departamento de Zoologia;

4 - Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará (Sespa) – Departamento de Endemias

5 - Universidade Federal do Pará (UFPA)/Campus de Bragança - Departamento Biologia;

### **ABSTRACT**

This article presents a descriptive analysis of the occurrence of cases of rabies transmitted by *Desmodus rotundus* in cattle and humans in the state of Pará, Brazil. The database used included ten years of disease monitoring conducted by the Department of Endemic Diseases (DE), the Executive Secretariat of Public Health of Pará (SESP), and the diagnosis of cases under the responsibility of the Instituto Evandro Chagas (IEC) and the National Agricultural Laboratory (LANAGRO). The database from 1999 to 2008 identified 306 positive occurrences of paralytic rabies. Of this total, 87.3% were in cattle from 60 municipalities and 12.4% in humans originating from three municipalities: Portel, Augusto Corrêa and Viseu. For cattle the distribution of cases was within the annual average, with some tendency towards an increase of 3.2 cases / year and a non significant increase in the number of municipalities involved. The development of rabies includes geographical features interpreted with risk factors, including types of environment (deforestation, favorable vegetation), biological (high density of vectors, host density), land use coverage (hydrography, road network) and socioeconomic (density of human populations and cattle). These features may led to areas at risk of disease in humans and cattle in the state of Pará. Furthermore, the areas of greatest risk have spread, especially along eastern Pará. In this work, which is one of the first to delineate the causes of paralytic rabies in the rural area of northern region of Brazil, a single generator of the process of paralytic rabies was not found, due to the compatibility of the interactive health data and socio-demographic factors. In fact it appears that there are a set of practices associated with environmental changes that lead to a health risk. Finally, visualization, in a regional context, of areas most likely to promote or restrict paralytic rabies, is relevant in determining the epidemiological pattern of this disease with implications for health care in the state

**Keywords:** meso, risk areas, rabies, vampire bat, *Desmodus rotundus*.

## INTRODUÇÃO

As três espécies hematófagas de morcego da família Phyllostomidae, subfamília Desmodontinae, ocorrem na região amazônica, sendo que *Desmodus rotundus* (É. Geoffroy Saint-Hilarie, 1810), conhecida como “vampiro comum”, é a única que se alimenta preferencialmente de sangue de mamíferos (BRASS 1994). A especialização sanguívora propiciou a essa espécie o mais alto nível ecológico dentre as categorias tróficas, sendo considerada uma espécie rara em ecossistemas naturais (FLEMING *et al.* 1972, BROWN 1994).

Todavia em locais onde se faz presente rebanhos bovinos, *D. rotundus* vem tornando-se muito comum (TADDEI *et al.* 1991, UIEDA 1996). Alguns autores têm citado uma estreita relação entre a presença desses herbívoros domésticos com a população do vampiro comum (MÁLAGA-ALBA, 1954 FINDLEY 1993, BRASS 1994, BROWN 1994). De fato, esta é uma espécie versátil, que segundo HOLMES *et al.* (2002), tem sido favorecida com fáceis e fartas fontes de alimento. Isto talvez esteja elevando suas taxas de sobrevivência e de densidade populacional, principalmente, havendo disponibilidade de abrigos (SCHNEIDER *et al.* 2009).

A Raiva é uma moléstia fatal para todas as espécies de mamíferos, inclusive para o morcego hematófago, sendo que a dispersão nestes e outras espécie de quirópteros dar-se-ia através do intercâmbio entre indivíduos provenientes de diversos abrigos numa mesma área de vida (GREENHALL *et al.* 1983, ARELLANO-SOTA 1988). Portanto, em áreas naturais, seria maior a possibilidade de constante dispersão entre morcegos, onde fatores biológicos intrínsecos aos espécimes (imunológicos, fisiológicos e genéticos), bem como condicionantes extrínsecos locais (ambientais), manteriam a circulação do vírus apenas em áreas silvestres (BRASS 1994).

Na teoria dos “focos naturais” de PAVLOVSKY (1967), as doenças têm a participação do homem, quando estes promovem ações sobre a natureza originando focos, que ficariam limitados a um único panorama ambiental ou biogeográfico devido à correlação entre os fatores envolvidos. No estudo de GOMES (2009), no estado de São Paulo, Brasil, sobre a Raiva por VAg3, variante que é transmitida por *D. rotundus*, as áreas características de ambiente pecuário teriam sido fortemente influenciadas por certas condicionantes. Estas seriam representadas pela presença de áreas agrícolas, de manchas urbanas, áreas florestadas e topografia. A interação da atividade pecuária com tais fatores exerceria forte pressão sobre alguns eventos como: a distribuição do efetivo bovino, a mobilidade de *D. rotundus*, os padrões espaciais e as características de migração da epidemia. Portanto, gerando diferentes feições espaciais de risco para a Raiva bovina.

### ***Desmodus rotundus* e a Raiva**

Atualmente, no Brasil as taxas mais altas de transmissão a humanos por morcego hematófago são de acontecimentos em comunidades de áreas rurais. Os registros se concentram nos anos de 2004 e 2005, e as comunidades incluídas eram de ribeirinhos da ilha do Marajó e de áreas litorâneas no nordeste do Estado do Pará (SVS 2010). Segundo SCHNEIDER *et al.* (2009), as áreas rurais na Amazônia apresentam particularidades que diferenciam seus focos, como, por exemplo, o fato de as vítimas descreverem as espoliações como um fenômeno bastante comum. Em segundo lugar estaria a concepção sobre a Raiva pelas populações tradicionais (ribeirinhos, indígenas, pescadores, coletores e outros). Por fim, a fácil acessibilidade dos morcegos às habitações do tipo casa sem portas e janelas (TRAVASSOS DA ROSA *et al.* 2006).

SCHNEIDER *et al.* (2009) acreditam também que a ocorrência da Raiva na Amazônia envolveria fatores básicos para a manutenção da cepa viral. Tais condições incluem tanto a disponibilidade de alimento, quanto de abrigo ao transmissor. Este último elemento pode estar associado às características regionais das práticas de uso da terra que para CONFALONIERI (2005), tem gerado muitas transformações ambientais com riscos à saúde humana.

### **Dimensionamento das áreas de risco**

A análise dos eventos de Raiva envolve uma riqueza de informações regionais, demográficas, de práticas de uso da terra e de seus impactos ambientais e sociais. Portanto, o estudo do processo de infecção, em razão do dimensionamento das áreas de risco, depende de ferramentas que dêem suporte à integração da grandeza espaço-temporal da informação (DIAS *et al.* 2004). Tais mecanismos também devem permitir a análise da associação dos dados com intervenções naturais ou não naturais do ambiente (DRUCK *et al.* 2004).

Na última década, em áreas extra-amazônicas, tem sido amplamente consolidada a incorporação de tecnologia da informação em avaliações da incidência e distribuição da Raiva (MURRAY *et al.* 1986, CHILDS *et al.* 2000, SILVA *et al.* 2001, GUERRA *et al.* 2003, JONES *et al.* 2003, CASTRO e SINGER 2007, GOMES *et al.* 2007, RECUENCO *et al.* 2007, GAO *et al.* 2008). O geoprocessamento é um desses conjuntos de tecnologias, cujas atividades são executadas por sistemas específicos para cada aplicação. Estes sistemas são mais comumente tratados como Sistemas de Informação Geográfica (SIG), e tem auxiliado sobremaneira na gestão, armazenamento, análise e mapeamento de fenômenos que envolvem a saúde pública (GATRELL & BAILEY 1996).

Assim, o presente trabalho objetiva apontar áreas potenciais no Estado do Pará à circulação de cepas da variante VAg3 do *Lyssavirus*, por meio de indicadores ambientais e biológicos. Para tanto, os registros de casos foram investigadas quanto a relação dos dados quantitativos de infecção em bovinos e humanos, causada por *D. rotundus*, com as informações sobre o uso e cobertura da terra. Tal investigação visa gerar subsídios às estratégias de vigilância e controle de surtos no Pará, bem como informações relevantes à avaliação dos impactos econômicos, sociais e biológicos na história natural dessa enfermidade.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

O Estado do Pará está situado no centro leste da região norte do Brasil, sendo considerado o segundo maior Estado do país, com 1.247.689,515 km<sup>2</sup>. Além das dimensões territoriais apresenta também a maior população da região norte, com 7.321.493 habitantes, sendo que destes 60% encontra-se em áreas urbana de 144 municípios e seis mesorregiões (IBGE 2010a) (Figura 1A e B).

Dentre os principais rios do Pará estão o Tapajós, Amazonas, Trombetas, Jari, Xingu, Tocantins e Pará, cujas proximidades foram muito afetadas por atividades de desmatamento, em razão da produção extrativista e/ou agropecuária (SILVA & SILVA 2008). Na quase totalidade do Estado matas densas de terra firme típicas do bioma Amazônia eram abundantes, sendo entremeadas por um mosaico de outras formações. Como resultado do expressivo desmatamento no Pará, essa região já apresenta 1/3 das suas florestas derrubadas em 2008, principalmente no lado leste do Estado (IMAZON 2008).

Nos registros do IMAZON também se verifica a distribuição de sete grandes rodovias estaduais e federais pavimentadas, como parte da paisagem local modificada.

O clima na região é tipicamente equatorial com médias térmicas anuais de 24 a 26 °C, além de alto índice pluviométrico que alcança 2000 mm nas proximidades do rio Amazonas. Geomorfologicamente, o Estado do Pará apresenta três formações distintas no seu relevo: Planalto Norte Amazônico, Planície Amazônica e Planalto Sul-Amazônico (Figura 1C). De fato, o relevo do Estado do Pará é baixo e plano com 58% do território apresentando altitude máxima de até 200 metros, e as poucas altitudes superiores a 500 metros concentram-se especificamente em serras, como: do Tumucumaque, Acari, Carajás e Pelada (MIRANDA 2005).

### **Base de dados epidemiológicos (BDE)**

Os dados sobre *Lyssavirus* em bovinos e humanos, transmitida por morcegos hematófagos, foram cedidos pelo Departamento de Endemias (DE), da Secretaria Executiva de Saúde Pública do Pará (SESPA) e Agência de Defesa Agropecuária do Pará (ADEPARA). As informações compõem uma série histórica de casos da Raiva animal e em humanos diagnosticados do período de 1999 a 2008. A escolha de tal intervalo foi devido à presença, principalmente, de índices atípicos de casos positivos de raiva transmitida por vampiro comum a humanos. É importante enfatizar que a confirmação dos casos de Raiva de várias partes da Amazônia brasileira é rotineiramente realizada por exames específicos de responsabilidade da Seção de Raiva do Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO/Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) e da Seção de

Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas (SAARB/IEC/Ministério da Saúde).

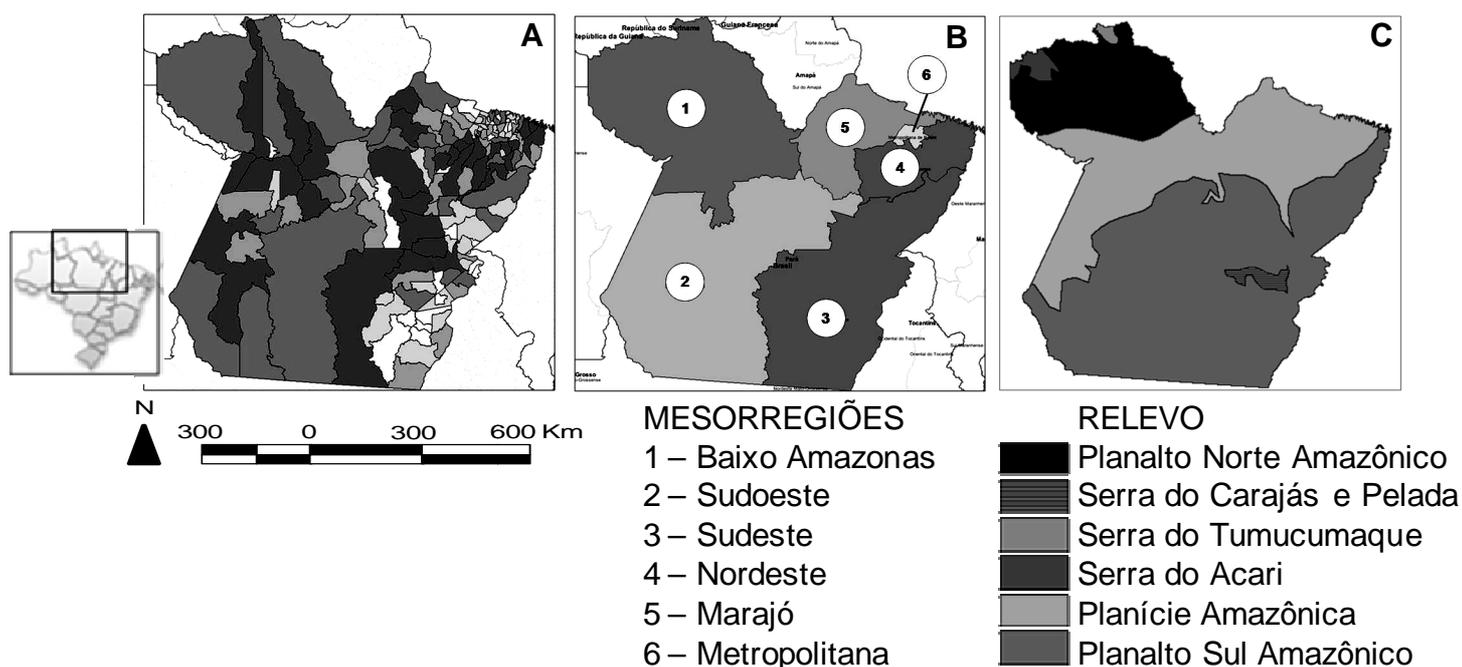
As seguintes informações para humanos e bovinos foram consideradas: i) município de ocorrência, ii) ano do registro, iii) organismo infectado e iv) fonte de contaminação. Tais informações foram organizados em um banco de dados, e os fatores ecológicos e biológicos a serem associados apresentaram base de dados georreferenciados pela fonte de origem. Na análise de casos em bovinos, dois fatores foram considerados: i) desflorestamento de 1998 a 2008 (IMAZON 2008) e ii) efetivo bovino (IBGE/PPM 1999 a 2008a). Já para humanos foram utilizados os seguintes: i) contingentes populacionais rurais (IBGE/PPM 1999 a 2008b) e ii) contingentes populacionais indígenas (FUNAI 2010). Os fatores, malha de rios e malha municipal, geraram feições compartilhadas pelas duas categorias. Estes foram os primeiros procedimentos da avaliação dos casos de Raiva em humanos e bovinos do presente trabalho, os quais foram divididos em três análises: i) análise de tendência temporal, ii) análise espacial por função de Kernel e iii) Técnica AHP (*Analytical Hierarchy Process*).

### **Estimativa de tendência temporal da base de dados**

Apenas a base de dados de bovinos foi submetida à análise de regressão linear simples, com a finalidade de estimar a tendência quantitativa do total de casos ao longo dos dez anos. A análise foi realizada no programa BioEstat 5.0 (AYRES *et al.* 2007), sendo previamente avaliada a normalidade dos dados através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Não foi possível a aplicação desse mesmo tratamento aos registros da moléstia em humanos, devido ao número de eventos ter sido restrito apenas aos anos de 2004 e 2005.

## Análise pela função Kernel

Os diagnósticos confirmados de Raiva em humanos e bovinos, ao longo de 1999 a 2008 no Pará, foram georreferenciados segundo o município de ocorrência (IBGE 2010c). Dentre o total de casos em humanos (38 ocorrências) constam 21 infecções ocorridas em Portel e Viseu, referentes aos anos de 2004 e 2005, cuja transmissão foi por mordidas de *D. rotundus*. Desse total de casos, 17 tiveram caracterização antigênica confirmando da variante VAg3 transmitida por *D. rotundus*, em localidades de Viseu (BARBOSA *et al.* 2008), Portel (TRAVASSOS DA ROSA *et al.* 2006) e Augusto Corrêa (BARBOSA *et al.* 2007).



**Figura-1.** Estado do Pará e suas respectivas divisões: política (A) mesorregional (B) e máximas altitudinais (C), segundo o modelo de Sistema de Coordenadas Geográficas e Datum WGS84 por MIRANDA (2005). Articulação compatível com a escala 1:250.000 (IBGE). Fonte: <http://www.relevobr.cnpm.embrapa.br/download/pa/pa.htm>

Em seguida, o somatório de cada dois anos de casos, foi interpolado no programa TerraView 4.0 (INPE 2010), utilizando-se a função Kernel sobre o mapa digital do Pará fornecido pelo GISMAP (2010). A finalidade foi gerar a interpretação descritiva da dispersão da Raiva nas categorias avaliadas. De acordo com GOMES (2009), a função de Kernel é uma técnica não-paramétrica que auxilia na interpretação da progressão de um acontecimento e seus grupos (*clusters*).

### **Determinação das áreas de risco pela técnica AHP**

A técnica AHP, *Analytical Hierarchy Process* (SAATY 2005), é uma análise multicritério que unifica variáveis em um sistema (CHENG *et al.* 2005, LUDWING & IANNUZZI 2006). No presente trabalho, os mapas temáticos utilizados para a análise AHP em humanos e bovinos representaram os fatores considerados para essa análise (Tabela 1). Por comparação pareada, tais mapas foram classificados pela técnica AHP segundo o nível de relevância (Baixa, Média e Alta), a qual gerou pesos relativos para cada tema (Tabela 1). Estes pesos foram testados quanto à consistência em cada categoria, podendo os mesmos variar de 0 (total consistência) a 1 (sem consistência). No geral, tais pesos relativos apresentaram alta consistência (humanos= 0,064 e bovinos=0,072), assegurando o cálculo das ponderações estipuladas com valores crescentes de 0 a 1, para as classes de cada fator (Tabela 2). Toda a etapa operacional acima descrita foi realizada no programa SPRING 5.1.5 (CAMARA *et al.* 1996).

**Tab. 1 – Fatores de risco para Raiva em humanos e bovinos, e seus respectivos pesos.**

Categoria	Mapas	Fator considerado	Método de aplicação	Pesos atribuídos
Humanos	- Buffer de rodovias	Distâncias das áreas às rodovias	Localização geográfica	0.08
	- Buffer de rios	Distâncias das áreas aos principais rios	Localização geográfica	0.08
	- Distribuição da população humana rural e indígena	Nº de habitantes	Interpolação dos dados por média ponderada	0.24
	- Densidade das localidades rurais e indígena	Nº de propriedades rurais e indígenas	Função Kernel	0.55
Bovinos	- Buffer de rodovias	Distâncias das áreas às rodovias	Localização geográfica	0.06
	- Buffer de rios	Distâncias das áreas aos principais rios	Localização geográfica	0.06
	- Distribuição do efetivo bovino	Nº de bovinos	Interpolação dos dados pelo vizinho mais próximo	0.26
	- Áreas desflorestadas	Layers de áreas desmatadas	Localização geográfica	0.57

**Tab. 2 – Ponderação estipulada dos fatores considerados.**

Fator considerado	Valor	Ponderação estipulada
Distâncias das áreas de ocorrência às rodovias e principais rios	> 100 km	0.5
	60 to 100	0.5
	30 to 60	0
	0 to 30	0
Nº de habitantes e propriedades rurais e indígenas	Low	0
	Mean I	0.5
	Mean II	0.8
Nº de bovinos	High	1
	77778 - 582416000	0.1
	582416000 - 1530576000	0.3
	1530576000 - 3900761000	0.5
Área desmatada	3900761000 - 12597414000	0.8
	143 km <sup>2</sup>	1

## RESULTADOS

### Estimativas de tendência da Raiva no Pará

O banco de dados revelou um total de 306 diagnósticos positivos de Raiva, transmitida por morcegos, ao longo de 1999 a 2008 no Estado do Pará. Uma proporção de 87,3% dessas infecções foi em bovinos de 60 municípios, sendo que destes, apenas dez apresentaram mais de seis notificações (Tabela 3). O restante dos casos de infecção foi em humanos nos municípios de Portel, Augusto Corrêa e Vizeu. Para bovinos no estado, cujos dados apresentaram distribuição normal ( $p > 0,05$ ), a análise de regressão mostrou uma tendência ao acréscimo de 3,2 casos/ano ( $r^2 = 0,41$ ;  $F = 5,6$ ;  $p < 0,05$ ;  $n = 267$ ), diante de uma constância na distribuição espacial da doença ( $r^2 = 0,12$ ;  $F = 1,1$ ,  $p > 0,05$ ) - Figura 2.

Portanto o trabalho foi realizado apenas com os casos positivos de VAg3 em humanos e bovinos. Mas é importante citar que existe a possibilidade de interferência das subnotificações, principalmente, devido as localidades de difícil acesso. Nesse caso, se faz necessária uma investigação voltada apenas a estimativa dessas subnotificações no Estado do Pará.

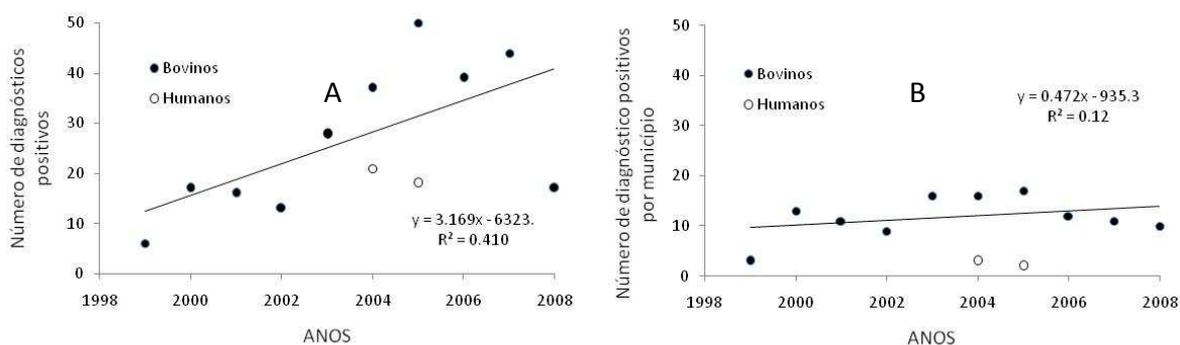
### Dispersão e intensidade da Raiva em humanos e bovinos

No período de 1999 a 2008, a propagação da Raiva transmitida por *D. rotundus* envolveu mais a porção leste do Pará (Figura 3). Em humanos, os registros iniciais são de VAg2 cuja transmissão se dá por cães e gatos (Figura 3A e B), por conseguinte, a partir de 2003 foram por VAg3 transmitida por morcego hematófago *D. rotundus* (Figura 3C). Este evento coincidiu com a menor da intensidade de casos em bovinos no Marajó e aumento da densidade no nordeste paraense (Figura 3C). No intervalo seguinte, ocorreu convergência de zonas

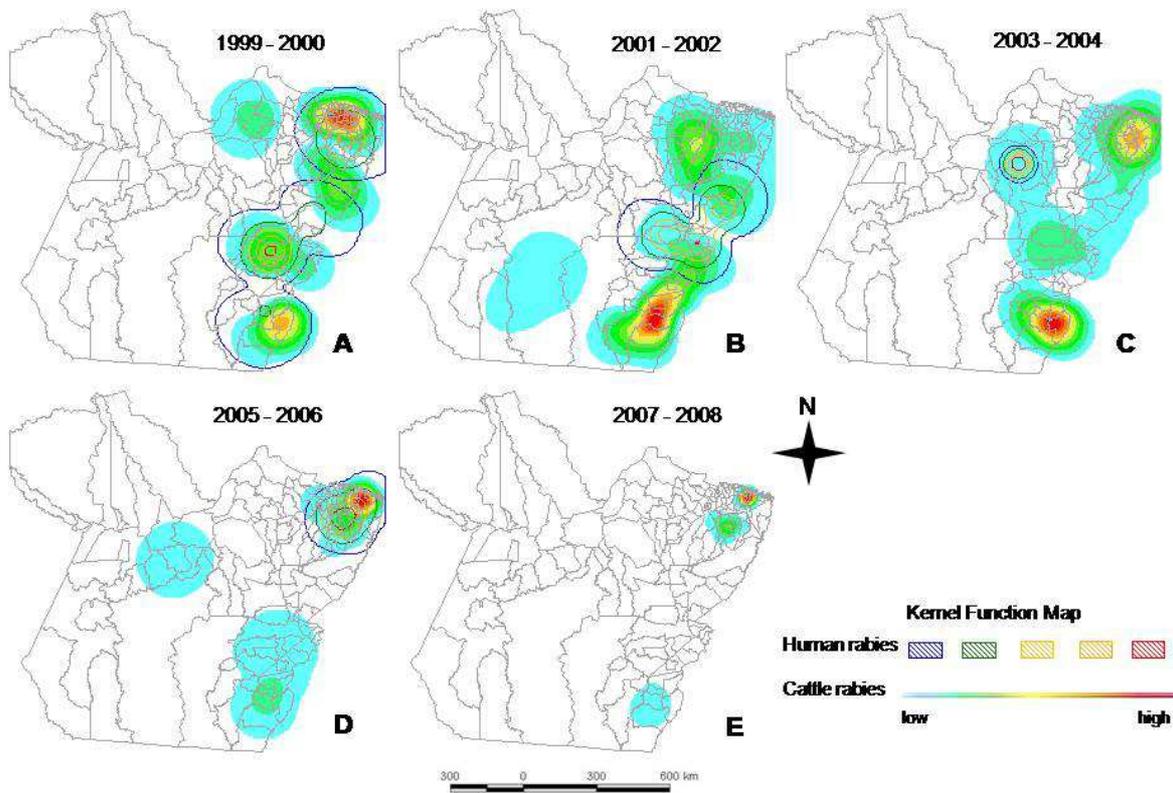
quentes, ou seja, de alta intensidade de casos, em humanos e bovinos (Figura 3D).

**Tab. 3** – Municípios e suas respectivas mesorregiões, com as maiores taxas de diagnóstico positivo de Raiva em **bovinos**, ao longo de 1999 a 2008 no Estado do Pará.

Município	Mesorregião	Nº de diagnóstico positivo
Augusto Corrêa	Nordeste	14
Bragança	Nordeste	21
Capitão Poço	Nordeste	10
Conceição do Araguaia	Sudeste	17
Mãe do rio	Nordeste	8
Medicilândia	Sudoeste	8
Redenção	Sudeste	17
Viseu	Nordeste	15
Tracuateua	Nordeste	37
Ulianópolis	Sudeste	7
TOTAL		154



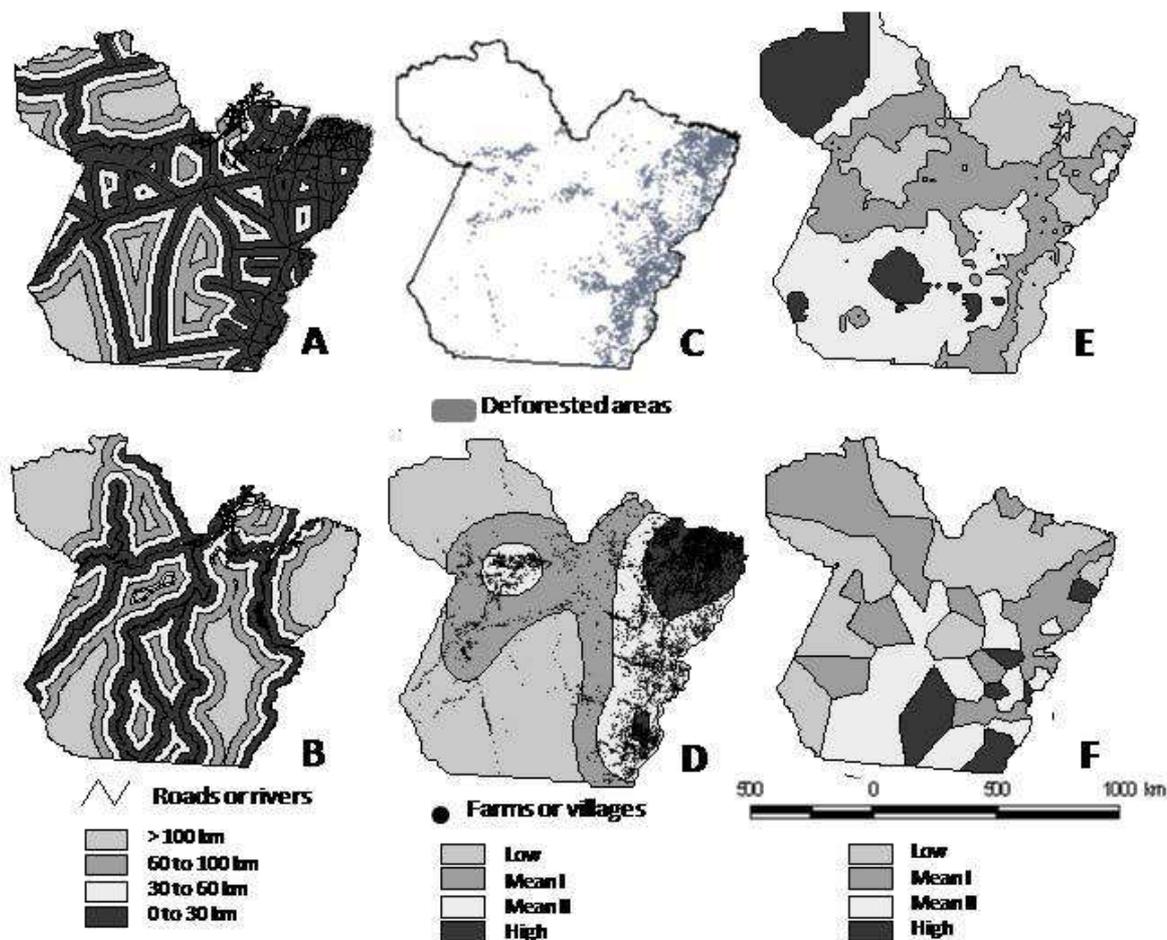
**Figura-2.** Tendências dos diagnósticos positivos da variante antigênica 3 (VAg3) em bovinos quanto a: (A) temporalidade de registros positivo/ano e (B) o número de municípios afetados/ano no estado do Pará, Brasil. A representação de humanos é ilustrativa e não está inserida nos cálculos da análise.



**Figura-3.** Distribuição espacial da Raiva bovina no Pará ao longo dos anos de 1999 a 2008.

### Áreas de risco geradas pela técnica AHP

Os mapas temáticos gerados para representar os fatores a serem integrados, estão disponíveis na Figura 4. A caracterização das áreas de risco, a partir desses mapas, originou um mosaico de baixo, médio e alto risco para a transmissão das cepas de VAg3 por *D. rotundus* (Figura 5). No geral, as manchas de alto risco, para bovinos e humanos, propagam-se mais intensamente ao longo do lado leste paraense. De acordo com os fatores considerados para esta análise, nessas regiões estão concentradas vastas áreas de desmatamento, bem como os maiores rebanhos e numerosas rodovias.

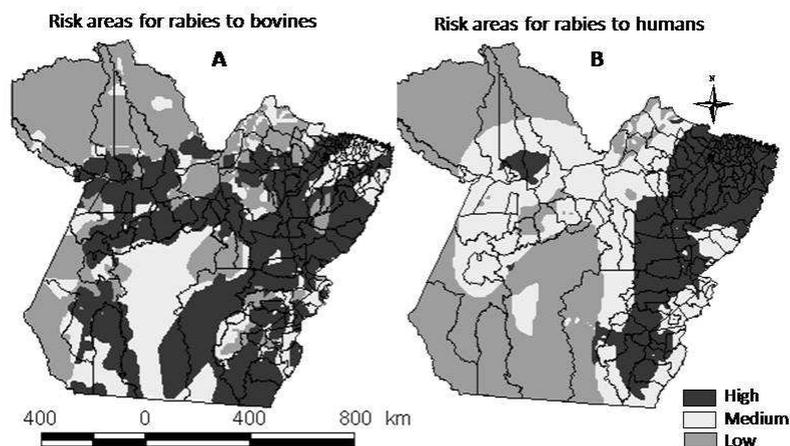


**Figura-4.** Mapas temáticos das áreas de risco para a zoonose Raiva no Estado do Pará, Brasil. (A) Buffer de rodovias (B) Buffer de rios, (C) áreas desflorestadas, (D) ambientes rurais e indígenas por interpolação da técnica de Kernel, (E) Interpolação do contingente humano rural e indígena e (F) Interpolação do efetivo bovino.

De maneira menos dispersas, as áreas de alto risco para bovinos distribuíram-se em manchas do lado oeste do Estado, nas proximidades de grandes rios e rodovias. Talvez estas sejam áreas silenciosas para a Raiva, devido a vigilância ineficiente. Ainda nessa categoria, considerando as áreas de nível médio, a maior concentração ocorreu no centro do Estado, principalmente, onde está localizado o município de Altamira. Em 2008, esse município esteve entre os locais prioritários do Plano de Prevenção, Controle e Alternativas ao Desmatamento do Estado do Pará (IOEPA 2009). Já as manchas de baixo risco,

estas foram observadas na fronteira do Pará com os Estados do Amapá e Amazonas. É importante ressaltar que a Figura 3, que mostra a distribuição espacial da Raiva bovina e a Figura 4F, que apresenta os fatores de risco do efetivo bovino (com alto e médio riscos), representa a confluência entre a concentração dos grandes rebanhos bovinos e a elevada densidade de casos de Raiva desses herbívoros foi observada somente para a mesorregião Sudeste.

Em humanos, a elevada concentração de áreas de alto risco foi no leste do Pará, onde se sobrepôs às condicionantes: i) malha rodoviária e ii) densidade de ambientes rurais e indígenas. Já as áreas de médio risco, estas suplantaram boa parte do Noroeste do Estado, acompanhando a malha dos grandes rios, como, por exemplo, o Xingu e o Amazonas. Entretanto, não expandindo sua abrangência até a porção Sudoeste, ou seja, onde se localiza o município de Altamira, sendo, por isso, caracterizada como uma área de baixo risco para humanos.



**Figura-5.** Áreas de risco para a circulação da variante antigênica 3 (VAg3) em bovinos e em humanos de 1999 a 2008, cujos fatores utilizados correspondem ao mesmo período, no estado do Pará, Brasil.

## DISCUSSÃO

### Tendência temporal de casos de Raiva

Para o presente estudo se confirmou o maior número de casos de Raiva em bovinos, bem como a estreita relação da alta densidade de notificações positivas com a expansão dos rebanhos. Observações parecidas já haviam sido descritas para outras áreas da América do Sul (CRESPO *et al.* 1961, TADDEI *et al.* 1991). O estado Pará vinha contribuído sobremaneira com a criação regional de gado desde 1991, chegando ao patamar de segundo maior produtor da Amazônia brasileira, depois do Estado do Mato Grosso (IBGE/PPM 1990, 2004). As mesorregiões paraenses de destaque na produção pecuária foram o Sudeste e Sudoeste, as quais apresentaram em 2008 os índices mais elevados, ou seja, 67% e 16% da cultura, respectivamente (SAGRI 2010).

### Distribuição espacial da Raiva

A maior referência a caso positivos em bovinos foi ao longo do leste paraense, no início da década de 2000 (Fig. 3). Estes casos, por sua vez, foram continuamente reduzidos no decorrer dos anos, devido às ações de controle da zoonose pela Vigilância em Saúde, incluindo vacinação e controle populacional de *D. rotundus*, principalmente, após a confirmação em alguns pontos da mesma área, de mortes em humanos por Raiva em 2004 e 2005 no Pará. Atualmente, tais notificações de Raiva em Humanos ainda representam os registros mais numerosos do Brasil, cuja dispersão envolveu municípios do Marajó (Portel) e do nordeste do estado (Vizeu e Augusto Corrêa), distantes entre si cerca de 530 km em linha reta. Contudo, a distribuição espacial das populações rurais e indígenas nesse período teve sobreposição parcial com áreas geográficas de alta

ocorrência de Raiva na categoria (Figura 4E). Considerado as citações de SCHNEIDER *et al.* (2001) e de TRAVASSOS DA ROSA *et al.* (2006), uma das características compartilhadas entre os focos de Raiva em humanos no Pará foi o modo de vida peculiar observado em populações tradicionais na Amazônia.

A cultura amazonida inclui peculiaridades das populações tradicionais como, por exemplo, a distribuição irregular das moradias, por muitas vezes, em áreas de difícil acesso (SCHNEIDER *et al.* 2001). As habitações são fixadas em locais próximo aos recursos hídricos, por serem vistos como importantes fontes de alimento (SILVA & Silva 2008). Já as casas seriam pouco protegidas - sem portas e janelas - e cercadas por pequenas criações de animais e árvores frutíferas (TRAVASSOS DA ROSA *et al.* 2006). Mas para tais autores o maior agravante estaria

na baixa experiência adquirida a respeito da doença, isso por parte de ribeirinhos, indígenas, pescadores, coletores e outros. Nestes grupos as espoliações por morcegos são consideradas corriqueiras ao longo da vida e, portanto, sem a ocorrência de Raiva, fazem parte do contexto de interação com a natureza.

### **Valores sociais e econômicos associados a Raiva no Pará**

Mesorregiões como Baixo Amazonas e Sudoeste paraense, de grandes dimensões, e, no caso da segunda área, com numerosos rebanhos em 2008 (SAGRI 2010), possuíam os mais baixos índices de desmatamento e de investimentos em muitos outros setores da econômica do período de 1999 a 2008 (IMAZON 2008). De acordo SILVA & SILVA (2008), naquela ocasião, ambas as mesorregiões eram economicamente impulsionadas pelas atividades de

mineração e produção pesqueira, respectivamente, ao passo que a pecuária estaria em expansão, principalmente no Baixo Amazonas (SAGRI 2010).

Ainda para o cenário amazônico de dispersão do *Lyssavirus* é importante lembrar a observação de LIMA & POZZOBOM (2001). Tais autores mencionaram que além dos tipos de criações domésticas (menos ou mais atrativas ao morcego hematófago), outro fator importante se refere aos tipos de produtores rurais e seus papéis na epidemiologia. Estes dois últimos se modelam em razão de como os proprietários concebem sua relação com a natureza e com a moléstia. Para MENEZES *et al.* (2008), aos produtores seriam fundamentais ações de monitoramento e educação sanitária por parte dos sistemas de prevenção e controle da doença. No entanto, o próprio Manual Técnico do MAPA (2009) cita que a insidiosa ocorrência de Raiva em herbívoros deve-se também, em alguns casos, “à atuação insatisfatória, na execução do Programa Estadual de Controle da Raiva em Herbívoros”. Para MENEZES *et al.* (2008), é bastante comum a subnotificação causada pelo diagnóstico clínico de campo. Por muitas vezes, o profissional veterinário desconsidera a importância do exame final em laboratório, cujos altos índices de negatividade podem sugerir outras encefalites de quadro clínico similar à Raiva.

### **O uso da terra e as populações de *D. rotundus***

As grandes áreas de desmatamento no Pará encontram-se no Nordeste do estado (SILVA & SILVA 2008), principalmente, na zona costeira que é quase um mosaico de florestas de mangue adjacentes às paisagens antropizadas, onde os criadouros bovinos seriam apenas 8,6% da produção paraense (IBGE/PPM 1999 e 2008a). GOMES *et al.* (2010) demonstraram que a proximidade entre

remanescentes da mata Atlântica e pastagens é um cenário promissor para o aumento de espoliações no gado por morcegos.

O ecossistema manguezal é considerado como local de abrigo para muitas espécies de mamíferos, incluindo quirópteros (FERNANDES 2000). Na região amazônica a espécie *D. rotundus* já foi capturada em plena atividade noturna em bosque de mangue no Pará (ANDRADE *et al.* 2008). Para esses autores, além de abrigo, a associação dos manguezais com áreas do mar aberto e com a presença de pequenos rios e canais podem facilitar o acesso entre áreas contíguas. Característica importante para morcegos hematófagos que realizam intenso intercâmbio entre indivíduos de diferentes agrupamentos (LOPEZ-FORMET *et al.* 1971), além de alta adaptabilidade às mudanças de hábitat (LORD 1988). No entanto, não há estudos sobre a área de vida e comportamento de *D. rotundus* em nenhum dos ambientes amazônicos. Tais informações são de grande interesse epidemiológico, principalmente em regiões onde o número de casos de Raiva bovina é elevado.

De acordo com GOMES *et al.* (2006), em *D. rotundus* o uso da pasta vampiricida tem causado a redução das fêmeas e, conseqüentemente, o deslocamento de machos para outros refúgios. Considerando-se que a infecção de morcegos pelo *Lyssavirus* pode ser apoiada pelo intercâmbio entre morcegos de diferentes colônias (FORNES *et al.* 1974), as populações com presença de indivíduos infectados, cuja acessibilidade entre áreas seja uma prática muito simples, talvez promovam focos bem sucedidos da doença em um prazo de tempo muito mais curto. É provável também, que assim como em outras observações, haja estreita relação do grau de infecção da população com fatores individuais como: o nível de diversidade genética, o estado fisiológico e a condição imunológica (CHARLTON & CASEY 1979, FORATTINI 2004). Portanto,

certas populações de morcegos podem estar compostas por numerosos indivíduos mais suscetíveis à Raiva, devido a um intenso estresse comportamental e mudanças na paisagem.

No estudo de BARBOSA *et al.* (2008), aplicando técnicas de genética molecular, demonstrou que as cepas virais transmitidas por *D. rotundus* na região do Marajo constituíram um nicho singular de uma linhagem estabelecida a mais tempo do que as outras identificadas. Contudo intervenções recentes de atividades humanas podem ter originado um microambiente nessa região, com mudanças gerenciadas por: i) diferentes níveis de urbanização, ii) atuação sanitária e iii) conhecimento do produtor rural.

### **Áreas de risco para a Raiva**

A análise multicritério do tipo AHP dos fatores ambientais e socioeconômicos revelou um mosaico epidemiológico dinâmico das áreas de risco no Estado do Pará. A presença de áreas de alto risco para bovinos (Figura 5) em regiões de baixa densidade de casos (Figura 3), no mínimo, revelou as potencialidades de outros pontos para a doença. Mas de certa maneira, a densidade de bovinos mesmo quando em menor abundância (mesorregião Nordeste), se associada ao modo de vida das populações tradicionais na Amazônia e a índices relevantes de impacto ambiental podem servir como sentinela para focos de Raiva em humanos.

As áreas de alto risco para bovinos pareceram suplantar aos poucos às de médio risco no Sudoeste do Estado (Figura 5A), com exceção de uma grande mancha de médio risco, que coincidiu perfeitamente com os espaços de terras indígenas e proteção integral, apresentados no mapeamento do ISA (2004). Com

relação às áreas de baixo risco, estas seriam segundo ISA, áreas de proteção integral. Ambos os relatos corroboram com a possibilidade de um reduzido número de casos de Raiva, sobretudo no Sudoeste do Pará, onde talvez os seguintes acontecimentos possam estar auxiliando: concentração dos maiores rebanhos em poucas propriedades, maior controle de infecções por parte da vigilância sanitária e dos proprietários rurais.

Na mesorregião Marajó, de baixa densidade de propriedades rurais e indígenas (Figura 4D), bem como de habitantes (Figura 4E), o elevado número de casos de Raiva em humanos no ano 2004, transmitida por morcegos, coincidiu com a primeira redução significativa dos rebanhos na área. Sendo está de aproximadamente 11%, diante de uma estabilidade que se mantinha desde 1999 (SAGRI 2010). Portanto, é possível que o declínio da fonte de alimento mais acessível à *D. rotundus*, o tenha pressionado a adaptar-se imediatamente à outras disponíveis, dentre as quais, estariam eventualmente incluídos humanos.

Diante da magnitude dos acontecimentos de Raiva em humanos e bovinos, tanto do Marajó quanto do Nordeste paraense, *a priori* alguns serviços são indispensáveis para evitar novos focos, sendo estes: i) vigilância contínua sobre espoliações em animais e humanos, ii) registro das primeiras notificações de casos, iii) vacinação dos espoliados, iv) investigação da densidade de hematófagos na área e v) controle das populações de *D. rotundus*. Também deveria ser adotada como prática, a coleta de encéfalo, gordura marron e sangue de morcegos hematófagos, respectivamente, para o monitoramento imunológico e molecular do hospedeiro.

Os resultados aqui apresentados são uma avaliação do comportamento apenas de alguns condicionantes de predição espaço-temporal da Raiva transmitida por morcegos hematófagos, dentro de um período específico.

Portanto servem como proposta para a obtenção de um modelo mais atual e mais abrangente de predição da Raiva transmitida por *D. rotundus* na Pará. Mas, em todo caso, é sempre importante considerar na análise interativa dos dados, à compatibilização e integração com bases sócio-históricas e biológicas mais específicas de cada mesorregião.

Por fim, em virtude das diversas práticas de uso da terra é possível dizer que, não existe um modelo único para determinar o risco de ocorrência da Raiva em humanos e bovinos, diante da dinâmica da Amazônia. Na verdade o que existe é a formação, do que CONFALONIERI (2005) definiu para a Malária, como, macropaisagens e paisagens da doença, que se associam as peculiaridades temporais dessa grande região.

## **CONCLUSÕES**

O histórico de dez anos da transmissão do *Lyssavirus* por *Desmodus rotundus* em áreas rurais no Estado Pará, se per fez mais intensamente em bovinos do que em humanos. A presente análise espaço-temporal também induziu a não aceitação da hipótese do alimento de fácil acesso e grande oferta para o morcego, como sendo o condicionante mais relevante de casos em ambas as categorias. Talvez um histórico mais incisivo tenha sido mascarado pelas subnotificações no registro da Raiva no Pará, uma vez que, que tais informações dependem de diversos grupos (veterinários, e pequenos e grandes pecuaristas).

No Nordeste paraense, a proximidade entre ambientes naturais e antropizados parece ser também uma condição favorável à acessibilidade de *D. rotundus* entre diferentes áreas, diante da busca de abrigos e alimento. No entanto, é preciso um estudo mais específico sobre a área de vida do vampiro

comum, haja vista tal informação ainda não ser conhecida para os ambientes amazônicos.

As áreas de risco para a Raiva, transmitida pelo vampiro comum, representaram a soma de pressões exercidas por fatos extrínsecos sobre o desequilíbrio populacional dessa espécie no Estado do Pará. Entretanto, também parece lógico que a magnitude dos focos de Raiva em bovinos e seres humanos, seja também dependente de fatores intrínsecos a cada um dos espécimes. Portanto, informações voltadas ao *status* genético, fisiológico e/ou imune do morcego *D. rotundus* dariam mais embasamento às previsões sobre áreas potenciais de circulação viral.

É bem verdade que também vários outros fatores externos, além dos presentes, podem estar envolvidos como causas *a priori* dos focos de Raiva no Pará, cuja análise seria pertinente. No entanto, a atual seleção de condicionantes é apenas o início de uma análise multicritério que ponderou primeiramente sobre os elementos de maior visibilidade ambiental no Pará. Por fim, diante da dinâmica do ambiente e da existência de diversas outras práticas de uso da terra, fica a necessidade de continuo aprimoramento do modelo para predizer o risco de ocorrência da Raiva bovina ou humana, transmitida por morcego da espécie *D. rotundus* no Estado do Pará.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE F A G, M E B FERNANDES, S A MARQUES-AGUIAR & G B LIMA. 2008. Comparison between the chiropteran fauna from terra firme and mangrove Forest on the Bragança península in Pará, Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, **43**(3):169-176.
- ARELLANO-SOTA C. 1988. Biology, ecology, and control of the vampire bat. **Review Infection Disease**, **10**(4):615-619.
- AYRES M, M AYRES JR., D L AYRES, & A S SANTOS. 2007. **BioEstat 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** Sociedade Civil de Mamirauá, Belém, 364 pp.
- BARBOSA T F S, E S TRAVASSOS DA ROSA, D B A MEDEIROS, L M N CASSEB, A S PEREIRA, A L BEGOT, R J S LIMA, M R T NUNES & P F C VASCONCELOS. 2007. Epidemiologia molecular do vírus da raiva no estado do Pará no período de 2000 a 2005: emergência e transmissão por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*). **Caderno de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, **15**(3):329–348.
- BARBOSA T S, D B A MEDEIROS, E S TRAVASSOS DA ROSA, L M N CASSEB, R MEDEIROS, A S PEREIRA, A C R VALLINOTO, M VALLINOTO, A L BEGOT, R J S LIMA, P F C VASCONCELOS & M R T NUNES. 2008. Molecular epidemiology of rabies virus isolated from different sources during a bat-transmitted human outbreak occurring in Augusto Correa municipality, Brazilian Amazon. **Virology**, **370**:228-236.
- BRASS D A. 1994. **Rabies in Bats.** Natural History and Public Health Implications. Livia Press, Ridgefield, CT, 352pp.
- BROWN E B. 1994. **Vampiro: the vampire bat in fact and fantasy.** High-Lonesome Books, Silver City, New Mexico, 148pp.

- CAMARA G, R C M SOUZA, U M FREITAS & J GARRIDO. 1996. SPRING: Integrating remote sensing and GIS by object-oriented data modelling. **Computers & Graphics**, **20**(3):395-403.
- CASTRO M C C & B H SINGER. 2007. Meio ambiente e saúde: metodologia para análise espacial da ocorrência de malária em projetos de assentamento. **Revista Brasileira de Estatística Populacional**, **24**:247-262.
- CHARLTON K M & G A CASEY. 1979. Experimental rabies in skunks: oral, nasal, tracheal and intestinal exposure. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, **43**:168-172.
- CHENG Z, H ZONG-YI & L SHU-ZHEN. 2005. Evaluation of eco-environmental stability based on GIS in Tibet, China. **Journal of Natural Sciences**, **10**(4):635-658.
- CHILDS J E, A T CURNS, M E DEY, L A REAL, L FEINSTEIN, O N BJØRNSTAD & J W KREBS. 2000. Predicting the local dynamics of epizootic rabies among raccoons in the United States. **PNAS**, **97**(25):13666-13667.
- CONFALONIERI U E C. 2005. Saúde na Amazônia: um modelo conceitual para a análise de paisagens e doenças. **Estudos Avançados**, **19**(53):221-236.
- CRESPO J A, J M VANELLA, B D BLOOD & J M DE CARLO. 1961. Observaciones ecológicas del vampiro *Desmodus rotundus rotundus* (Geoffroy) em el norte de Córdoba. **Revista Museo Argentino Ciencias Naturales** **6**:131–160.
- DIAS J E, M H B GOES, J X SILVA & O V O GOMES. 2004. Geoprocessamento aplicado à análise ambiental: o caso do município de Volta Redonda – RJ. In.: XAVIER DA SILVA, J.; ZAIDAN, R.T. (org.). **Geoprocessamento & análise ambiental: aplicações**. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 368p.
- DRUCK S, M S CARVALHO, G CÂMARA & A M O MONTEIRO. 2004 (eds) **Análise Espacial de Dados Geográficos**. Brasília, EMBRAPA, (ISBN: 85-7383-

260-6). <http://www.dpi.inpe.br/gilberto/livro/analise/cap1-intro.pdf>. (acesso: 12/04/2010)

FERNANDES M E B. 2000. Association of mammals with mangrove forests: a world wide review. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, **13**:83-108.

FINDLEY J S. 1993. Bats: a Community Perspective. Cambridge studies in ecology. Cambridge University Press. Cambridge, UK, xi-167p.

FLEMING, T H E T HOOPER & D E WILSON. 1972. Three Central American Bat Communities: Structure, Reproductive Cycles, and Movement Patterns. **Ecology**, **53**(4):555-569.

FORANTTINI O P. 2004. **Ecologia, Epidemiologia e Sociedade**. 2ed. São Paulo: Editora Artes Médicas, 720p.

FORNES A, R D LORD, M L KUNS, O P LARGHI, E FUENZALIDA & L LAZARO. 1974. Control of bovine rabies through vampire bat control. **Journal of Wildlife diseases**, **10**(4):310-316.

FUNAI – Fundação Nacional do Índio. 2010. Tema: Terras indígenas. Brasília. Disponível em: <http://www.funai.gov.br/> (Acessado: 02/07/2010).

GAO S, D MIOC, F ANTON, X YI & D J COLEMAN. 2008. Online GIS services for mapping and sharing disease information. **International Journal of Health Geographics**, **7**(8):1-12.

GATRELL A C & T C BAILEY. 1996. Interactive spatial data analysis in medical geography. **Social Science Medicine**, **42**(6):843-855.

GISMAP Viewer. 2010. Mapas digitais. Disponível em: <http://www.gismaps.com.br/transportes/transporte.htm>. (Acessado em: 23/10/2010).

- GOMES M N, A M MONTEIRO, N LEWIS, C A GONÇALVES & V S NOGUEIRA FILHO. 2010. Landscape risk factors for attacks of vampire bats on cattle in São Paulo, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, **93**:139-146.
- GOMES M N, A M V MONTEIRO, V S NOGUEIRA-FILHO & CA GONÇALVES. 2007. Áreas propícias para o ataque de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* em bovinos na região de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, **27**:307–313.
- GOMES M N, W UIEDA & M R D O LATORRE. 2006. Influência do sexo de indivíduos da mesma colônia no controle químico das populações de morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Phyllostomidae) no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, **26**(1):38-43.
- GOMES M N. 2009. **Padrões espaciais da Raiva bovina e seus determinantes no Estado de São Paulo entre 1992 e 2003**. 2009. Tese de doutorado do curso de pós-graduação em Sensoriamento Remoto, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos (INPE), 277p.
- GREENHALL A M, G JOERMANN & U SCHMIDT. 1983. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**, **202**:1-6.
- GUERRA T C, C E RUPPRECHT, C A HANLON, J W KREBS & J E CHILDS. 2003. Skunk and Raccoon Rabies in the Eastern United States: Temporal and Spatial Analysis. **Emerging Infectious Diseases**, **9**(9):1143-1150.
- HOLMES E C, C H WOELK, R KASSIS & H A BOURHY. 2002. Genetic Constraints and the Adaptive Evolution of Rabies Virus in Nature. **Virology**, **292**:247-257
- IMPRESA OFICIAL DO ESTADO PARÁ (IOEPA). 2009. Plano de Prevenção, Controle e Alternativas ao Desmatamento do Estado do Pará, Governo do Estado do Pará. DECRETO Nº 1,697. JUNHO DE 2009. DIÁRIO OFICIAL Nº. 31435 DE

08/06/2009. [HTTP://WWW.CLIMAEFLORESTA.ORG.BR/BIBLIOTECA/LIVRO/ID/233](http://www.climae floresta.org.br/biblioteca/livro/id/233).

ACESSO: 07/01/11

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010a. Área territorial oficial: consulta por unidade da federação. <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/principal.shtm> (acessado em 18/10/2010).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010b. Brasil físico. [http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/atlasescolar/mapas\\_pdf/brasil\\_fisico.pdf](http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/atlasescolar/mapas_pdf/brasil_fisico.pdf) (acessado em 18/10/2010).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010c. Códigos de municípios. [http://www.ibge.gov.br/concla/cod\\_area/cod\\_area.php?sl=1](http://www.ibge.gov.br/concla/cod_area/cod_area.php?sl=1) (acessado em 18/10/2010).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010d. População rural e urbana, pg22. [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/domicilio\\_por\\_especie\\_zip.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/domicilio_por_especie_zip.shtm)

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA e Pesquisa Pecuária Municipal (IBGE/PPM). 1990 e 2004. Tema: Pecuária. **Dados Estatísticos**, Brasília: Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=23> (acessado em 17/11/2010).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA e Pesquisa Pecuária Municipal (IBGE/PPM). 1999 e 2008a. Tema: Pecuária. **Dados Estatísticos**, Brasília: Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=23> (acessado em 17/11/2010).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA e Pesquisa Pecuária Municipal (IBGE/PPM). 1999 e 2008b. Tema: População. **Dados Estatísticos**, Brasília: Disponível: <HTTP://WWW.SIDRA.IBGE.GOV.BR/BDA/ACERVO/ACERVO2.ASP?E=V&P=CD&Z=T&O=24>.

INSTITUTO DE PESQUISAS ESPACIAIS, 2010. **TerraView** 4.0.0. São José dos Campos, São Paulo. Disponível em: [www.dpi.inpe.br/terraview](http://www.dpi.inpe.br/terraview). Acesso em: 20/08/2010.

INSTITUTO DO HOMEM E MEIO AMBIENTE DA AMAZÔNIA (IMAZON). 2008. Amazônia desmatamento até 2008. Disponível em: [http://www.imazon.org.br/novo2008/arquivos/db142507/Amazonia\\_desmate\\_ate\\_2008\\_simples.png](http://www.imazon.org.br/novo2008/arquivos/db142507/Amazonia_desmate_ate_2008_simples.png) (acessado em 20/08/2010).

INSTITUTO SOCIOAMBIENTAL (ISA). 2004. Terras Indígenas e Unidades de Conservação da Natureza: o desafio das sobreposições. São Paulo: Instituto Socioambiental. 687 P.

JONES M E, A T CURNS, J W KREBS & J E CHILDS. 2003. Environmental and human demographic features associated with epizootic raccoon rabies in Maryland, Pennsylvania, and Virginia. Short communications, **Journal of Wildlife Diseases**, **39**(4):869-874.

LIMA D & J POZZOBOM. 2001. Amazônia socioambiental – sustentabilidade ecológica e diversidade social. Em VIEIRA, I. C. G. et al. **Diversidade biológica e cultural da Amazônia**. Belém, MPEG, pp. 195-251.

LOPEZ-FORMENT W, U SCHMIDT & A M GREENHALL. 1971. Movement and population studies of the vampire bat (*Desmodus rotundus*) in Mexico. **Journal of Mammalogy**, **52**:227.

- LORD R D. 1988. Control of vampire bats, p.215-226. In: GREENHALL A M & U SCHMIDT (eds.), **Natural History of Vampire Bats**. CRC Press, Florida.
- LUDWING D & T IANNUZZI. 2006. Habitat equivalency in urban estuaries: analytical hierarchy process for planning ecological restoration. **Urban Ecosystems**, **9(4):265-290**.
- MÁLAGA-ALBA A. 1954. Vampire bat as a carrier of rabies. **American Journal Public Health**, **44:909-918**. 10.
- MENEZES F L, J A SILVA, E C MOREIRA, J N C MENESES, D F MAGALHÃES, A D BARBOSA & C S F OLIVEIRA. 2008. Distribuição espaço-temporal da Raiva bovina em Minas Gerais, 1998 a 2006. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, **60(3):566-573**.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). 2009. **Controle da Raiva em herbívoros: manual técnico 2009**. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília: MAPA/ACS, 124p.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2005. Surtos de raiva humana transmitida por morcegos no município de Portel-Pará. Março/Abril de 2004. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, **4:2-5**.
- MIRANDA E E. (Coord.). 2005. **Brasil em Relevô**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite. Disponível em: <http://www.relevobr.cnpm.embrapa.br>. (Acessado em 17/08/2010).
- MURRAY J D, E A STANLEY & D L BROWN. 1986. On the spatial spread of rabies among foxes. **Proceedings Royal Society of London**, **229:111-150**.
- PAVLOVSKY E N. 1967. Natural nidity of transmissible diseases in relation to landscape epidemiology of zoonthronoses. Moscow: Peace Publishers.

- RECUENCO S, M EIDSON, M KULLDORFF, G JOHNSON & B CHERRY. 2007. Spatial and temporal patterns of enzootic raccoon rabies adjusted for multiple covariate. **International Journal of Health Geographics**, 6:14.
- SAATY T L. 2005. **Theory and Applications of the Analytic Network Process: Decision Making with Benefits, Opportunities, Costs, and Risks**. RWS Publications, Pittsburgh, USA, 352 pp.
- SCHNEIDER M C, J ARON, C SANTOS-BURGOA, W UIEDA & S RUIZ-VELASCO. 2001. Common vampire bat attacks on humans in a village of the Amazon region of Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, 17(6):1531-1536.
- SCHNEIDER M C, P C ROMJIN, W UIEDA, H TAMAYO, D F DA SILVA, A BELOTTO, J B DA SILVA & L F LEANES. 2009. Rabies transmitted by vampire bats to humans: na emerging zoonotic disease in Latin America? **Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health**, 25(3):260-269.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA DO ESTADO DO PARÁ (SAGRI). 2010. <http://www.sagri.pa.gov.br/?q=node/153>. (acessado em 18/10/2010).
- SILVA F C & L J M SILVA. 2008. **História regional e participação social nas mesorregiões paraenses**. NAEA (Núcleo de Estudos Amazônicos), 226:1-22.
- SILVA JA, E.C. MOREIRA, J P A HADDAD, C M MODENA, M A S TUBALDINI. 2001. Distribuição temporal e espacial da Raiva bovina em Minas Gerais, 1976 a 1997. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 53(3):263-272.
- TADDEI V A, C A GONÇALVES, W A PEDRO, WJ TADEI, I KOTAIT & C ARIETA. 1991. **Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* no Estado de**

**São Paulo e a Raiva dos animais domésticos.** Campinas, Impresso Especial da CATI, 107p.

TRAVASSOS DA ROSA E S, I KOTAIT., T F S BARBOSA, M L CARRIERI, P E BRANDÃO, A S PINHEIRO, A L BEGOT, M Y WADA, R C OLIVEIRA, E C GRISARD, M FERREIRA, R J DA SILVA LIMA, L MONTEBELLO, D B A MEDEIROS, R C M SOUZA G BENSABATH, E H CARMO & P F C VASCONCELOS. 2006. Bat transmitted human rabies outbreaks, Brazilian Amazon. **Emerging Infection Diseases**, **12**:1197-1202.

UIEDA W, M M HAYASHI, L H GOMES & M M S SILVA. 1996. Espécies de quirópteros diagnosticadas com Raiva no Brasil. **Boletim do Instituto Pasteur**, **2** (1):17-36

**CAPÍTULO 5**  
**CONCLUSÃO GERAL**

As atividades antrópicas são fatores de transformações ambientais, cuja introdução de culturas (agricultura, pecuária, etc) direciona ao desenvolvimento de uma estreita relação, favorável ou desfavorável, para a dinâmica de muitas populações locais. No caso de *Desmodus rotundus* as práticas de uso da terra podem lhe favorecer a sobrevivência, diante do fornecimento de importantes componente, como, por exemplo, disponibilidade de alimento e abrigo diurno, na forma de edificações rurais e bueiros. Contudo, morcegos podem ser reservatórios naturais do vírus da Raiva, portanto, o aumento das populações de *D. rotundus* aumenta também as chances de circulação do *Lyssavirus*, podendo abranger as populações de hospedeiros domésticos e humanos.

A ocorrência de casos de Raiva em herbívoros e humanos no meio rural é um acontecimento de longa data no Estado do Pará, cuja alta relevância no cenário nacional se deu somente após os focos atípicos de 2004 e 2005. Análises moleculares das variantes virais envolvidas nesses focos identificaram uma divisão recente de duas linhagens associadas a *D. rotundus* na Amazônia. Uma linhagem envolvendo o grupo do nordeste do Pará e a outra do Marajó. É bem verdade que as cepas virais analisadas migram junto aos morcegos, fato que levou os autores a citar como causa do isolamento das cepas a barreiras naturais, do tipo: cobertura da terra, topografia e os divisores de água. Contudo, outro estudo mais recente de morfometria e de genética molecular de *D. rotundus*, demonstrou que no Brasil a distribuição geográfica desta, que é a principal espécie transmissora do *Lyssavirus* a herbívoros e humanos, apresentaria linhagens de divergências mais robustas somente no nível de bioma.

Portanto, o presente estudo objetivou testar regionalmente, a hipótese de heterogeneidade populacional morfológica e genética em amostras de *D.*

*rotundus* de cinco mesorregiões do Estado do Pará; assim também como analisar a influência de alguns processos na busca de um padrão inicial para os casos de Raiva transmitida por esse hematófago a humanos e bovinos ao longo de dez anos no mesmo estado.

Quando comparados as mensurações morfológicas de machos e fêmeas do morcego hematófago, foram reveladas diferenças significativas em 99% das médias dos caracteres mensurados em machos e fêmeas, assim assegurando a realização das demais análises sem combinação sexual para *D. rotundus* no Pará. Na análise discriminante entre os grupos de fêmeas de diferentes mesorregiões, alguns caracteres cranianos forneceram certa separação dos espécimes da porção norte do estado, dos encontradas mais ao sul. Neste caso, corroborando a análise descritiva quanto a tendência das fêmeas a uma maior dimensão craniana no Sudoeste do Pará. Ao contrário dos machos cuja variação craniana observada não garantiu nenhuma dentre as classificações geográfica preestabelecida pela análise descritiva.

Os acontecimentos acima podem ter origem de fatores relacionados com o comportamento da espécie, como, por exemplo, disponibilidade de recursos alimentares e a alta filopatria das fêmeas. Desse modo, as conseqüências fenotípicas foram mais contundentes nos caracteres cranianos. Já quanto a ausência de um padrão de variação morfológica nos machos, este fato talvez seja decorrente de uma grande variabilidade individual fenotípica nos mesmos, associada a uma conduta mais dispersa e a uma maior área de vida. Processo este, que pode ter induzindo a resultados de homogeneidade fenotípica para as populações de *D. rotundus* durante análises com combinação sexual. Assim mascarando a estruturação de grupos, haja vista o macho carrear todo um conjunto de haplótipos.

Quanto aos resultados da genotipagem de *D. rotundus*, os locos utilizados apresentaram pouco desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg entre as amostras de cinco mesorregiões do Pará. Portanto, houve ausência de diferenciação significativa entre os indivíduos, levando ao indício de que eventos microevolutivos do tipo endocruzamento, migração, mutação, seleção, deriva genética, etc, é que estariam atuando nos grupos. O total de alelos homozigotos em maior proporção nos espécimes hematófagos de áreas mais ao norte do Estado em comparação aos do sul, vêm sugerir que no Baixo Amazonas, Marajó e Nordeste há oposição mais fraca para a endogamia ao longo das gerações, por conseguinte, maior número de cruzamentos entre indivíduos genotipicamente, e talvez fenotipicamente, mais similares. Este último comentário corrobora com os dados morfológicos do presente trabalho, cuja certa separação fenotípica foi observada entre os espécimes das mesorregiões mais ao norte e sul do Pará. No grupo do Marajó também ocorreu uma alta abundância de alelos “raros”, enquanto que no nordeste paraense foram mais abundantes os alelos “comuns”. Este último caso é inerente à populações sob efeito de deriva genética, ou submetidas a expansão populacional.

Entretanto, a Análise Molecular de Variância (AMOVA), que foi bastante significativa ( $p < 0,001$ ), detectou maior variabilidade genética (96%) apenas dentro das populações. Por conseguinte, apesar da tendência a estruturação em apenas três subpopulações (Baixo Amazonas, Marajó e Nordeste), a Análise dos Componentes Principais (PCA) não foi significativa. Tais resultados podem ser uma consequência genética da fragmentação de grupos locais, devido talvez a pressão exercida das estratégias de controle da população do morcego hematófago, ou decorrentes de interferências externos, como a fragmentação de paisagens por atividades antrópicas (pecuária, agricultura, etc). A realização de

novos estudos na região, fundamentados em amostras de progênes de *D. rotundus*, descreveriam a situação mais atual da população aqui estudada, pois a deriva genética pode ter sido na verdade um evento de curto prazo, enquanto a endogamia é que de fato seria de longo prazo.

Os dados do presente trabalho também sugerem uma fraca relação entre os últimos grandes eventos epidêmicos de Raiva em humanos e bovinos no Pará, com as tendências estruturais da população de *D. rotundus* no mesmo estado. Haja vista, a quantidade de casos dessa enfermidade por espoliações causadas por *D. rotundus*, principalmente, em bovinos, ter sido elevada ao longo de todo o lado leste paraense, apontado como zonas de alto risco. A análise espaço-temporal do histórico da raiva no Pará também não corroborou a hipótese do alimento de fácil acesso e grande oferta à *D. rotundus*, como o condicionante mais relevante para os casos em humanos e bovinos no Estado. E ainda no cenário dessa zoonose no Pará, o fator densidade populacional humana não foi o condicionante desencadeador do elevado número infecções por *Lyssavirus* no estado.

Talvez um histórico mais incisivo tenha sido mascarado pelas subnotificações no registro da Raiva no Pará, uma vez que, que tais informações dependem de diversos grupos (veterinários, e pequenos e grandes pecuaristas). Além disso, é provável que outros fatores externos, além dos avaliados no presente trabalho, possam estar envolvidos como causas *a priori* dos focos de Raiva no Pará, cuja análise dos mesmos seria pertinente. Logo, fica a necessidade de continuo aprimoramento do modelo preditivo de risco da Raiva bovina ou humana, transmitida por morcego da espécie *D. rotundus* no Estado do Pará.

Por fim, há uma grande similaridade fenotípica e genotípica para *D. rotundus* em áreas da Amazônia oriental, que se mantêm pela estratégia reprodutiva do vampiro comum, assim também como pela sua distribuição geográfica na região estudada, haja vista, essa espécie não apresentar restrições à ocupação espacial de nichos, principalmente, diante da alta disponibilidade de abrigo e alimento.