



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL



**AVALIAÇÃO DO DANO GENÉTICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE
QUIRÓPTEROS DE ÁREAS URBANAS E NÃO URBANAS**

DORNELLES ASSUNÇÃO

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Goiás,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de mestre em
Biodiversidade Animal.**

Orientadora: Dra. Daniela de Melo e Silva

Co-orientadora: Dra. Monik Oprea

**Goiânia, GO
Março de 2016**

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

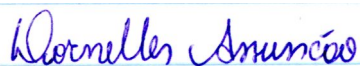
Nome completo do autor: Dornelles Assunção

Título do trabalho: **AVALIAÇÃO DO DANO GENÉTICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE QUIRÓPTEROS DE ÁREAS URBANAS E NÃO URBANAS**

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



Assinatura do autor

Data: 15/08/2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Assunção, Dornelles

AVALIAÇÃO DO DANO GENÉTICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE
QUIRÓPTEROS DE ÁREAS URBANAS E NÃO URBANAS [manuscrito]
/ Dornelles Assunção. - 2016.

VI, 53 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Daniela de Melo e Silva; co-orientadora
Dra. Monik Oprea.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto
de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade Animal, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, lista de figuras, lista de
tabelas.

1. Genotoxicidade.. 2. Quirópteros.. 3. Ensaio Cometa. . 4.
Ecologia Urbana. I. de Melo e Silva, Daniela, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL



**AVALIAÇÃO DO DANO GENÉTICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE
QUIRÓPTEROS DE ÁREAS URBANAS E NÃO URBANAS**

DORNELLES ASSUNÇÃO

**Dissertação apresentada ao
Instituto de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Goiás,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de mestre em
Biodiversidade Animal.**

Orientadora: Dra. Daniela de Melo e Silva

Co-orientadora: Dra. Monik Oprea

**Goiânia, GO
Março de 2016**

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Nº 05

Aos trinta e um dias do mês de março de dois mil e dezesseis (31/03/2016), às quatorze horas (14h), nas dependências do Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, área IV, Bloco L, reuniram-se os componentes da banca examinadora: **Profa. Dra. Daniela de Melo e Silva, ICB/UFG; Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz, PUC-GO; e Dra. Poliana Mendes, ICB/UFG;** para, em sessão pública presidida pelo primeiro examinador citado, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **"Avaliação do dano genético em células sanguíneas de quirópteros de áreas urbanas e não urbanas"**, em nível de mestrado, área de concentração em Biodiversidade Animal, de autoria de **DORNELLES ASSUNÇÃO**, discente do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo presidente, que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra, a seguir, foi concedida à(o) autor(a) da dissertação que, em cerca de 50 minutos, procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu à(o) examinada(o), tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da dissertação. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº 1239 de 14 de fevereiro de 2014, do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação Biodiversidade Animal, a dissertação foi aprovada, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Animal pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega da versão definitiva da dissertação na secretaria do programa, com as devidas correções sugeridas pela banca

examinadora, no prazo de trinta dias a contar da data da defesa. Cumpridas as formalidades de pauta, às 17 h e 30 min., encerrou-se a sessão de defesa e, para constar, eu, Suely Ana Ribeiro, secretária executiva da Universidade Federal de Goiás - UFG, lavrei a presente ata que, após lida e aprovada, será assinada pelos membros da banca examinadora em três vias de igual teor.



Profa. Dra. Daniela de Melo e Silva

Presidente da Banca

ICB/UFG



Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz

PUC-GO



Dra. Poliana Mendes

ICB/UFG

Dedico este estudo aos meus pais que sempre foram os maiores incentivadores na minha busca por conhecimento e sabedoria, além da compreensão e amor que sempre tiveram.

Agradecimentos

- A Deus inicialmente, por me permitir chegar até aqui com o apoio de meus familiares e acompanhado de bons amigos que estiveram comigo nessa trajetória por caminhos não muito fáceis, porém gratificantes e de grande aprendizado.
- Ao meu pai, Gesoaldo Domingues de Assunção, que sempre se esforçou para me dar uma boa educação e teve sabedoria em priorizar o investimento educacional dos filhos acima de qualquer outro bem que o dinheiro pudesse pagar. Sem ele meus caminhos não teriam chegado até aqui.
- À minha mãe, Júlia Francisca de Sousa Assunção, pelo carinho e pela sua dedicação ao lar onde fui criado cercado de bons exemplos e por se preocupar comigo em todos os momentos. A você devo minha vida e um pouco mais.
- À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Daniela de Melo e Silva, pela confiança, conselhos, correções, broncas, paciência e companheirismo desde o primeiro momento. Sem o seu apoio, sequer teria sido possível meus estudos de mestrado com auxílio da FAPEG. Obrigado por estar sempre disposta a ajudar, sei que se fosse possível resolveria todos os problemas do mundo pois tem um coração enorme. Por ter acreditado em mim, esta pesquisa pôde ser concluída com êxito, contribuindo para a minha formação profissional e pessoal.
- À minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Monik Oprea pelas correções e sugestões nos relatórios semestrais, possibilitando maior qualidade na escrita que resultou nessa dissertação. Suas sugestões de material bibliográfico enriqueceram meu trabalho acadêmico e sem dúvidas foi responsável por aumentar meu aprendizado sobre quirópteros.
- Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal da Universidade Federal de Goiás pelo conhecimento compartilhado durante as disciplinas ofertadas e um agradecimento especial ao Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos por coordenar o programa de maneira excelente e intervir quando e onde se fez necessário, sempre visando o melhor

resultado para todos do programa, professores e alunos.

- A todos do Laboratório de Genética e Mutagênese - LabMut, por me acolherem tão bem e me proporcionarem ótimos momentos de descontração e aprendizado. Obrigado Thays Alves, Thais Pires e Wanessa por me auxiliarem no aprendizado prático das etapas do cometa. Wanessa, Thays e Fernanda Godoy por irem comigo a campo nas primeiras capturas de teste. Graças a vocês pude realizar as coletas sanguíneas seguintes de maneira muito mais otimizada e eficiente.

- Obrigado também aos meus amigos Samuel Nunes, Dieferson Estrela, Priscila Cabral, Muryllo Melo e Thaís Assis pelo companheirismo e união que nossa turma teve desde o início e que assim se mantenha para a vida toda. Um agradecimento especial ao Samuel pelo auxílio no aprendizado e esclarecimento de dúvidas na disciplina de estatística e ao Dieferson por possibilitar e me auxiliar nas viagens e coletas de campo que realizei em Urutaí.

- À todos do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí que me ajudaram de alguma forma, seja cedendo espaço em seus laboratórios, seja nas coletas de campo, no ambiente acolhedor que encontrei estando com vocês ou nas conversas descontraídas que tivemos. Obrigado Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto, Joyce Moreira, Daniele Cipriano, Mateus Montalvão, Andrezza Arantes e Dieferson, mais uma vez.

- Às melhores parceiras de campo que eu poderia ter, Rafaela Gonçalves e Érica Santos. Passamos mais de um ano realizando coletas juntos e nesse tempo aprendemos muito na companhia um do outro. Obrigado pela amizade sincera, pelas diferenças que aprendemos a superar, pelos momentos de descontração e pelas boas lembranças que guardo de vocês. Tudo que passamos, só mostra que o trabalho em equipe torna as coisas mais fáceis.

- À Khattylla Assunção, pelo apoio em campo, nas técnicas de laboratório e pelo bem que sua companhia me fazia. Pelas longas conversas que tínhamos e pelas noites de coleta observando estrelas quando os morcegos se negavam a aparecer. Obrigado pela dedicação ao meu projeto

e pelo desafio de me acompanhar em campo mesmo sem experiência prévia na captura de morcegos e com alergia a insetos. Isso me faz dar mais valor ainda a ajuda que tive de você, pois superou obstáculos e se pôs a aprender algo novo apenas para poder me ajudar.

- Ao Bruno Gomes, que apesar de não ter nenhum vínculo ao meu projeto, fez para mim fichas de anotações de campo e com toda humildade e boa vontade se dispôs a me ajudar em um momento crítico. Sua presença em minha primeira coleta no Bosque dos Buritis, evitou que eu armasse e retirasse sozinho todos os morcegos das redes. Sua ajuda e sua amizade foram essenciais.

- À Avelina Castela, Lis Raquel, Luiz Gustavo Paniago, Hericles Mesquita, Guilherme Luiz e demais pessoas que ajudaram nas coletas de campo.

- À todos do Núcleo de Pesquisas Replicon do Departamento de Biologia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), onde sempre fui bem recebido durante todo o período em que estive realizando etapas dessa pesquisa.

- Aos membros da banca examinadora, por aceitarem participar desta etapa importante da minha formação profissional, pelas contribuições, atenção e colocações enriquecedoras.

- À Universidade Federal de Goiás e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal por criar uma oportunidade de aperfeiçoamento profissional de alto nível com um corpo docente altamente qualificado, a qual pude ter acesso.

- Finalizo agradecendo à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), por conceder a Bolsa de Estudos que viabilizou de maneira direta a realização desta pesquisa.

“Para tirar meu Brasil dessa baderna, só quando o morcego doar sangue e o saci cruzar as pernas.”

Bezerra da Silva

Sumário

Resumo	7
Abstract.....	8
Lista de figuras	9
Lista de tabelas	11
Lista de abreviaturas e siglas	12
Lista de símbolos	13
1. Introdução	14
2. Objetivos.....	20
2.1. Objetivo Geral	20
2.2. Objetivos Específicos	20
3. Material e métodos	21
3.1. Delineamento experimental e amostragem de sangue periférico	21
3.2. Locais de captura	23
3.3. Ensaio Cometa.....	25
3.4. Análise estatística	26
4. Resultados.....	27
4.1. Ambiente urbano	27
4.2. Ambiente não urbano.....	34
4.3. Comparação entre ambientes.....	35
5. Discussão	38
6. Conclusões.....	45
Bibliografia.....	46
Anexo 1	52
Anexo 2	53

Resumo

A avaliação do dano ao DNA em morcegos foi realizada com o ensaio cometa, a partir de amostras sanguíneas coletadas de 3 espécies capturadas em parques municipais de Goiânia e remanescentes de Cerrado situados na zona rural dos municípios de Bela Vista e Urutaí, ambos no Estado de Goiás. As espécies amostradas na área urbana de Goiânia foram *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* e *Platyrrhinus lineatus*. Nas áreas não urbanas, apenas *Artibeus planirostris* foi amostrado. Estas espécies frugívoras são abundantes e bem adaptadas a diversos ambientes, incluindo o meio urbano e regiões destinadas a agricultura. Os fragmentos vegetais remanescentes amostrados no ambiente urbano estão bastante impactados e inseridos na região mais urbanizada da cidade, com tráfego intenso de veículos, grande concentração de edifícios e densidade populacional elevada. As amostragens em ambiente não urbano foram realizadas em fragmentos de Cerrado na área rural, cercados por pastagem e atividades agrícolas. Dessa forma, foi comparado o dano encontrado no DNA dos morcegos para verificar se no ambiente urbano o dano varia significativamente entre os locais, entre as espécies e se o peso teria influência nessa variação. O dano ao DNA da espécie *A. planirostris* foi comparado entre os ambientes urbano e não urbano, para identificar em qual dos ambientes havia maiores índices de dano. Os resultados demonstraram que no ambiente não urbano, o dano ao DNA foi mais elevado que no ambiente urbano, sendo estatisticamente significativo. Além disso, no ambiente urbano, o aumento no dano ao DNA está relacionado à redução na área dos parques. Dessa forma, no ambiente urbano, o dano ao DNA parece estar associado ao efeito de borda e outros fatores estressores típicos desse ambiente, enquanto no ambiente não urbano, os valores mais elevados de dano ao DNA podem estar relacionados aos agrotóxicos e pesticidas utilizados nas atividades agrícolas.

Palavras-chave: Genotoxicidade. Quirópteros. Ensaio Cometa. Ecologia Urbana.

Abstract

The evaluation of DNA damage was carried out with the comet assay from blood samples of three bat species sampled at municipal parks of Goiania and Cerrado remnants, located in rural areas of the municipalities of Bela Vista and Urutaí, Goiás state. The species sampled in the urban area were *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* and *Platyrrhinus lineatus*. In non-urban areas, only *Artibeus planirostris* was sampled. These frugivorous species are abundant and well adapted to different environments, including urban and agricultural areas. The remaining vegetation of the urban environment was very impacted and it was included in the most urbanized area of the city, with heavy traffic of vehicles, large concentration of buildings and high population density. Sampling in non-urban environments were held in Cerrado fragments in a rural area surrounded by pasture and agricultural activities. Thus, the DNA damage found in the urban environment bats were compared to verify whether there was significant variation among the parks, between species and if weight influenced the variation of the DNA damage. The DNA damage obtained for *A. planirostris* allowed to compare the urban and non-urban environment to identify in which of the environments this species presented higher DNA damages. The results showed that in the non-urban environment, the DNA damage was higher than in the urban environment being statistically significant. Moreover, in the urban environment, the increased DNA damage was associated with a reduction in area of the parks. In general, in the urban environment, the DNA damage may be linked indirectly to the edge effect and other environmental stressors, while in non-urban environment, higher levels of DNA damage may be related to pesticides used in the agricultural activities.

Keywords: Genotoxicity; Chiroptera; comet assay; urban ecology.

Lista de figuras

- Figura 1** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando a variação do dano entre os três locais de captura no ambiente urbano (Areião, Bosque dos Buritis e Vaca Brava).....27
- Figura 2** - Distribuição do peso médio dos morcegos amostrados conforme os locais de captura em ambiente urbano, sem distinção por espécie. No Areião os morcegos tiveram maior peso e no Vaca Brava tiveram o menor peso.....28
- Figura 3** - Distribuição dos valores médios de peso entre as três espécies estudadas. *A. lituratus* é a espécie maior e mais pesada, seguida por *A. planirostris* e a menor é *P. lineatus* contendo o menor peso.....29
- Figura 4** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre as três espécies estudadas no ambiente urbano (*A. lituratus*, *A. planirostris* e *P. lineatus*).....30
- Figura 5** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre as três espécies de forma simultânea nos três parques em ambiente urbano.....31
- Figura 6** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques de forma simultânea para as três espécies amostradas no ambiente urbano.....31
- Figura 7** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques urbanos para a espécie *A. lituratus*.....32
- Figura 8** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques urbanos para a espécie *A. planirostris*.....33
- Figura 9** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques urbanos para a espécie *P. lineatus*.....34
- Figura 10** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os três parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os dois locais amostrados em ambiente não urbano para a espécie *A. planirostris*.....35
- Figura 11** - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os três parâmetros do ensaio

cometa, demonstrando a variação no dano entre os ambientes urbano e não urbano para a espécie *A. planirostris*.....36

Figura 12 - Distribuição dos valores de dano ao DNA para os três parâmetros do ensaio cometa, demonstrando a variação no dano entre os ambientes urbano e não urbano, além de demonstrar a variação em cada um dos cinco locais amostrados para a espécie *A. planirostris*.....36

Figura 13 - Distribuição dos valores do peso médio para a espécie *A. planirostris*, comparando a variação no peso dos indivíduos amostrados no ambiente urbano e não urbano.....37

Lista de tabelas

Tabela 1 - Locais amostrados dentro do ambiente urbano, com a extensão da área de cada parque e o tipo de vegetação remanescente.....22

Tabela 2 - Locais de captura, tipo de ambiente, coordenadas geográficas e número de indivíduos amostrados por espécie e localidade.....23

Lista de abreviaturas e siglas

%DNA – Porcentagem de DNA na cauda

A.U. – Ambiente urbano

A.N. – Ambiente não urbano

AMMA – Agência Municipal do Meio Ambiente

ANCOVA – Análise de covariância

ANOVA – Análise de variância

AR – Parque Areião

BB – Bosque dos Buritis

BV – Bela Vista

CC – Comprimento da cauda

DNA – *Desoxyribonucleic acid* (Ácido Desoxirribonucleico)

DNA_T – DNA tail (porcentagem de DNA na cauda)

DNA_H – DNA head (porcentagem de DNA na cabeça)

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

l_T – Tail length (comprimento da cauda)

MCO – Momento da cauda de Olive

M_T – Moment tail (momento da cauda de Olive)

pH – Potencial hidrogeniônico

UR – Urutaí

UTM – Universal Transversa de Mercator

VB – Parque Vaca Brava

VOC – Volatile organic compound (composto orgânico volátil)

Lista de símbolos

< – Menor que

= – Igual a

% – Porcentagem

® – Registrado

°C – Graus Celsius

bit – Binary digit (dígito binário)

E – East (leste)

km – Quilômetro

ml – Mililitro

m² – Metros quadrados

mA – Miliampère

M – Molar

N – North (norte)

μL – Microlitro

ng – Nanograma

nm – Nanômetro

X – Vezes

1. Introdução

Os morcegos constituem um grupo cuja origem remonta há pelo menos 52,5 milhões de anos (Simmons *et al.*, 2008), sendo bem-sucedido tanto na distribuição geográfica quanto em número de espécies, com mais de 1300 espécies descritas na ordem Chiroptera (Fenton e Simmons, 2014). Essa grande diversidade pode ser atribuída em parte, ao fato de serem os únicos mamíferos conhecidos que durante o processo evolutivo desenvolveram a habilidade de voar (Cooper e Sears, 2013).

O vôo e o hábito noturno dos morcegos permitem que eles se desloquem a grandes distâncias (Alerstam *et al.*, 2003) com um risco menor de predação em comparação a outros mamíferos de tamanho semelhante (Jones e Rydell, 1994; Brunet-Rossinni e Austad, 2004). Essas adaptações elevam sua capacidade de dispersão e sobrevivência, e atualmente os morcegos ocupam ambientes diversos como desertos, florestas temperadas e florestas tropicais (Davis, 2007; Fenton e Simmons, 2014), onde está a maior diversidade de espécies do grupo (Fenton e Simmons, 2014). Houve também uma grande diversificação de hábitos alimentares, com espécies frugívoras, nectarívoras, insetívoras, piscívoras, hematófagas e morcegos carnívoros (Vehrencamp *et al.*, 1977; Arita e Fenton, 1997; Fenton e Simmons, 2014). Suas adaptações morfológicas e fisiológicas os tornam essenciais em diversas cadeias de dispersão de sementes (Mello *et al.*, 2014) e na polinização de cerca de 530 espécies de plantas em pelo menos 67 famílias e 250 gêneros (Fleming *et al.*, 2009). Exercem ainda, importante papel econômico, elevando o retorno financeiro ao controlarem vetores de doenças e pragas agrícolas (Williams-Guillén *et al.* 2008; Maas *et al.*, 2013).

De maneira geral, a principal ameaça enfrentada atualmente, não apenas pelos morcegos, mas por diversos outros grupos da fauna e flora mundiais é a fragmentação e perda de habitat ocasionada por atividades humanas (Gomes *et al.*, 2011; Hanski, 2011; Britton, 2013). Essa perda ocorre em taxas elevadas em decorrência da conversão de áreas naturais

em pastagens, plantações agrícolas, exploração de minérios e expansão das áreas urbanas (Gomes *et al.*, 2011; Hanski, 2011). A redução e fragmentação de habitat somadas a crescente emissão de poluentes no ambiente, interferem ainda no comportamento, alimentação e reprodução de diversos organismos como, aves (Clark *et al.*, 1998), morcegos (Boldogh *et al.*, 2007), anfíbios (Almeida-Gomes e Rocha, 2014) e primatas (Jerusalinsky *et al.*, 2006), com consequências genéticas e evolutivas (Hanski, 2011; Rhind, 2012; Jackson e Fahrig, 2013).

Inicialmente, as espécies mais afetadas são aquelas mais sensíveis às alterações do habitat (Kricher, 1999). Essa sensibilidade pode se dar pela necessidade de grandes áreas contínuas de forrageamento, baixa capacidade de dispersão, baixa densidade populacional e endemismo (Kricher, 1999). Espécies migratórias ou formadoras de colônias como diversos morcegos, também são mais sensíveis aos impactos da fragmentação e perda de habitat (Kricher, 1999). Por outro lado, as alterações ambientais beneficiam muitas espécies que encontram novas oportunidades de abrigo e alimentação nas áreas modificadas, sejam urbanas ou não urbanas (Neubaum *et al.*, 2007; Pacheco *et al.*, 2010; São Paulo, 2013; Threlfall *et al.*, 2013; Forman, 2014).

O impacto ambiental das áreas urbanas é um fato sem precedentes quando consideramos a curta história evolutiva da humanidade, seu tamanho populacional, distribuição geográfica e taxa de crescimento (Rhind, 2012; Forman, 2014). Atualmente, mais de 50% da humanidade vive nas cidades (Lee, 2007) e apesar de ocuparem apenas 0,4% da superfície terrestre, as áreas urbanas são responsáveis por 75% das emissões de gases que promovem o efeito estufa e outros poluentes como: particulados suspensos e compostos orgânicos voláteis (VOCs - volatile organic compounds) altamente tóxicos (Lee, 2007; Rhind, 2012; Forman, 2014). Estima-se que no mundo todo, a poluição do ar nas cidades seja responsável por 800.000 mortes a cada ano (Lee, 2007).

Os conglomerados urbanos, porém, têm sido considerados e tratados nos últimos 25

anos, cada vez mais como ecossistemas complexos (Forman, 2014). Um ecossistema pode ser definido como um lugar específico onde ocorre um fluxo constante entre todos os organismos residentes, a matéria inorgânica e a energia (Forman, 2014). Portanto, toda a área de uma cidade pode ser vista e estudada como um ecossistema (Forman, 2014).

O ambiente urbano, caracterizado pela concentração de prédios, estradas, poluentes, veículos, pessoas e muito barulho, difere grandemente das regiões destinadas a agricultura e áreas naturais (Forman, 2014). Ecossistemas urbanos consomem de 10 a 100 vezes mais energia do que um ecossistema natural e seu metabolismo depende de fontes externas de matéria e energia (Kaye *et al.*, 2006). Nas cidades o processo de ciclagem biogeoquímica é alterado de forma significativa com a impermeabilização e drenagem do solo, liberação de compostos sintéticos na atmosfera, formação de ilhas de calor que interferem no clima, e uso do solo com alteração da composição vegetal e de nutrientes (Kaye *et al.*, 2006).

Para estudar essas relações, foi criada a ecologia urbana, que abrange as interações entre organismos, estruturas artificiais e o ambiente físico onde as pessoas estão concentradas (Forman, 2014). Nas áreas urbanas, persistem as espécies capazes de conciliar a conformação espacial da vegetação, as superfícies rígidas e as muitas fontes de estresse com as quatro necessidades básicas de todo animal: alimento, água, abrigo e deslocamento (Forman, 2014). Muitos morcegos satisfazem essas exigências adaptativas e não apenas sobrevivem, como prosperam em áreas urbanas, como por exemplo *Tadarida brasiliensis*, *Eptesicus fuscus*, *Pipistrellus kuhlii* e diversos representantes do gênero *Myotis* que foram encontrados abrigando-se em bueiros e sob pontes, incluindo espécies ameaçadas como *Myotis grisescens* e *Motis sodalis* que encontram nas estruturas de concreto, local propício à reprodução (Keeley e Tuttle, 1999; Bogdanowicz, 2004; Lima, 2008; Wiederholt *et al.* 2014; Forman, 2014).

As espécies de morcegos adaptadas ao ambiente urbano variam conforme a região do planeta e nas cidades de uma mesma região por fatores como, distribuição natural da espécie e

condições ambientais favoráveis (Keeley e Tuttle, 1999; Lima, 2008; Forman, 2014). Os morcegos normalmente constituem o principal componente da fauna remanescente de mamíferos em áreas urbanas (Threlfall *et al.*, 2011). No Brasil, *Artibeus lituratus*, *Artibeus planirostris* e *Platyrrhinus lineatus* são espécies abundantes em áreas urbanas e naturais, habitam áreas de vegetação degradada e possuem ampla distribuição na América do Sul (Wilson e Reeder, 2005; Reis *et al.*, 2007; Lima, 2008; Gazarini e Pedro, 2013). Tais espécies foram selecionadas para a realização de um estudo *in vivo* de genotoxicidade, que avaliou a frequência do dano ao DNA em morcegos de ambiente urbano e não urbano pelo ensaio cometa. Os resultados obtidos foram comparados para averiguar se há variação significativa na frequência de dano entre as áreas amostradas e entre as espécies.

A técnica do ensaio cometa, utilizada no presente estudo, foi desenvolvida na década de 1990, apresenta baixo custo e elevada eficiência para identificar e quantificar quebras na molécula de DNA (Olive e Banáth, 2006). O método requer uma pequena quantidade de células para ser executado e pode ser aplicado no biomonitoramento humano e em pesquisas ecológicas de organismos bioindicadores expostos a contaminantes ambientais (Olive e Banáth, 2006).

Em humanos, o ensaio cometa já foi usado para medir dano ao DNA de linfócitos em trabalhadores expostos a raios-x (Maluf *et al.*, 2001) e combustíveis para a propulsão de jatos (Jackman *et al.*, 2002), bem como, medir o dano ao DNA de trabalhadores em mina de carvão (León-Mejía *et al.*, 2011) e trabalhadores em fábricas de sapatos, expostos ao tolueno e outros solventes orgânicos (Pitarque *et al.*, 1999). Além dos humanos, anfíbios adultos e girinos são frequentemente usados como modelo em estudos de genotoxicidade, por serem ótimos bioindicadores (Valencia *et al.*, 2011; Agbor *et al.*, 2013). Há outros organismos que também foram usados como modelos de forma menos frequente para avaliar o dano ao DNA pelo ensaio cometa: plantas, protozoários, poliquetas, bivalves, mexilhões, minhocas, drosófilas,

peixes continentais e marinhos, aves, roedores e iguana (Agbor *et al.*, 2013; Cabarcas-Montalvo *et al.*, 2012). Em morcegos, o ensaio cometa já foi utilizado para identificar dano ao DNA em populações habitando áreas de mineração de carvão (Zocche *et al.*, 2010), mina abandonada de monazita (Meehan *et al.*, 2004) e forrageando em estação de tratamento de resíduos (Naidoo *et al.*, 2014), mostrando que houve aumento no dano ao DNA pela exposição contínua a esses ambientes.

Alguns estudos mostram que os morcegos possuem um mecanismo bastante eficiente de reparo de danos ao DNA (Brunet-Rossinni e Austad, 2004; Podlutzky *et al.*, 2005), o que em tese, proporciona um envelhecimento mais lento e possibilita uma vida mais longa (Brunet-Rossinni e Austad, 2004), uma vez que, comparados a outros mamíferos pequenos, apresentam uma elevada expectativa de vida (Austad e Fischer, 1991; Brunet-Rossinni, 2004; Brunet-Rossinni e Austad, 2004). Há registro de morcegos que viveram 19 (*Eptesicus fuscus*), 28 (*Myotis daubentonii*), 30,5 (*Rhinolophus ferrumequinum*), 34 (*Myotis lucifugus*) e 41 anos (*Myotis brandtii*) na natureza, enquanto a longevidade de um pequeno roedor em cativeiro chega em média a 3 ou 4 anos (Brunet-Rossinni e Austad, 2004; Podlutzky *et al.*, 2005).

Como o acúmulo de dano ao DNA pode afetar a saúde dos animais a longo prazo e também está relacionado ao envelhecimento (Austad e Fischer, 1991; Brunet-Rossinni, 2004; Brunet-Rossinni e Austad, 2004; Podlutzky *et al.*, 2005), morcegos de ampla distribuição geográfica e tolerantes à urbanização e fragmentação de habitat, podem ser bastante informativos como modelos em estudos de genotoxicidade. Dessa forma, considerando a importância dos morcegos para a manutenção de processos naturais indispensáveis, como a polinização e dispersão de sementes (Fleming *et al.*, 2009; Mello *et al.*, 2014), seus benefícios à humanidade em todos os ambientes (Shilton *et al.*, 1998; Fleming *et al.*, 2009; Maas *et al.*, 2013; Mello *et al.*, 2014), a crescente perda de habitat que afeta suas populações (Laurance *et al.*, 2002; Gomes *et al.*, 2011; Hanski, 2011; Britton, 2013) e o impacto da poluição urbana e

rural, este estudo aplica conceitos genéticos e ecológicos, incluindo a ecologia urbana, para melhor compreender a relação entre os tipos de locais onde vivem e a intensidade do dano ao DNA encontrado nos morcegos de ambiente urbano e não urbano, que podem estar sujeitos de maneira direta e indireta a diversas fontes de estresse e poluentes.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

- Quantificar o dano ao DNA das 3 espécies de morcego capturadas em ambientes urbano e não urbano para comparar a frequência do dano ao DNA entre as espécies e entre os locais de captura.

2.2. Objetivos Específicos

- Quantificar e comparar o dano ao DNA encontrado nos indivíduos da espécie *Artibeus planirostris* capturados na área urbana com aqueles capturados na área não urbana;
- Quantificar e comparar o dano ao DNA entre as três espécies amostradas em área urbana, buscando identificar se há diferença significativa no acúmulo de dano entre elas.

3. Material e métodos

3.1. Delineamento experimental e amostragem de sangue periférico

Este estudo foi conduzido nos municípios de Goiânia, Bela Vista e Urutaí, no Estado de Goiás, Brasil e, para a análise da frequência de dano ao DNA, foram amostrados 37 espécimes de *A. lituratus*, 32 de *A. planirostris* e 33 de *P. lineatus* em 3 parques na cidade de Goiânia, representando o ambiente urbano (Tabela 1). As amostragens em ambiente não urbano foram feitas em 2 locais: fragmentos de Cerrado no município de Bela Vista e Urutaí, com a captura de 34 *A. planirostris* (Tabela 1). As coordenadas geográficas foram registradas nos cinco locais amostrados (Tabela 1). As espécies foram selecionadas pela abundância de indivíduos nas áreas amostrais (urbanas e não urbanas), ampla distribuição geográfica, tipo de dieta (frugívoros) e proximidade filogenética (subfamília Stenodermatinae). Estes critérios de seleção contribuem para que seja possível a captura das espécies tanto no ambiente urbano quanto não urbano; a repetição do experimento em outras localidades pela ampla distribuição das espécies; reduzir a influência da alimentação ao comparar o dano entre as espécies devido à dieta semelhante; reduzir a influência que a distância filogenética pode ter no dano ao DNA de espécies mais derivadas.

Os animais foram capturados com 10 redes de neblina (entre 18:00 h e 00:00 h), que foram checadas a cada 30 minutos. Foram coletados dados morfométricos (peso de cada morcego e tamanho do antebraço) e informações como estado reprodutivo, idade (jovem ou adulto) e sexo. Para a coleta sanguínea, foi seguido o protocolo de punção venosa em morcegos de Baptista *et al.* (2006). O sangue foi coletado da veia propatagial com o animal contido fisicamente em decúbito dorsal (Baptista *et al.*, 2006) e corpo totalmente coberto (com exceção de uma asa para realização da coleta), para prevenir mordidas e não deixar o animal agitado devido à iluminação intensa das lanternas. As amostras foram coletadas em campo com capilar heparinizado, armazenadas em tubos cônicos também heparinizados e

acondicionadas em recipiente térmico com gelo para preservação. Apenas indivíduos adultos e fêmeas sem filhotes foram amostrados.

O volume de sangue coletado de cada morcego foi menor que 0,5 mL, suficiente para a realização do ensaio cometa e compatível com o tamanho corporal do animal, sem debilitá-lo nem prejudicar sua capacidade de voo (Baptista *et al*, 2006). Após a coleta de dados e amostras biológicas, cada indivíduo recebeu uma anilha numerada ou colar com numeração codificada em cores, para evitar a amostragem em animais recapturados.

Para a captura, transporte, coleta e armazenamento de material biológico proveniente de animais silvestres no ambiente urbano, foi obtida a licença de número 001/2015 junto ao órgão ambiental competente, AMMA (Agência Municipal do Meio Ambiente) (Anexo 1) e para o ambiente não urbano, a licença de número 49329-1 foi obtida junto ao IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) (Anexo 2).

Tabela 1 - Locais de captura, tipo de ambiente, coordenadas geográficas e número de indivíduos amostrados por espécie e localidade

Locais de Captura*	Coordenadas Geográficas	Número Amostral por Espécie			Total
		<i>A.liturgatus</i>	<i>A.planirostris</i>	<i>P.lineatus</i>	
BB (A.U.)	UTM, zona 22k 685325,779 E, 8154978,249 N	6	8	6	20
VB (A.U.)	UTM, zona 22k 684484,879 E, 8151759,501 N	12	13	21	46
AR (A.U.)	UTM, zona 22k 686001,867 E, 8152193,047 N	19	11	6	36
BV (A.N.)	UTM, zona 22k 727639,420 E, 8101554,760 N	---	5	---	5
UR (A.N.)	UTM, zona 22k 796821,765 E, 8060114,009 N	---	29	---	29
Total		37	66	33	136

*BB, Bosque do Buritis; VB, Vaca Brava; AR, Areião; BV, Bela Vista; UR, Urutaí; A.U., ambiente urbano; A.N., ambiente não urbano

3.2. Locais de captura

Os morcegos amostrados neste estudo, foram capturados em 5 áreas selecionadas com o intuito de abranger o ambiente urbano e não urbano. Sendo este último, caracterizado por fragmentos de vegetação nativa cercados por pastagem e atividades agrícolas nos municípios de Urutaí e Bela Vista, enquanto na área urbana, foram selecionados 3 parques municipais situados na região mais urbanizada da cidade, com grande concentração de edifícios, avenidas e pessoas, inclusive circulando no interior dos parques.

Dentre os 3 parques, o maior foi o Parque Areião, com 240.000 m² (AMMA, 2016). Sua vegetação é formada por remanescentes de mata ciliar, mata de galeria e mata seca (Tabela 2). O segundo em tamanho foi o Bosque dos Buritis, com uma área atual de 124.800 m² e vegetação formada por remanescentes de mata seca e vereda de buritis (AMMA, 2016) (Tabela 2). O Parque Vaca Brava é um remanescente de mata seca e sua área é de 77.760 m² (AMMA, 2016) (Tabela 2). Os três locais abrigam nascentes dos córregos que deram nome aos respectivos parques.

A área de captura situada na zona rural de Bela Vista, foi composta por fragmentos de vegetação nativa pequenos e sem conexão entre eles. Dois fragmentos maiores estavam a cerca de 400 metros e 1200 metros dos pontos onde ocorreram as capturas. As áreas de plantio e pastagem são predominantes na região. Em Urutaí, os fragmentos de vegetação são mais preservados e visivelmente maiores, porém, áreas de plantio e pastagem também circundam tais fragmentos, embora fosse de maneira menos intensa do que em Bela Vista. Esses locais de captura em Bela Vista e Urutaí distam, respectivamente, cerca de 70 km e 170 km do perímetro urbano de Goiânia, reduzindo a possibilidade de fluxo de indivíduos entre os locais de captura.

Tabela 2 - Locais amostrados dentro do ambiente urbano, com a extensão da área de cada parque e o tipo de vegetação remanescente

Locais	Área (m²)	Tipo de Vegetação
Parque Areião	240.000 m ²	Mata ciliar, mata de galeria e mata seca
Parque Vaca Brava	77.760 m ²	Mata seca
Bosque dos Buritis	124.800 m ²	Mata seca e vereda de buritis

3.3. Ensaio Cometa

Para a realização do ensaio cometa, as lâminas foram preparadas com uma pré-cobertura de agarose “*Normal Melting*” a 1,5%. Foram utilizados 14 µL de sangue de cada amostra e homogeneizados em 120 µL de agarose “*Low Melting Point*” a 0,5%, aquecida em termobloco a 40°C. Essa mistura foi colocada sobre a lâmina preparada previamente e coberta com uma lamínula. As lâminas foram colocadas na geladeira por três a cinco minutos a 4°C para que ocorresse a solidificação do material. Após esse tempo, as lamínulas foram retiradas e as lâminas, imersas em tampão de lise por 24 horas.

Após 24 horas, as lâminas foram retiradas da lise e colocadas em uma cuba horizontal de eletroforese, incubadas em tampão alcalino por 30 minutos. A corrida eletroforética foi realizada por 25 minutos, a 25 volts, 7 watts e 300 mA. A neutralização foi feita com uma solução Tampão Tris a 0,4 M (pH 7,5) por três vezes, durante 5 minutos.

Após a neutralização, as lâminas foram lavadas duas vezes com água destilada e colocadas para secar na posição inclinada. A fixação foi feita com etanol absoluto por 10 minutos e para a análise das lâminas o DNA foi corado com 15 µL da solução de brometo de etídio a 10 ng/µL. O material foi coberto com uma lamínula e levado ao microscópio de fluorescência, utilizando um conjunto de filtros de excitação 515-560 nm, para fluorescência vermelha. Os núcleos das células foram visualizados utilizando a objetiva de 10X e a imagem fluorescente foi captada utilizando o “*software*” ZEN 2012[®].

Foram analisadas duas lâminas para cada indivíduo amostrado e foram contadas, em média, 550 células por indivíduo, as quais foram avaliadas com o auxílio do programa “*ImageJ*” 64 bit, versão 1.48, junto do plugin “*OpenComet*” versão 1.3 (Gyori *et al.*, 2014).

Dentre os parâmetros de quantificação de danos ao DNA registrados no *OpenComet* após análise das imagens, foram selecionados 3 parâmetros principais: porcentagem de DNA na cauda (% DNA), comprimento da cauda (CC) e momento da cauda de Olive (MCO). A

escolha desses 3 parâmetros foi baseada na eficiência em melhor explicar o dano ao DNA nas células e prover informações biologicamente significativas em estudos de genotoxicidade (Dhawan e Anderson, 2009).

3.4. Análise estatística

Inicialmente, foram analisados os dados obtidos apenas na área urbana, considerando as 3 espécies (*A. planirostris*, *A. lituratus* e *P. lineatus*). Foi executada uma análise de covariância (ANCOVA) para testar a relação dos locais e o peso sobre o dano ao DNA de todas as amostras. Com a análise de variância de 1 fator (ANOVA *one way*) foi testada a relação entre os locais x peso, além da relação entre espécie x dano e espécie x peso. Outras 3 análises de covariância foram executadas de forma independente para cada espécie, desagrupando os dados coletados na área urbana que, previamente foram analisados juntos.

Na sequência, foi realizada a análise dos dados obtidos somente no ambiente não urbano, onde foram capturados apenas indivíduos da espécie *A. planirostris*. Usando a análise de covariância, foi testado se o dano ao DNA está relacionado aos locais amostrados e ao peso dos morcegos.

Por fim, na análise de comparação entre ambiente urbano e não urbano, foi executada uma ANCOVA para testar a influência do tipo de ambiente e do peso sobre o dano ao DNA da espécie *A. planirostris*. Outra ANCOVA foi executada para comparar os ambientes e o peso, porém, mostrando os resultados individuais dos 5 locais amostrados (3 no ambiente urbano e 2 no ambiente não urbano). Um teste t para amostras independentes, comparou as médias de peso dos indivíduos de *A. planirostris* entre os dois ambientes.

Vale ressaltar que para a execução das análises estatísticas os dados foram logaritmizados. Todas as análises foram executadas no software Statistica7®, considerando um intervalo de confiança de 95% e um nível de significância $p < 0,05$.

4. Resultados

Foram amostrados no total, 136 espécimes de morcegos: 37 *A. lituratus*, 32 *A. planirostris* e 33 *P. lineatus* no ambiente urbano. Em ambiente não urbano, foram 34 *A. planirostris*, conforme a Tabela 1, que também informa os locais de captura, o tipo de ambiente para cada local e as respectivas coordenadas geográficas.

Os resultados obtidos estão separados por tipo de ambiente (urbano e não urbano), além de um terceiro tópico que mostra a comparação entre eles. A análise de comparação entre ambientes ficou restrita à espécie *A. planirostris*, em face da não captura de *A. lituratus*, nem de *P. lineatus*, fora do ambiente urbano.

4.1. Ambiente urbano

Considerando a análise conjunta das 3 espécies, houve diferenças estatisticamente significativas do dano ao DNA entre os locais amostrados na área urbana ($p < 0,001$). Contudo, não houve a influência do peso como uma covariável desse dano ($p = 0,7846$).

No Parque Areião, o dano ao DNA foi menor. No Bosque dos Buritis e no Vaca Brava os valores obtidos foram mais próximos entre si, porém superiores no Vaca Brava, que teve o dano ao DNA mais elevado dentre os 3 parques. A distribuição dos resultados mostra os três parâmetros de dano ao DNA do cometa avaliados no estudo (CC, %DNA e MCO) e a variação no dano entre os parques (Figura 1).

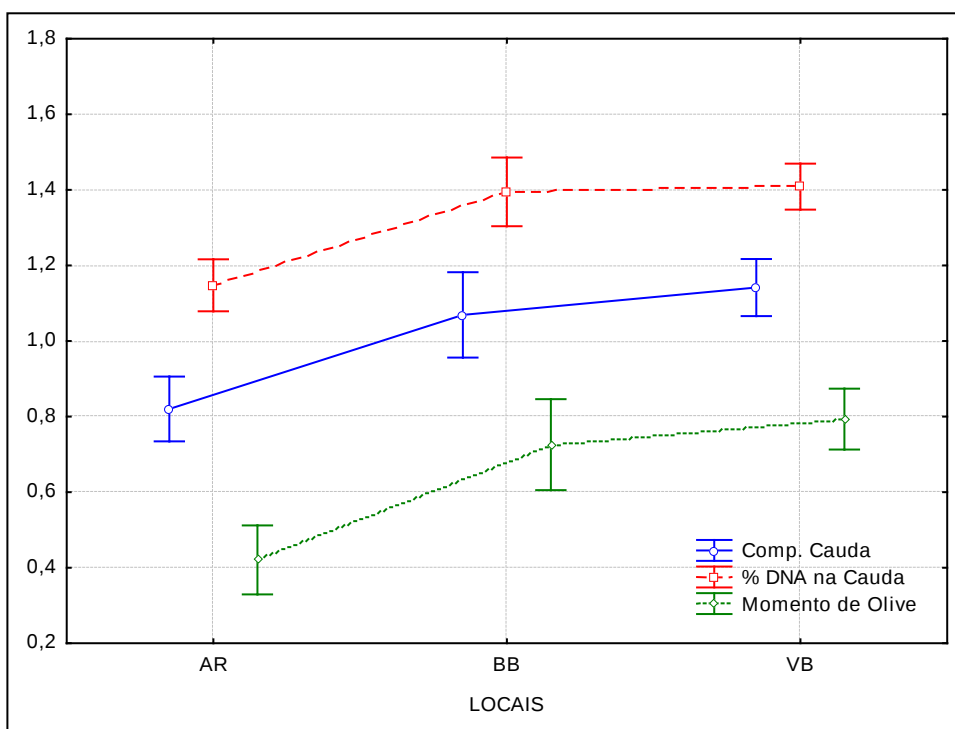


Figura 1 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando a variação do dano entre os três locais de captura no ambiente urbano (Areião, Bosque dos Buritis e Vaca Brava).

Ao testar o efeito dos locais de captura sobre a variação do peso nos morcegos, houve significância estatística na relação, com influência dos parques no peso médio ($p = 0,0427$). Os morcegos capturados no Parque Areião, tiveram o maior peso, no Bosque dos Buritis os valores foram intermediários e no Parque Vaca Brava, tiveram o menor peso (Figura 2).

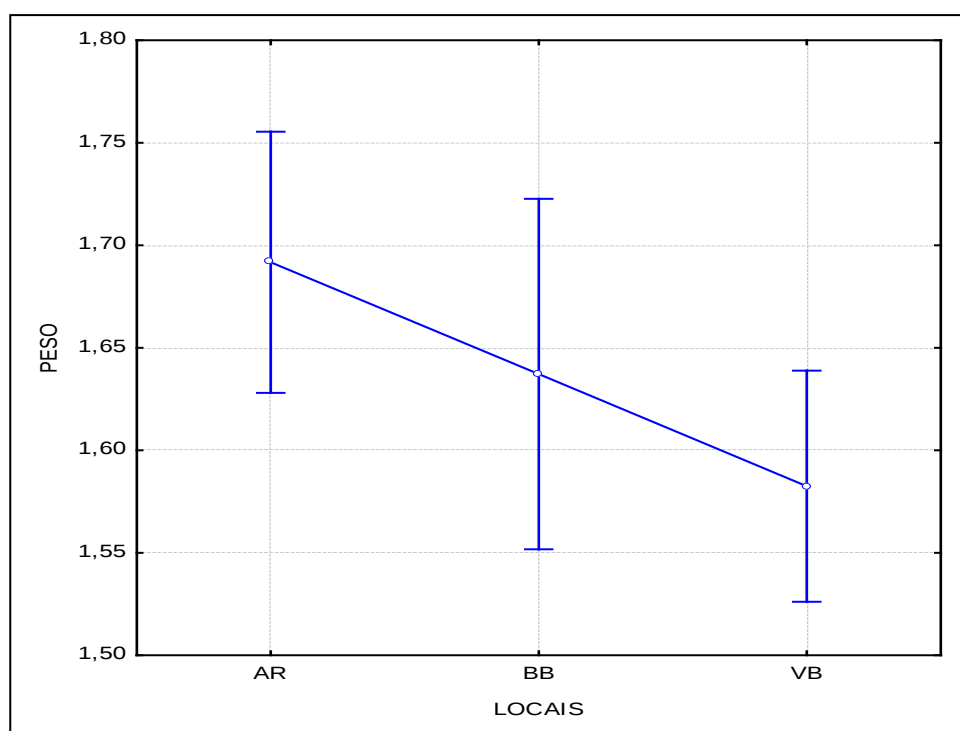


Figura 2 – Distribuição do peso médio dos morcegos amostrados conforme os locais de captura em ambiente urbano, sem distinção por espécie. No Areião os morcegos tiveram maior peso e no Vaca Brava tiveram o menor peso.

Na comparação por espécie, nota-se a diferença de peso entre elas e, durante as capturas, essa diferença é evidente. A distribuição gráfica auxilia na compreensão dos resultados e ilustra essa variação. Como esperado, *A. lituratus* foi a espécie com maior peso médio, seguida de *A. planirostris* e *P. lineatus* contendo o menor peso (Figura 3).

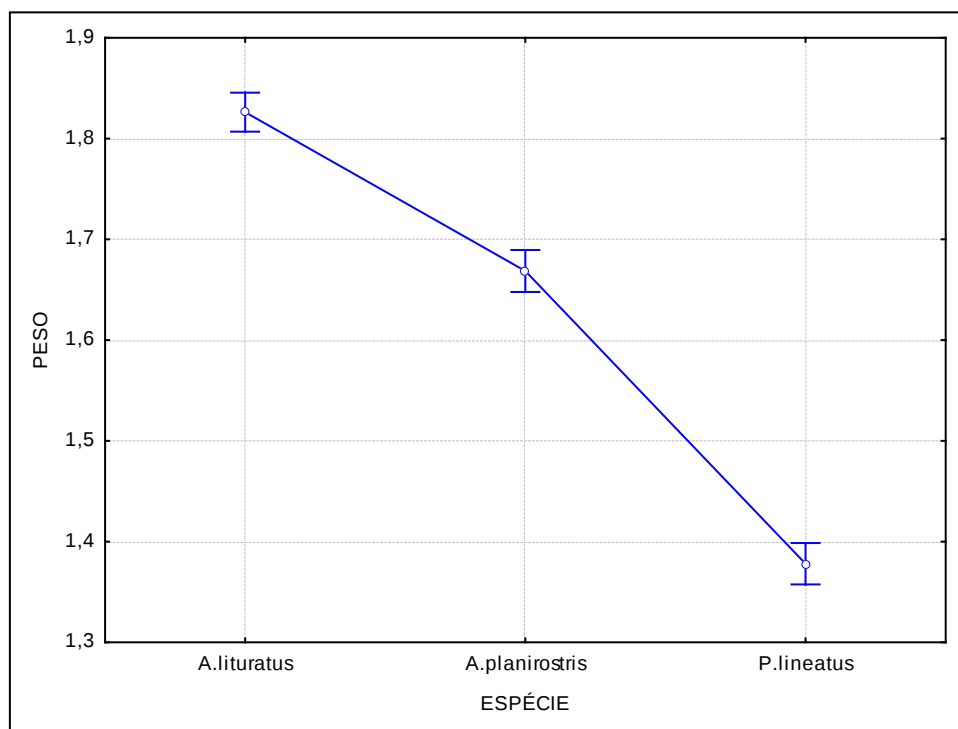


Figura 3 – Distribuição dos valores médios de peso entre as três espécies estudadas. *A. lituratus* é a espécie maior e mais pesada, seguida por *A. planirostris* e a menor é *P. lineatus* contendo o menor peso.

Quanto ao dano ao DNA de cada espécie, os menores valores foram encontrados em *A. lituratus*, seguidos por *P. lineatus*. Os valores de dano ao DNA mais elevados foram encontrados em *A. planirostris*. No entanto, entre as espécies, o dano ao DNA não foi estatisticamente significativo ($p = 0,3871$) em nenhum dos 3 parâmetros do ensaio cometa (Figura 4).

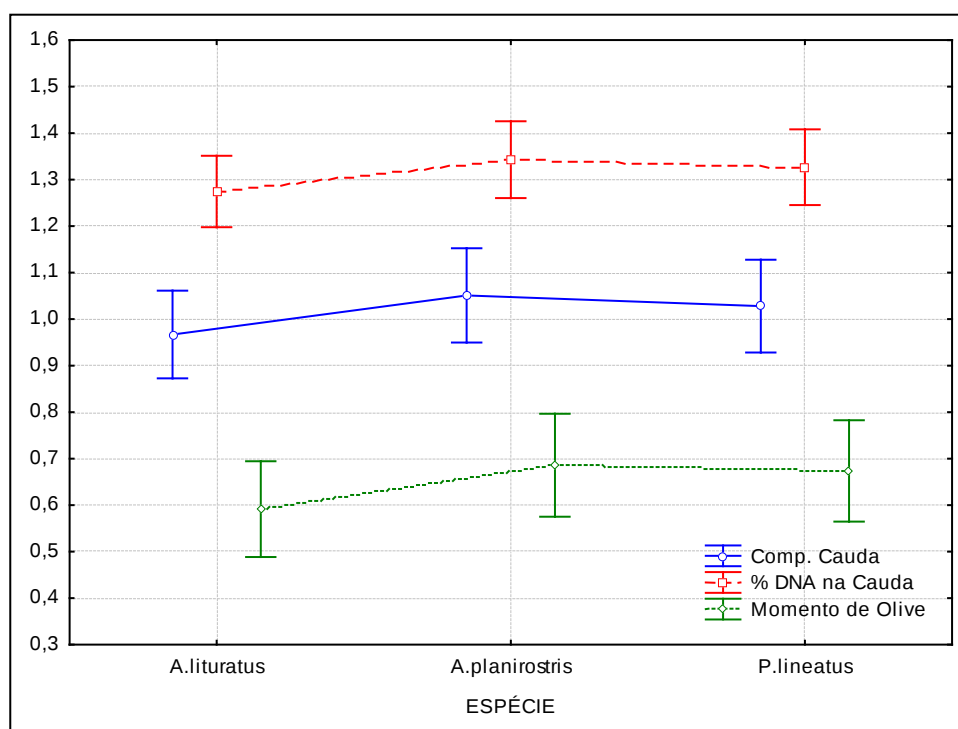


Figura 4 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre as três espécies estudadas no ambiente urbano (*A. lituratus*, *A. planirostris* e *P. lineatus*).

Os resultados da comparação entre os parques e entre as espécies, foram agrupados para mostrar como variou cada parâmetro de dano ao DNA em cada espécie dentro dos parques (Figura 5) e em cada parque, considerando o conjunto das espécies (Figura 6).

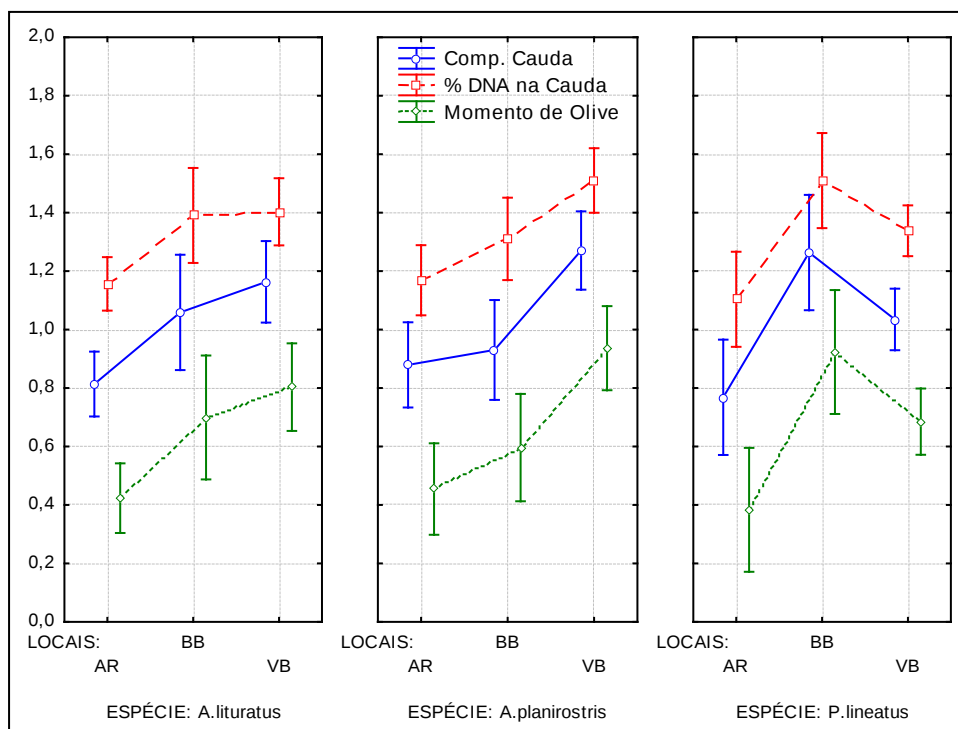


Figura 5 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre as três espécies de forma simultânea nos três parques em ambiente urbano.

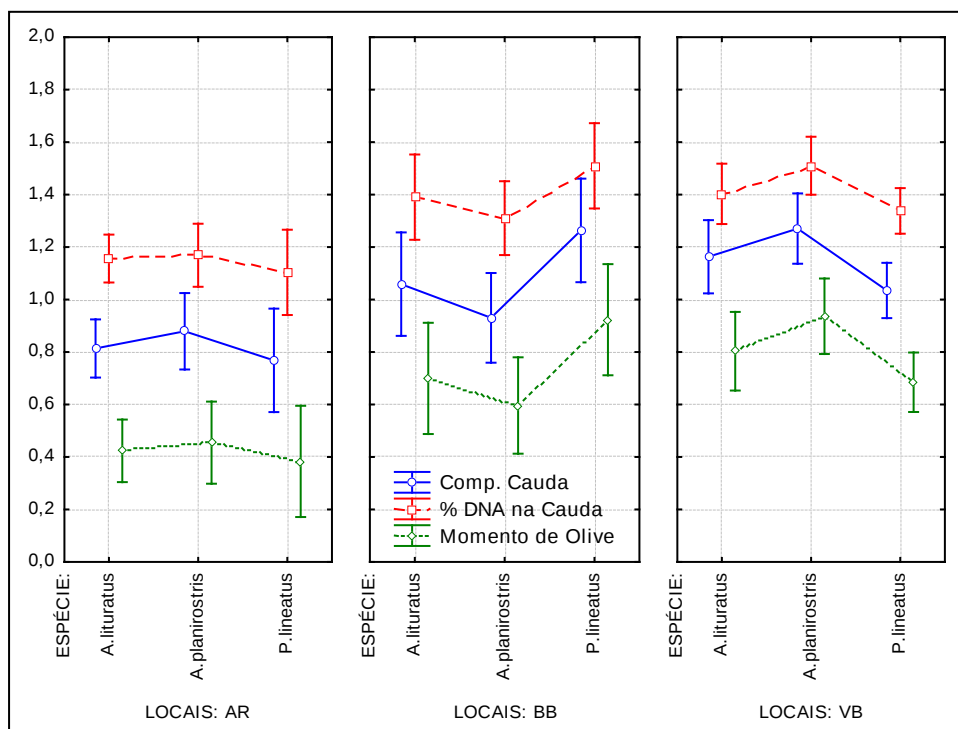


Figura 6 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques de forma simultânea para as três espécies amostradas no ambiente urbano.

Após análise simultânea das 3 espécies, os dados foram isolados e analisados para cada uma delas, buscando saber de maneira independente, como respondem ao ambiente urbano. A relação entre o dano ao DNA e os parques urbanos foi significativa para *A. lituratus* ($p < 0,001$), mas o peso dos indivíduos não teve influência sobre os valores de dano obtidos ($p = 0,602$). Os três parâmetros do ensaio cometa demonstraram que o dano ao DNA foi menor no Parque Areião, seguido do Bosque dos Buritis. Os valores mais elevados de dano ao DNA foram encontrados em morcegos amostrados no Parque Vaca Brava (Figura 7).

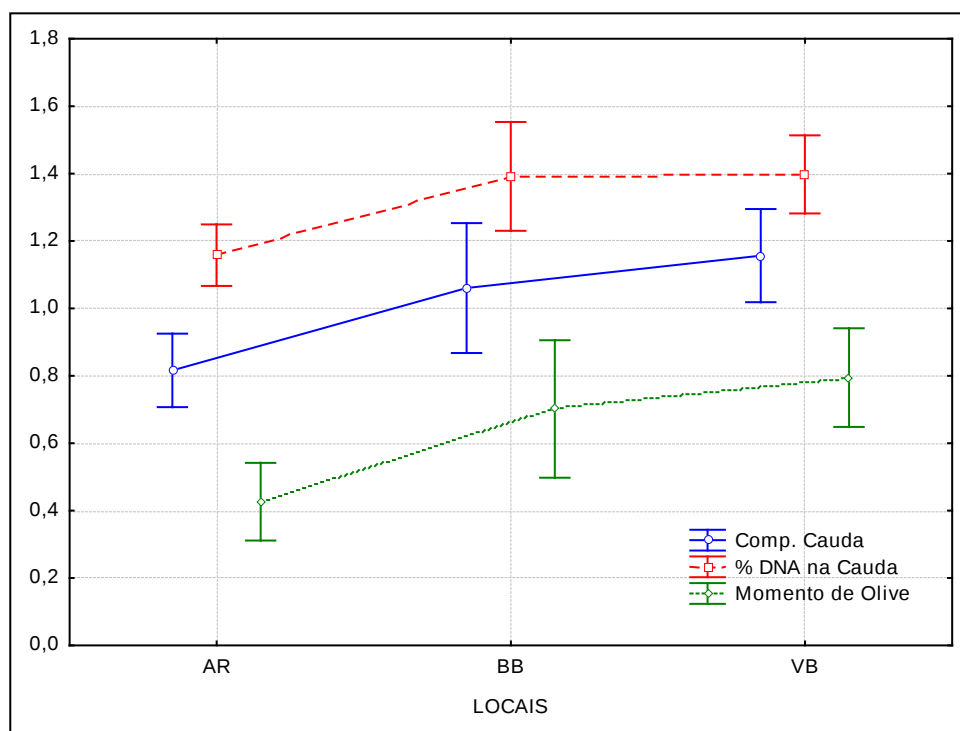


Figura 7 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques urbanos para a espécie *A. lituratus*.

Para a espécie *A. planirostris*, a relação entre o dano ao DNA e os parques urbanos apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$), porém, sem influência do peso como uma covariável do dano ao DNA ($p = 0,993$). A distribuição dos três parâmetros

demonstrou que o dano ao DNA foi menor no Parque Areião, depois no Bosque dos Buritis e o maior dano foi encontrado no Parque Vaca Brava (Figura 8).

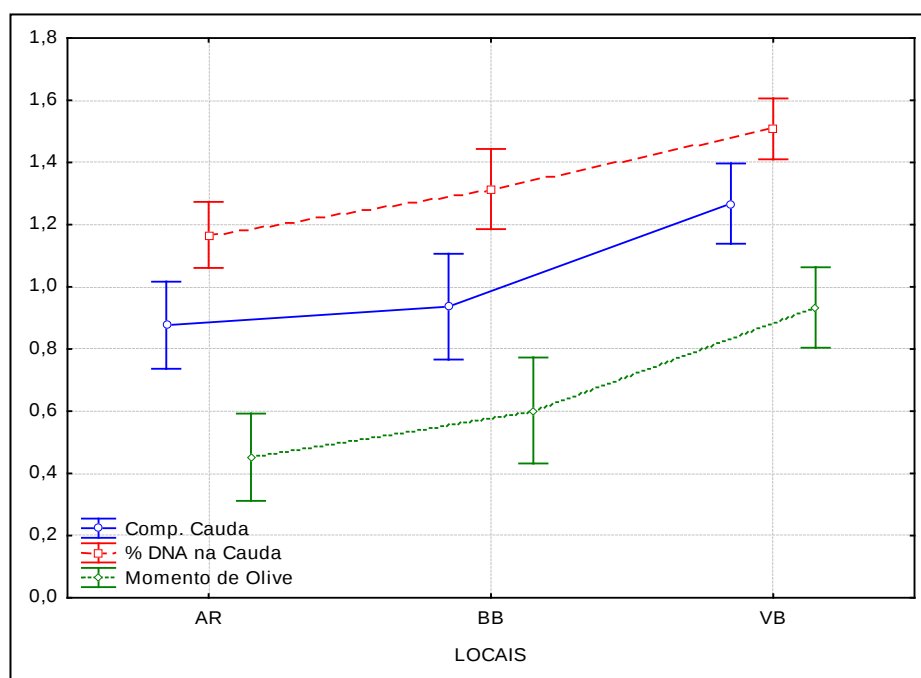


Figura 8 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques urbanos para a espécie *A. planirostris*.

Quanto à espécie *P. lineatus*, o dano ao DNA foi menor no Parque Areião, seguido do Parque Vaca Brava. Valores superiores de dano ao DNA foram encontrados em morcegos amostrados no Bosque dos Buritis (Figura 9). No entanto, a relação entre os parques ($p = 0,156$) e o peso ($p = 0,351$) com o dano ao DNA, não foi estatisticamente significativa.

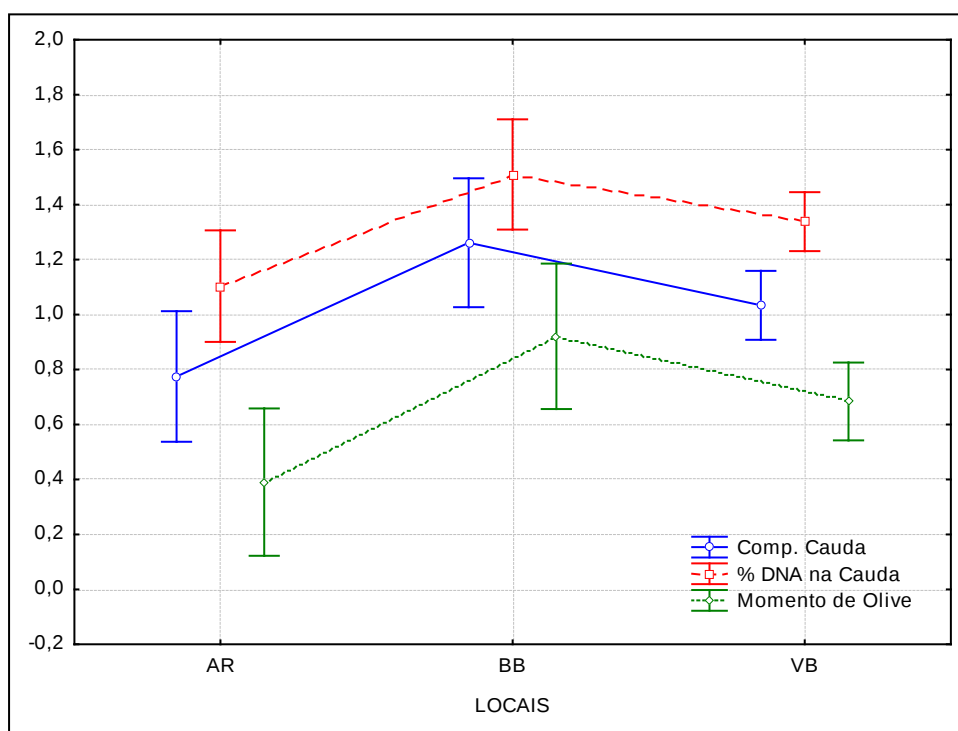


Figura 9 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os 3 parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os três parques urbanos para a espécie *P. lineatus*.

4.2. Ambiente não urbano

Apenas a espécie *A. planirostris* foi amostrada nos municípios de Bela Vista e Urutaí. Os resultados demonstraram que o dano ao DNA foi menor em Bela Vista e mais elevado em Urutaí (Figura 10). Nesses locais, o peso dos indivíduos foi estatisticamente significativo na variação do dano ao DNA ($p = 0,004$), ao contrário dos achados no ambiente urbano. No entanto, ao compararmos os valores de dano entre as duas localidades (Bela Vista e Urutaí) não houve diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,119$).

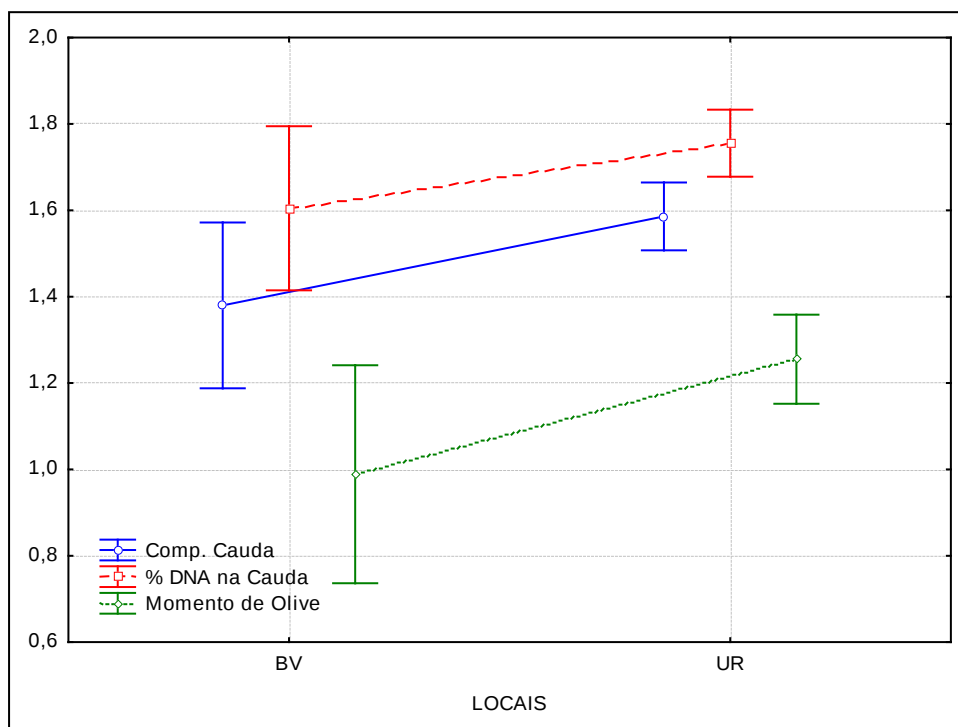


Figura 10 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os três parâmetros do ensaio cometa, demonstrando como variou o dano entre os dois locais amostrados em ambiente não urbano para a espécie *A. planirostris*.

4.3. Comparação entre ambientes

O dano ao DNA variou de forma significativa entre os dois ambientes ($p < 0,001$), sendo mais elevado na área não urbana e menor na área urbana (Figura 11). No entanto, a análise dos dados obtidos para a espécie *A. planirostris*, demonstrou que o peso não foi estatisticamente significativo como uma covariável do dano ($p = 0,284$). A variação nos resultados pode ser vista de maneira mais informativa na distribuição dos parâmetros de dano ao DNA em todas as áreas amostradas no estudo (Figura 12).

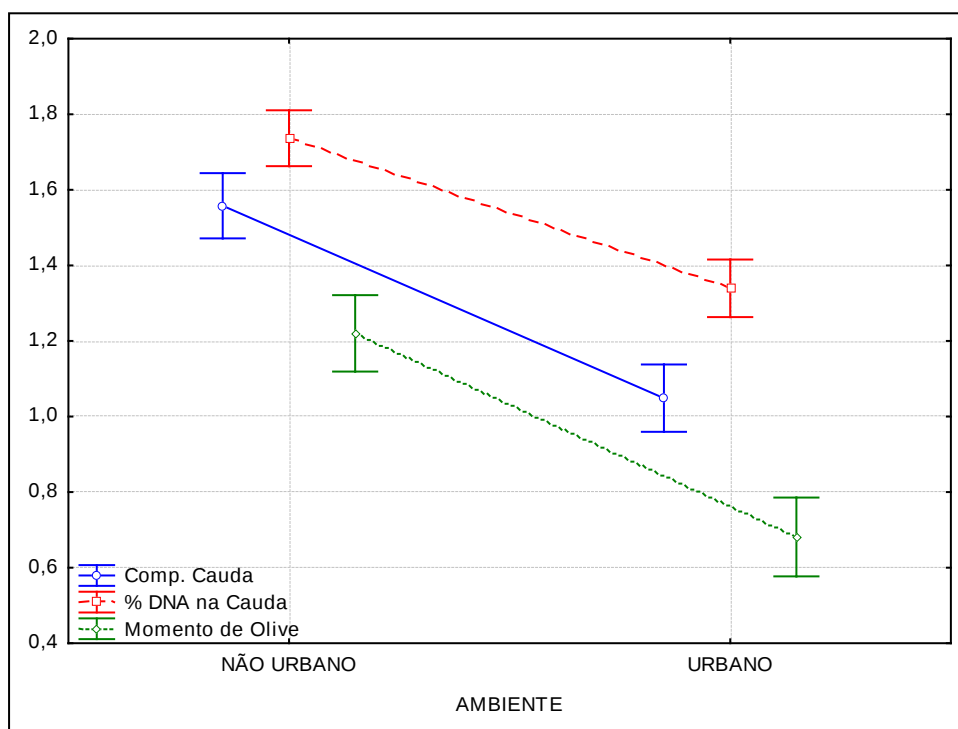


Figura 11 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os três parâmetros do ensaio cometa, demonstrando a variação no dano entre os ambientes urbano e não urbano para a espécie *A. planirostris*.

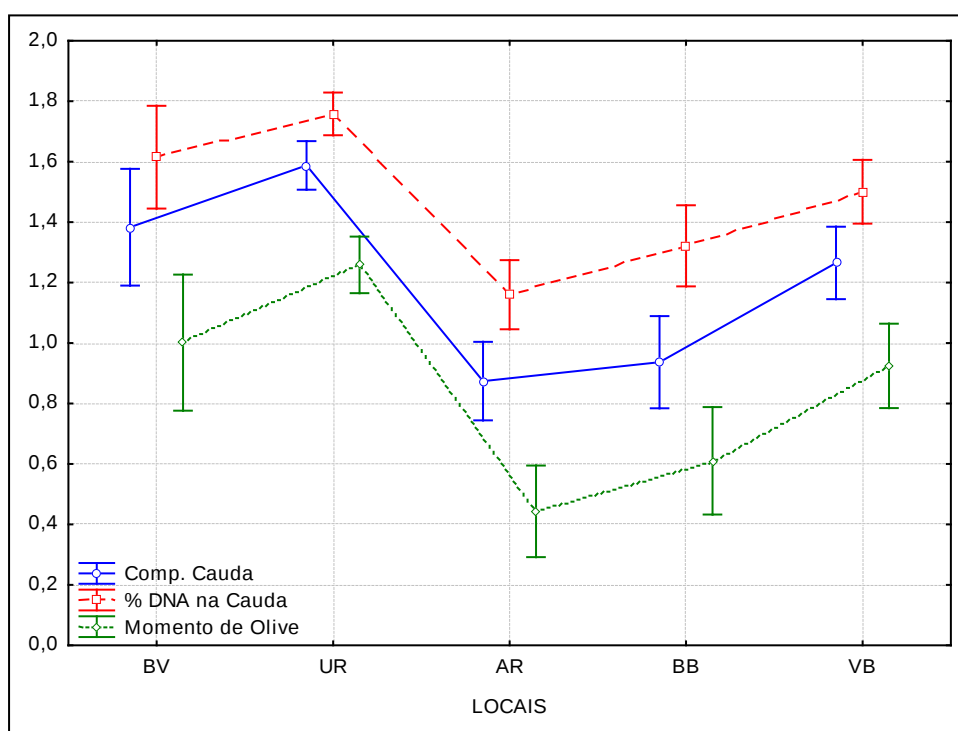


Figura 12 – Distribuição dos valores de dano ao DNA para os três parâmetros do ensaio cometa, demonstrando a variação no dano entre os ambientes urbano e não urbano, além de demonstrar a variação em cada um dos cinco locais amostrados para a espécie *A. planirostris*.

Finalmente, a comparação das médias de peso dos indivíduos capturados nos ambientes urbano e não urbano, não mostraram diferença estatisticamente significativa ($p = 0,3377$), indicando que o peso de *A. planirostris* foi semelhante nos dois ambientes (Figura 13).

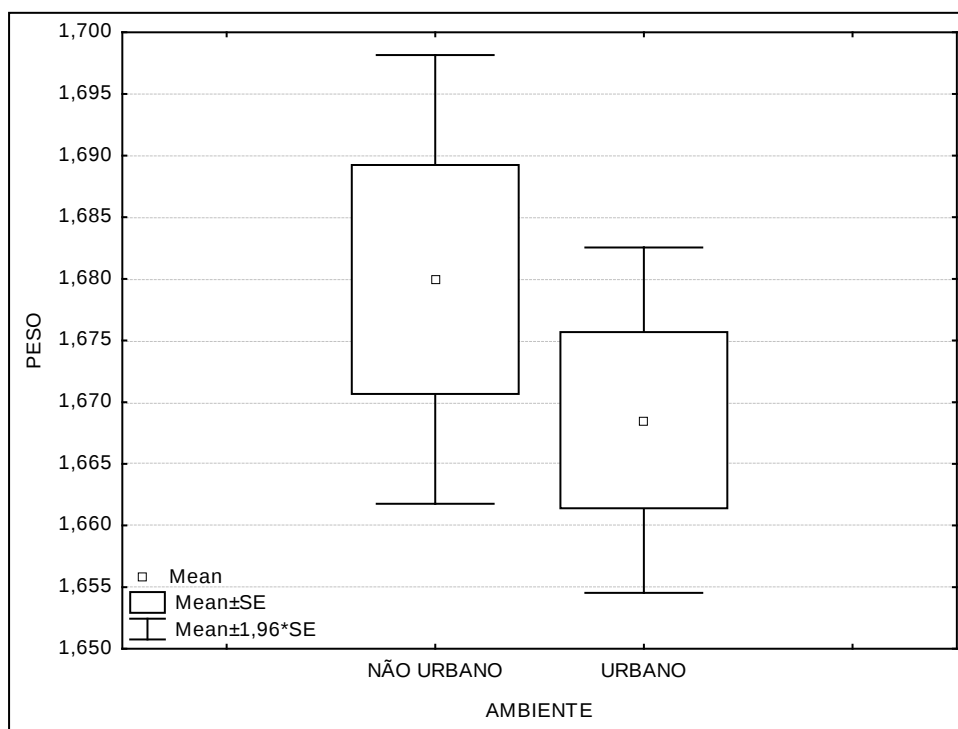


Figura 13 – Distribuição dos valores do peso médio para a espécie *A. planirostris*, comparando a variação no peso dos indivíduos amostrados no ambiente urbano e não urbano.

5. Discussão

Este estudo demonstrou uma abordagem inédita para a avaliação do dano ao DNA em morcegos usando o ensaio cometa, por partir do pressuposto de que os ambientes urbano e não urbano provocam alterações significativas na frequência de dano ao DNA em espécies generalistas que toleram ambientes degradados e por isso estão sujeitas a fatores diversos, inerentes a esses ambientes.

Embora adaptadas ao ambiente urbano e não urbano onde há elevada degradação da vegetação nativa, há variáveis ainda desconhecidas impactando as populações das espécies consideradas neste estudo (*A. planirostris*, *A. lituratus*, *P. lineatus*). A reprodução, busca por abrigo e alimento de forma satisfatória em pequenos fragmentos de vegetação remanescente, não isenta essas espécies de impactos adicionais relacionados direta ou indiretamente com a perda de habitat.

No ambiente urbano, foi comprovada a associação do dano ao DNA com os locais de captura, analisando todos os dados, sem distinguir os indivíduos de cada espécie. No entanto, o peso dos animais não teve significância como covariável do dano ($p = 0,7846$). Os parâmetros de dano ao DNA (CC, %DNA e MCO) demonstram que o menor valor de dano foi encontrado no Parque Areião, seguido pelo Bosque dos Buritis e o maior valor no Parque Vaca Brava. Não se sabe de forma exata o que causa essa variação no dano entre os parques, mas o acúmulo de dano foi inversamente proporcional à área de cada parque, ou seja, conforme a área do parque reduz, o dano ao DNA aumenta.

Pode haver uma relação indireta entre o dano ao DNA e o efeito de borda, que afeta fragmentos menores de maneira mais intensa e pode ocasionar redução na disponibilidade de recursos (Benítez-Malvido e Arroyo-Rodríguez, 2008). Além disso, pode acarretar o aumento da competição inter e intraespecífica, forçando os animais a buscar alimento em fragmentos mais distantes, especialmente na estação seca, quando a oferta de alimento é naturalmente

menor para espécies frugívoras (Lopez e Vaughan, 2007). Essas suposições corroboram para um cenário onde fragmentos menores de vegetação vão expor os morcegos a mais fatores de estresse ou intensificar os que já existem, elevando a frequência de dano ao DNA nos indivíduos. De maneira adicional, quanto menor o fragmento de vegetação, mais exposta estará a fauna aos impactos da poluição atmosférica, luminosa e sonora presentes no ambiente urbano. Assim, o dano ao DNA maior em áreas menores, pode ser o resultado de parte desses fatores, a soma ou interação deles, com a possibilidade de outros fatores que não foram considerados.

Embora os resultados demonstrem que, no ambiente urbano, sem distinguir por espécie, o peso dos morcegos não tem relação com o dano ao DNA, houve variação significativa do peso entre os locais de captura. A distribuição da média para cada local demonstra que no maior parque (Areião) foi onde os morcegos tiveram o maior peso médio, logo após vem o Bosque dos Buritis e por último o Vaca Brava (menor parque) com o menor peso médio. Neste ponto, o conhecimento sobre a morfologia e morfometria das espécies é fundamental para esclarecer que apesar da significância estatística, a variação do peso entre as áreas possui um viés. Quando adultos, *A. lituratus*, *A. planirostris* e *P. lineatus* diferem em peso e tamanho. No Parque Areião onde o peso médio dos morcegos foi maior, predominou a captura de *A. lituratus*, que é a maior dentre as 3 espécies. Já no Parque Vaca Brava onde o peso médio foi menor, predominou a captura de *P. lineatus*, que é a espécie menor. Esse viés pode ser eliminado amostrando um número semelhante de indivíduos de cada espécie por parque, para confirmar de maneira segura se o tamanho dos parques interfere no peso médio dos morcegos.

A diferença de peso entre as espécies é perceptível nas capturas de campo e também foi demonstrada nos resultados. No entanto, não houve relação entre o tamanho das espécies e a variação no dano entre elas, indicando que fatores de estresse e poluição podem estar agindo

de maneira semelhante em *A. lituratus*, *A. planirostris* e *P. lineatus* dentro do ambiente urbano. Seja devido à semelhança de hábitos entre elas, já que as três são frugívoras e forrageiam nos mesmos fragmentos, ou pela intensidade com que estão sendo impactadas.

Com a análise individual de cada espécie no ambiente urbano, foi demonstrado que a variação no dano ao DNA entre elas não foi estatisticamente significativa. Indicando que talvez *P. lineatus*, seja uma espécie mais sensível para outros fatores estressores que não sejam os locais e o peso, já que eles não tiveram influência significativa no dano ao DNA dessa espécie. No entanto, os valores encontrados foram semelhantes àqueles obtidos para *A. lituratus* e *A. planirostris*, cujo dano ao DNA foi influenciado de forma significativa pelos locais.

Mesmo diferindo em tamanho, nenhuma das espécies no ambiente urbano teve o dano ao DNA influenciado pelo peso. No entanto, os locais estão relacionados ao dano ao DNA de *A. lituratus* e *A. planirostris*, que apresentam semelhanças no tamanho, morfologia e são as duas maiores espécies do estudo. Talvez isso indique que a área dos parques não provê de forma satisfatória, recursos energéticos suficientes para espécies maiores, que consomem diariamente mais recursos do que espécies pequenas, forçando assim, um deslocamento mais frequente entre as áreas de forrageamento, elevando o dano ao DNA em consequência do estresse causado.

Quanto à análise de *A. planirostris* no ambiente não urbano, o dano ao DNA foi maior em Urutaí quando comparado a Bela Vista. Houve influência do peso sobre o dano ao DNA, porém, não houve influência significativa dos locais de captura. Esse resultado, oposto ao encontrado no ambiente urbano, pode estar relacionado às diferenças do ambiente ou pode ser devido ao pequeno número amostral em Bela Vista, no qual foram capturados 5 indivíduos, enquanto em Urutaí foram 29 indivíduos amostrados.

A comparação entre os ambientes urbano e não urbano demonstrou que o dano

genético foi maior no ambiente não urbano (Urutaí e Bela Vista), cuja paisagem é dominada pelo pasto e áreas destinadas à agricultura. Em maior ou menor grau, os ambientes urbano e não urbano, são o resultado do processo de degradação do ambiente natural com propósitos específicos. As atividades distintas que predominam em cada ambiente, como a urbanização ou a agricultura, conferem características marcantes que permitem distingui-los facilmente, como a concentração do uso de agrotóxicos e pesticidas no ambiente não urbano e a grande alteração da paisagem natural no ambiente urbano.

O elevado potencial de genotoxicidade no ambiente não urbano já foi demonstrado em outros estudos, nos quais foram avaliados outros vertebrados (Lowcok *et al.*, 1997; Ralph e Pietras, 1997; Yadav *et al.*, 2013; Gonçalves *et al.*, 2015). Os animais coletados em áreas agrícolas apresentaram maiores níveis de dano ao DNA do que indivíduos coletados em áreas distantes de quaisquer atividade agrícola (Gonçalves *et al.*, 2015). Tais achados demonstram o impacto de agentes químicos utilizados em lavouras, como os pesticidas, no material genético de diversas espécies, podendo estar associado ao dano ao DNA encontrado nos morcegos. Portanto, é importante ressaltar que, a facilidade com que as espécies desse estudo se adaptam a ambientes antropizados, garante alimento e abrigo de forma satisfatória, mas por outro lado, aumenta a exposição a diversos estressores ambientais.

Assim, para *A. planirostris* é possível que o dano ao DNA mais elevado em áreas não urbanas, seja o resultado do uso de agrotóxicos e pesticidas em atividades agrícolas próximas aos fragmentos de vegetação visitados pelos morcegos. A intensificação dessas atividades, pode reduzir a disponibilidade de alimento, comprometer sua sobrevivência devido a perda de locais de refúgio e exposição direta e indireta a compostos tóxicos (Stebbins, 1988; Park, 2015). Além disso, estudos de captura tem mostrado redução na abundância e riqueza de espécies de morcegos a medida que a vegetação nativa é convertida em pasto e monoculturas (Estrada *et al.*, 1993; Harvey e Villalobos, 2007; Castro-Luna e Galindo-Gonzales, 2012).

Outros estudos que avaliaram o dano ao DNA em morcegos pelo ensaio cometa, demonstraram que houve aumento no dano ao DNA em animais expostos a fatores de estresse em áreas impactadas. No estudo de Meehan *et al.*, (2004), o dano ao DNA em *Rhinolophus capensis* foi superior nos indivíduos que se abrigavam em uma mina abandonada de monazita, de onde se extrai o metal radioativo Tório 232. Zocche *et al.*, (2010) demonstraram que, para *Tadarida brasiliensis* o dano ao DNA foi mais elevado em uma área de mineração de carvão, do que na área sem mineração e, Naidoo, *et al.*, (2014), estudaram indivíduos de *Neoromicia nana* forrageando em uma estação de tratamento de resíduos, onde o dano ao DNA foi mais elevado do que em áreas não poluídas. Nos estudos desses autores, havia uma fonte explícita causadora do dano ao DNA sendo comparada ao controle não exposto, enquanto neste estudo a comparação ocorreu entre dois ambientes degradados que possuem diferentes fontes estressoras, buscando demonstrar em qual ambiente os morcegos são mais impactados. Porém, apesar das diferenças no delineamento experimental entre este estudo e os demais que avaliaram o dano ao DNA em morcegos pelo ensaio cometa, todos apontam que o aumento no dano ao DNA é em decorrência da exposição desses animais a fontes de poluição e estresse providas pelo homem.

É necessário destacar ainda que, as espécies selecionadas para este estudo são frugívoras (*A. lituratus*, *A. planirostris* e *P. lineatus*), enquanto Meehan *et al.*, (2004), Zocche *et al.*, (2010) e Naidoo, *et al.*, (2014) estudaram espécies insetívoras (*R. capensis*, *N. nana*, *M. molossus*, *T. brasiliensis* e *E. diminutus*), com hábitos distintos de forrageamento e busca por abrigo. No estudo de Naidoo, *et al.*, (2014), a principal fonte de forrageamento de *N. nana* eram insetos contaminados e tolerantes a poluição, demonstrando a possível relação entre hábito alimentar, acúmulo de metais pesados e aumento na frequência de dano ao DNA. Isso indica que estudos de genotoxicidade com espécies frugívoras, comparados a estudos de espécies insetívoras, podem contribuir para um melhor entendimento de como morcegos com

adaptações ecológicas tão distintas respondem aos impactos de atividades antrópicas, a exemplo da agricultura e expansão urbana.

Com base nos resultados, não se pode afirmar que não há impacto do ambiente urbano sobre os indivíduos de *A. planirostris* amostrados nos parques ou que este ambiente é mais saudável para os morcegos devido a um menor dano ao DNA. O que se pode afirmar é que, no ambiente sem urbanização, essa espécie está sofrendo maior impacto. Até então, acreditava-se que o ambiente urbano seria mais nocivo aos morcegos, por estar repleto de estruturas artificiais e diversas fontes de poluição e estresse, como iluminação artificial e barulho constante (Francis e Barber, 2013; Stone *et al.*, 2009). No entanto, cada espécie de morcego responde de maneira diferente ao processo de urbanização (Russo e Ancillotto, 2015) e alterações na vegetação nativa (Park, 2015). Como mostraram Araújo e Bernard (2015), a perda da vegetação remanescente é o principal fator que leva à redução da riqueza de espécies de morcegos, enquanto Ripperger *et al.*, (2015), mostraram que morcegos frugívoros como *Dermanura watsoni*, da mesma subfamília de *A. planirostris*, não encontram problemas para atravessar áreas agrícolas, porém, dependem fortemente de fragmentos de vegetação nativa para buscar abrigo e alimentação. Assim, apesar dos fragmentos de vegetação nativa terem papel essencial na manutenção de populações de morcegos tanto em áreas urbanas (Araújo e Bernard, 2015) quanto não urbanas (Ripperger *et al.*, 2015), não basta que haja fragmentos preservados de vegetação nativa para garantir a sobrevivência dos morcegos.

Tais populações podem sofrer impactos, além daqueles decorrentes da fragmentação e perda de habitat, como acontece no aumento de dano ao DNA pela exposição a contaminantes ambientais de uso agrícola, lançados próximos a seus abrigos ou carregados pelo vento e pela água, além de outras formas de poluição. E embora muitas espécies de morcegos estejam adaptadas ao meio urbano e isso lhes conceda uma certa vantagem sobre espécies mais

sensíveis a alterações ambientais, a fauna de morcegos das cidades não está livre de ameaças (Threlfall *et al.*, 2011; Russo e Ancillotto, 2015). Dessa forma, para compreender melhor a dinâmica ecológica dos morcegos em áreas urbanas e não urbanas, e quais os tipos de impactos cada espécie está sujeita nesses ambientes, é necessário realizar mais pesquisas contemplando uma diversidade maior de espécies em diferentes ambientes, para a criação de estratégias de conservação mais eficientes voltadas para situações específicas.

6. Conclusões

A análise dos resultados desse estudo permitiu obter as seguintes conclusões:

- No ambiente urbano, sem distinção entre espécies, houve relação estatisticamente significativa entre o dano genético e os locais de captura, com ausência da influência do peso dos morcegos no dano.
- O dano genético no ambiente urbano foi inversamente proporcional ao tamanho dos parques (conforme a área do parque aumentou, houve redução no dano genético).
- A comparação entre as espécies demonstrou que, no ambiente urbano, não houve variação estatisticamente significativa no dano genético entre elas.
- A análise do dano genético para a espécie *A. lituratus* mostrou que há relação entre o dano e os locais de captura, porém, não há relação do peso com o dano.
- A análise do dano genético para a espécie *A. planirostris* mostrou que há relação entre o dano e os locais de captura, porém, não há relação do peso com o dano.
- A análise do dano genético para a espécie *P. lineatus* não mostrou significância estatística na relação entre locais de captura e peso sobre a variação no dano.
- No ambiente não urbano, a espécie *A. planirostris* mostrou significância estatística na relação entre o peso e o dano, mas não houve relação dos locais de captura com o dano.
- Houve variação significativa no dano genético comparado entre ambiente urbano e não urbano, com valores mais elevados no ambiente não urbano. O peso não foi significativo na variação desse dano.
- A comparação do peso entre os indivíduos da espécie *A. planirostris*, de ambiente urbano e não urbano, não foi significativa, mostrando que o peso foi semelhante nos dois ambientes.

Bibliografia

AGBOR, R. B. *et al.* **A review on comet assay: a reliable tool for assessing DNA damage in animal models.** Journal of Current Research in Science, v. 1, n. 6, p. 405-427, 2013.

ALERSTAM, T. *et al.* **Long-distance migration: evolution and determinants.** Oikos, v. 103, n. 2, p. 247-260, 2003.

ALMEIDA-GOMES, M.; ROCHA, C. F. D. **Habitat loss reduces the diversity of frog reproductive modes in an Atlantic Forest fragmented landscape.** Biotropica, p. 1-6, 2014.

AMMA - Agência Municipal do Meio Ambiente. **Parques e Bosques.** Goiás. Disponível em: <<http://www.goiania.go.gov.br/shtml/amma/parquesebosques.shtml#>>. Acesso em 14 março 2016.

ARAUJO, M. L. V. S.; BERNARD, E. **Green remnants are hotspots for bat activity in a large Brazilian urban area.** Urban Ecosystems, 2015.

ARITA, H. T.; FENTON, M. B. **Flight and echolocation in the ecology and evolution of bats.** Trends in ecology and evolution, v. 12, n. 2, p. 53-58, 1997.

AUSTAD, S. N.; FISCHER, K. E. **Mammalian ageing, metabolism and ecology: evidence from bats and marsupials.** Journal of Gerontology, v. 46, n. 2, p. 47-53, 1991.

BAPTISTA, M. *et al.* **Técnica para punção venosa em morcegos (Mammalia, Chiroptera).** Chiroptera Neotropical, v. 12, n. 2, p. 291-292, dezembro de 2006.

BENÍTEZ-MALVIDO, J; ARROYO-RODRÍGUEZ, V. **Habitat fragmentation, edge effects and biological corridors in tropical ecosystems.** Tropical Biology and Conservation Management, v. 5, p. 122-131, 2009.

BOGDANOWICZ, W. **Pipistrellus kuhlii (Kuhl, 1817) - Weissrandfledermaus.** In: NIETHAMMER, J.; KRAPP, F. (Eds). Handbuch Der Säugetiere Europas 4. Aula Verlag, Wiesbaden, p. 875-908, 2004.

BOLDOGH, S. *et al.* **The effects of the illumination of buildings on house-dwelling bats and its conservation consequences.** Acta Chiropterologica, v. 9, n. 2, p. 527-534, 2007.

BRITTON, N.F. **Destruction and diversity: effects of habitat loss on ecological communities.** In: LEWIS, M. A. *et al.* (Eds.). Dispersal, individual movement and spatial ecology. Lecture Notes in Mathematics, v. 2071, p. 307-330, 2013.

BRUNET-ROSSINNI, A. K. **Reduced free-radical production and extreme longevity in the little brown bat (*Myotis lucifugus*) versus two non-flying mammals.** Mechanisms of Ageing and Development, n. 125, p. 11-20, 2004.

BRUNET-ROSSINNI, A. K.; AUSTAD, S. N. **Ageing studies on bats: a review.**

Biogerontology, n. 5, p. 211-222, 2004.

CABARCAS-MONTALVO, M. *et al.* **Genotoxic effects in blood cells of *Mus musculus* and *Iguana iguana* living near coal mining areas in Colombia.** Science of Total Environment, v. 416, p. 208-214, 2012.

CASTRO-LUNA, A. A.; GALINDO-GONZÁLEZ, J. **Enriching agroecosystems with fruit-producing tree species favors the abundance and richness of frugivorous and nectarivorous bats in Veracruz, Mexico.** Mammalian Biology, v. 77, p. 32-40, 2012.

CLARK, K. E. *et al.* **Environmental contaminants associated with reproductive failure in bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*) eggs in New Jersey.** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, v. 61, n. 2, p. 247-254, 1998.

COOPER, L. N.; SEARS, K. E. **How to grow a bat wing.** In: ADAMS, R. A.; PEDERSEN, S. C. (Ed). Bat evolution, ecology and conservation. Springer, 2013.

DAVIS, L. **An introduction to the bats of the United Arab Emirates.** Echoes ecology Ltd, 2007.

DHAWAN, A.; ANDERSON, D. **Issues in toxicology - The comet assay in toxicology.** RSC Publishing, 2009.

ESTRADA, A. *et al.* **Bat species richness and abundance in tropical rain forest fragments and in agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico.** Ecography, n. 16, p. 309-318, 1993.

FENTON, M. B.; SIMMONS, N. **Bats – A world of science and mystery.** New York, United States: The University of Chicago Press, 2014.

FLEMING, T. H. *et al.* **The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective.** Annals of Botany, v. 104, p. 1017-1043, 2009.

FORMAN, R. T. T. **Urban Ecology – Science of Cities.** New York. United States: Cambridge University Press, 2014.

FRANCIS, C. D.; BARBER, J. R. **A framework for understanding noise impacts on wildlife: an urgent conservation priority.** Frontiers in Ecology and the Environment, v. 11, n. 6, p. 305-313, 2013.

GAZARINI, J.; PEDRO, W. A. **Bats (Mammalia: Chiroptera) in urban fragments of Maringá, Paraná, Brazil.** Check List, v. 9, n. 3, p. 524-527, 2013.

GOMES, V. *et al.* **Effects of urban habitat fragmentation on common small mammals: species versus communities.** Biodiversity and Conservation, v. 20, n. 14, p. 3577-3590, 2011.

GONÇALVES, M. W. *et al.* **Detecting genomic damages in the frog *Dendropsophus minutus*: preserved versus perturbed areas.** Environmental Science and Pollution Research International, v. 22, n. 5, p. 3947-3954, 2015.

GYORI, B. M. *et al.* **OpenComet: An automated tool for comet assay image analysis.** Redox Biology, v. 2, p. 457-465, 2014.

HANSKI, I. **Habitat loss, the dynamics of biodiversity and a perspective on conservation.** AMBIO - A Journal of the Human Environment, v. 40, n. 40, p. 248-255, 2011.

HARVEY, C. A.; VILLALOBOS, J. A. G. **Agroforestry systems conserve species-rich but modified assemblages of tropical birds and bats.** Biodiversity and Conservation, v. 16, n. 8, p. 2257-2292, 2007.

JACKMAN, S. M. *et al.* **DNA damage assessment by Comet Assay of human lymphocytes exposed to jet propulsion fuels.** Environmental and Molecular Mutagenesis, v. 40, p. 18-23, 2002.

JACKSON, H.B.; FAHRIG, L. **Habitat loss and fragmentation.** Encyclopedia of Biodiversity, v. 4, p. 50-58, 2013.

JERUSALINSKY, L. *et al.* **Preliminary evaluation of the conservation status of Callicebus coimbrai in the brazilian state of Sergipe.** Primate Conservation, v. 21, p. 25-32, 2006.

JONES, G.; RYDELL, J. **Foraging strategy and predation risk as factors influencing emergence time in echolocating bats.** Philosophical transactions of the royal society, v. 346, p. 445-455, London, 1994.

KAYE, J. P. *et al.* **A distinct urban biogeochemistry?** Trends in ecology and evolution, v. 21, n. 4, p. 192-199, 2006.

KEELEY, B. W.; TUTTLE, M. D. **Bats in American bridges.** Resource Publication 4, Bat Conservation International, Austin, Texas, 1999.

KRICHER, J. **A Neotropical Companion - an introduction to the animals, plants, & ecosystems of the new world tropics**, 2 ed., 1999.

LAURANCE, W. F. *et al.* **Ecosystem decay of amazonian forest fragments: a 22-year investigation.** Conservation Biology, v. 16, n. 3, p. 605-618, 2002.

LEE, K. N. **An urbanizing world.** In: STARKE, L. (Ed). State of the World - our urban future, 2007.

LEÓN-MEJÍA, G. *et al.* **Assessment of DNA damage in coal open-cast mining workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay.** Science of the Total Environment, v. 409, p. 686-691, 2011.

LIMA, I. P. **Espécies de morcegos (Mammalia, Chiroptera) registradas em parques nas áreas urbanas do Brasil e suas implicações no uso deste ambiente.** In: REIS, N. R.; PERACCHI, A.L.; SANTOS, G. A. S. D. (Org). Ecologia de Morcegos. Londrina: Technical books editora, 2008.

LOPEZ, J. E.; VAUGHAN, C. **Food niche overlap among neotropical frugivorous bats in**

Costa Rica. Revista de Biología Tropical, v. 55, n. 1, p. 301-313, março de 2007.

LOWCOCK L. A.; SHARBEL, T. F.; BONIN, J.; OUELLET, M.; RODRIGUE, J.; DESGRANDES, J. L. **Flow cytometric assay for in vivo genotoxic effects of pesticides in Green frogs (*Rana clamitans*).** Aquatic Toxicology, v. 38, p. 241–255, 1997.

MAAS, B.*et al.* **Bats and birds increase crop yield in tropical agroforestry landscapes.** Ecology Letters, v. 16, p. 1480-1487, 2013.

MALUF, S. W. *et al.* **Assessment of DNA damage in lymphocytes of workers exposed to x-radiation using the Micronucleus Test and the Comet Assay.** Environmental and Molecular Mutagenesis, v. 38, p. 311-315, 2001.

MEEHAN, K. A. *et al.* **Evaluation of DNA damage in a population of bats (Chiroptera) residing in an abandoned monazite mine.** Mutation Research, v. 557, p. 183-190, 2004.

MELLO, M. A. R. *et al.* **Keystone species in seed dispersal networks are mainly determined by dietary specialization.** Oikos, p. 001-009, 2014.

NAIDOO, S. *et al.* **Haematological and genotoxic responses in an urban adapter, the banana bat, foraging at wastewater treatment works.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 114, p. 304-311, 2014.

NEUBAUM, D. J. *et al.* **Urban maternity-roost selection by big brown bats in Colorado.** Journal of Wildlife Management, v. 71, p. 728-736, 2007.

OLIVE, P. L.; BANÁTH, J. P. **The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells.** Nature Protocols, v. 1, n. 1, p. 23 – 29, 2006.

PACHECO, S. M. *et al.* **Morcegos urbanos: status do conhecimento e plano de ação para a conservação no Brasil.** Chiroptera Neotropical, v. 16, n.1, julho de 2010.

PARK, K. J. **Mitigating the impacts of agriculture on biodiversity: bats and their potential role as bioindicators.** Mammalian Biology, v. 80, n. 3, p. 191-204, 2015.

PITARQUE, M. *et al.* **Evaluation of DNA damage by the comet assay in shoe workers exposed to toluene and other organic solvents.** Mutation Research, v. 441, p. 115-127, 1999.

PODLUTSKY, A. J. *et al.* **A new field record for bat longevity.** Journal of Gerontology, v. 60A, n. 11, p. 1366-1368, 2005.

RALPH, S.; PIETRAS, M. **Genotoxicity monitoring of small bodies of water using two species of tadpoles and the alkaline single cell gel (comet) assay.** Environmental Molecular Mutagenesis, v. 29, p. 418–30, 1997.

REIS, N. R. *et al.* **Morcegos do Brasil.** Londrina, UEL/SEMA, 2007.

RHIND, S. M. **Anthropogenic pollutants – an insidious threat to animal health and productivity?** Acta Veterinaria Scandinavica, v. 54, n. 1, 2012.

RIPPERGER, S. P. *et al.* **Frugivorous bats maintain functional habitat connectivity in agricultural landscapes but rely strongly on natural forest fragments.** Plos One, v. 10, n. 4, p. 1-15, 2015.

RUSSO, D.; ANCILLOTTO, L. **Sensitivity of bats to urbanization: a review.** Mammalian Biology, v. 80, n. 3, p. 205-212, 2015.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Coordenadoria de Educação Ambiental. **Cadernos de Educação Ambiental –Fauna Urbana**, São Paulo, v. 1, 2013.

SHILTON, L. A. *et al.* **Old world fruit bats can be long-distance seed dispersers through extended retention of viable seeds in the gut.** Proceedings of Royal Society, v. 266, p. 219-223, 1998.

SIMMONS, N. B. *et al.* **Primitive Early Eocene bat from Wyoming and the evolution of flight and echolocation.** Nature, v. 451, p. 818-822, 2008.

STEBBINGS, R. E. **Conservation of european bats.** Christopher Helm, London, 1988.

STONE, E. L. *et al.* **Street lighting disturbs commuting bats.** Current Biology, v. 19, p. 1123-1127, 2009.

THRELFALL, C. *et al.* **Ecological processes in urban landscapes: mechanisms influencing the distribution and activity of insectivorous bats.** Ecography, n. 34, p. 814-826, 2011.

THRELFALL, C. *et al.* **Roost selection in suburban bushland by the urban sensitive bat *Nyctophilus gouldi*.** Journal of Mammalogy, v. 94, p. 307-319, 2013.

VALENCIA, L. C. *et al.* **Estimates of DNA damage by the comet assay in the direct-developing frog *Eleutherodactylus johnstonei* (Anura, Eleutherodactylidae).** Genetics and Molecular Biology, v. 34, n. 4, p. 681-688, 2011.

VEHRENCAMP, S. L. *et al.* **Observations on the foraging behaviour and avian prey of the neotropical carnivorous bat, *Vampyrus spectrum*.** Journal of Mammalogy, v. 58, n. 4, p. 469-478, 1977.

WIEDERHOLT, R. *et al.* **Optimizing conservation strategies for mexican free-tailed bats: a population viability and ecosystem services approach.** Biodiversity and Conservation, p. 29-31, 2014.

WILLIAMS-GUILLÉN, K. *et al.* **Bats limit insects in a neotropical agroforestry system.** Science, v. 320, p. 70, 2008.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal Species of the World.** The Johns Hopkins University Press, Washington, DC, 2005.

YADAV, S. S. *et al.* **Toxic and genotoxic effects of Roundup on tadpoles of the Indian skittering frog (*Euflictis cyanophlyctis*) in the presence and absence of predator stress.** Aquatic Toxicology, v. 132-133, p. 1–8, 2013.

ZOCCHÉ, J. J. *et al.* **Heavy metals and DNA damage in blood cells of insectivore bats in coal mining areas of Catarinense coal basin, Brazil.** Environmental Research, v. 110, p. 684-691, 2010.

Anexo 1



NÚMERO DA LICENÇA 001/2015	Nº AUTOR. SISBIO 20982-1	Nº Autor. AMMA 001/2015	PERÍODO DE VALIDADE 24/03/2015 a 24/03/2016
OBJETO:		FAVORECIDO:	
☒ CAPTURA E/OU COLETA DE ANIMAIS SILVESTRES/MATERIAL ZOOLOGICO		☒ INSTITUIÇÃO CIENTÍFICA	
☒ TRANSPORTE DE ANIMAIS SILVESTRES/MATERIAL ZOOLOGICO		☒ PESQUISADOR	
☒ TRANSPORTE DE PRODUTOS E SUB-PRODUTOS DA FAUNA		☐ EXPOSITOR/CONCURSO	
☐ EXPOSIÇÃO E/OU CONCURSO DE ANIMAIS SILVESTRES		☐ OUTROS	
☐ OUTROS (ESPECIFICAR)			

RESPONSÁVEL - ESPECIFICAÇÃO:

NOME: **Dornelles Assunção**

CPF: **000.116.481-39**

REGISTRO PROFISSIONAL:

INSTITUIÇÃO: **Universidade Federal de Goiás - UFG**

EQUIPE AUTORIZADA: **Dornelles Assunção; Daniela de Melo e Silva; Monik Oprea.**

TRANSPORTADOR: **Componentes da Equipe**

MEIO DE TRANSPORTE: **TERRESTRE**

PROCEDÊNCIA/LOCAL DA CAPTURA/LOCAL DA PESQUISA: **Goiânia (Jardim Botânico; Parque Flamboyant; Parque Areião; Bosque dos Buritis; Parque Vaca Brava).**

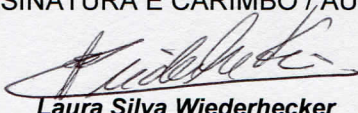
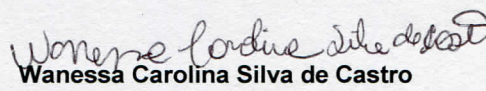
DESTINO:

QUANTIDADE/MÁXIMO	NOME CIENTÍFICO	NOME COMUM
indefinido	Animais da ordem chiroptera	morcego

OBSERVAÇÕES/CONDICIONANTES:

- Esta autorização , permite que o pesquisador colete no máximo 5 exemplares de cada espécie de quiróptero capturado;
- Esta autorização não exige o pesquisador titular e membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais;
- O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior;
- O titular de autorização ou de licença , assim como membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor;

Deverá apresentar relatório das atividades executadas assim como resultados da pesquisa realizada no prazo máximo de trinta dias após o vencimento da autorização.

DATA DE EMISSÃO Goiânia, 24/03/2015	ASSINATURA E CARIMBO / AUTORIDADE EXPEDIDORA  Laura Silva Wiederhecker Chefe do Centro de Estudos e Pesquisas da ictiofauna GEFAU - AMMA  Wanessa Carolina Silva de Castro Chefe do Centro de Pesquisas da Fauna terrestre GEFAU - ANNA
---	--

- VÁLIDA SOMENTE NO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA
- VÁLIDA SOMENTE SEM EMENDAS OU RASURAS.

Ref. Autorização GEFAU – AMMA 001/2015

Anexo 2



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49329-1	Data da Emissão: 26/06/2015 16:49	Data para Revalidação*: 25/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Dornelles Assunção	CPF: 000.116.481-39
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO DANO GENÔMICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE QUIRÓPTEROS COMO MECANISMO DE CONSERVAÇÃO	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS	CNPJ: 01.567.601/0001-43

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de material biológico (sangue) mediante captura de morcegos seguido de soltura dos animais	05/2015	08/2015

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	GOIANIA	GO	Goiania	Fora de UC Federal
2	URUTAI	GO	Remanescente de Cerrado preservado no município de Urutai	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Chiroptera
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Chiroptera
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Chiroptera (*Qtde: 10)
4	Marcação de animais silvestres in situ	Chiroptera

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 78936825





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49329-1	Data da Emissão: 26/06/2015 16:49	Data para Revalidação*: 25/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Dornelles Assunção	CPF: 000.116.481-39
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO DANO GENÔMICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE QUIRÓPTEROS COMO MECANISMO DE CONSERVAÇÃO	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS	CNPJ: 01.567.601/0001-43

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Rede de neblina
3	Método de marcação (Outros mamíferos)	Anel

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 78936825





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49329-1	Data da Emissão: 26/06/2015 16:49	Data para Revalidação*: 25/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Dornelles Assunção	CPF: 000.116.481-39
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO DANO GENÔMICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE QUIRÓPTEROS COMO MECANISMO DE CONSERVAÇÃO	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS	CNPJ: 01.567.601/0001-43

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 78936825





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49329-1	Data da Emissão: 26/06/2015 16:49	Data para Revalidação*: 25/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Dornelles Assunção	CPF: 000.116.481-39
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DO DANO GENÔMICO EM CÉLULAS SANGUÍNEAS DE QUIRÓPTEROS COMO MECANISMO DE CONSERVAÇÃO	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIAS	CNPJ: 01.567.601/0001-43

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 78936825

