



PROJETO DE PESQUISA

1. **Campus:** União da Vitória

2. **Centro de Áreas:** Ciências Exatas e Biológicas

3. **Colegiado de Curso*:** Ciências Biológicas

(x) Graduação () Pós-Graduação *Stricto Sensu*

**Ao qual o Projeto está vinculado (não, necessariamente, de lotação do docente coordenador do projeto).*

4. **Título do Projeto de Pesquisa:** Caracterização da diversidade cromossômica em animais da região centro-sul paranaense

5. **Tema do Projeto de Pesquisa*:** Estudos cromossômicos em vertebrados

6. **Objetos/corpus de Pesquisa*:** Cromossomos de anuros, peixes e morcegos

7. **Integra extensão () e/ou ensino ().**

Se sim, como: _____

8. **Período de vigência:**

(X) Inicial: 08/02/2024 a 08/02/2028.

9. **Vínculo a Grupo de Pesquisa:**

(X) Sim: Biodiversidade e Conservação - UNESPAR

() Não

10. **Participantes:**

10.1. **Coordenador*:**

Nome	Titulação	Campus	Centro	CH**
Rafael Bueno Noleto	Doutorado	União da Vitória	CCEB	12

Contato Coordenador:

E-mail: rafael.noleto@unespar.edu.br

Telefone: (41) 99615 8224

10.2. Membros:

Pesquisadores (categoria)	Titulação	Instituição / Campus	Centro	CH*
Alan Deivid Pereira	Doutor	Unespar/UV	CCEB	5

11. Classificação da Área:

a) Grande Área:	Ciências Biológicas	Código CNPq: 2.00.00.00-6
b) Área:	Genética	Código CNPq: 2.02.00.00-5
c) Subárea:	Genética Animal	Código CNPq: 2.02.04.00-0

12. Resumo: (limite 20 linhas)

A fragmentação de habitats relacionada com a expansão da ocupação humana sobre áreas, é tida como a principal responsável pela perda de diversidade e extinções locais de espécies em todo o mundo. No que se refere às espécies endêmicas, estas são frequentemente reconhecidas por apresentarem marcadores genéticos característicos. Portanto, frente ao risco de extinção de muitas espécies no bioma Mata atlântica, a ampliação do conhecimento sobre as espécies que habitam tal ecossistema é urgente e fundamental para diagnosticar áreas de endemismo, entender e melhor construir cenários evolutivos, resolver incertezas taxonômicas e, sobretudo programar ações para a conservação, justificando assim o desenvolvimento de estudos sob estas perspectivas. Vários estudos têm demonstrado que populações de diferentes regiões podem apresentar grande variabilidade cromossômica, permitindo análises entre os distintos cariótipos pela identificação de diferentes fórmulas cariotípicas e/ou números diploides, padrões de distribuição de heterocromatina constitutiva e de sequências de DNA repetitivo. Assim, diante da escassez de estudos cromossômicos em vertebrados na região centro-sul paranaense, este Projeto propõe um amplo estudo citogenético baseado tanto em marcadores convencionais, quanto se necessário aplicar técnicas de citogenética molecular para responder perguntas específicas, em espécies de vertebrados amostradas na região, principalmente no que diz respeito a anfíbios anuros, peixes e quirópteros. Descrições e análises cromossômicas detalhadas permitem dar coesão às interpretações sobre a evolução cromossômica e estabelecer claramente hipóteses sobre a mesma. Portanto, quantos mais dados disponíveis, os eventos cromossômicos envolvidos na evolução de grupos animais serão melhor compreendidos.

Palavras-chave: Animais; Cariótipos; Evolução; Heterocromatina, rDNA.

13. Caracterização e justificativa da pesquisa:

Conceitualmente podemos dizer que os cromossomos constituem um fenótipo de um organismo. Usualmente como o fenótipo depende do genótipo, podemos pressupor que o efeito adaptativo de um cariótipo é consequência do genótipo. Na natureza é muito difícil correlacionar com certeza uma característica adaptativa com uma mudança cromossômica. Porém, o fato que determinados rearranjos cromossômicos são muito mais frequentes em determinadas condições ambientais, sugere que tais rearranjos promovam valores adaptativos diferentes (SEUANEZ, 1986; STRICKBERGER, 2005). Alterações cromossômicas podem ter um efeito adaptativo do organismo ao meio, mesmo que não causem alterações fenotípicas aparentes. Por outro lado, alterações cromossômicas podem ser fixadas/mantidas casualmente em diferentes populações, sem significado adaptativo. Embora o comportamento cromossômico possa ser geneticamente controlado, como no caso do pareamento de homólogos e silenciamento gênico, há também características cromossômicas que não estão sob influência do genótipo, como exemplo a reduzida frequência de recombinação num segmento cromossômico invertido (alça de inversão). Neste sentido a expressão gênica pode também depender do arranjo cromossômico, de modo que polimorfismos cromossômicos podem gerar efeitos importantes: (1) alterar a organização gênica e consequentemente a expressão de genes (afetar a adaptação do indivíduo); (2) interferir na frequência de recombinação (ajustar a adaptação da descendência); (3) reduzir ou mesmo impedir o fluxo gênico (por exemplo via poliploidia) dentro de uma população podendo gerar subpopulações (desencadear especiação) (GUERRA, 1988).

As análises cromossômicas de vertebrados têm se destinado a diversas finalidades, como contribuir para o conhecimento da estrutura, organização molecular e comportamento dos cromossomos (SUMNER, 2008). Os marcadores cromossômicos representam ferramentas fundamentais para a análise genômica e a compreensão da diversidade biológica das espécies. Esses marcadores, que incluem genes específicos, sequências repetitivas e regiões cromossômicas distintas, desempenham um papel fundamental em estudos de genética, evolução e conservação. Igualmente podem ser informativos para realizar citotaxonomia, no caso de espécies crípticas e complexo de espécies. Em um contexto evolutivo, a análise de marcadores cromossômicos pode auxiliar na elucidação de relações filogenéticas entre diferentes grupos taxonômicos (FERGUSON-SMITH; TRIFONOV, 2007). Compreender as

mudanças cromossômicas ao longo da evolução de um grupo é essencial para reconstruir a história genômica e entender os eventos que moldaram a diversidade biológica observada hoje.

No contexto da diversidade de vertebrados, estudos cromossômicos revelam uma gama de variações, tanto entre espécies quanto dentro de uma mesma espécie e sua correlação com fenótipos específicos (VENANCIO NETO et al., 2023; FERREIRA; NOLETO, 2023). A comparação de cariótipos entre diferentes grupos taxonômicos fornece informações valiosas a respeito de como diferenças cromossômicas entre populações pode ter implicações importantes para a conservação e manejo de espécies ameaçadas. A avaliação da variabilidade genética por meio desses marcadores é essencial para a implementação de estratégias de manejo eficazes, como monitorar a reprodução de animais de interesse econômico ou silvestres mantidos em cativeiro ou na natureza, bem como identificação de híbridos interespecíficos. A perda de diversidade genética em populações ameaçadas pode comprometer a adaptabilidade a novos desafios ambientais, enfatizando a importância de ferramentas cromossômicas na tomada de decisões em conservação (FRANKHAM et al., 2017). Como exemplo, variações cromossômicas geográficas, que em muitos casos não se correlacionam com variações no fenótipo, está sendo cada vez mais detectadas. Esta variação cromossômica críptica pode representar uma ameaça significativa às práticas de translocação de indivíduos que envolvam a mistura de espécimes entre populações geograficamente distantes (SEUANEZ, 1986; STRICKBERGER, 2005).

As análises comparativas de cariótipos utilizando várias técnicas de citogenética, permitem reconhecer diferentes constituições cariotípica que podem corresponder a polimorfismos cromossômicos, representar citótipos distintos e restritos a determinadas localidades ou serem apenas variantes esporádicas (KASAHARA, 2009). A abordagem inicial para os estudos cromossômicos em vertebrados muitas vezes envolveu a observação de cariótipos, identificando características morfológicas dos cromossomos. Mesmo técnicas clássicas de marcação cromossômica, como o bandamento C e coloração com nitrato de prata, constituem ainda nos dias de hoje uma importante ferramenta em análises comparativas, sobretudo em animais ectotérmicos, nos quais a diferenciação de bandas eucromáticas é pobre ou ausente. No entanto, avanços tecnológicos significativos, com o advento da citogenética molecular e as técnicas de hibridização in situ, possibilitaram uma compreensão mais profunda das características estruturais e funcionais dos cromossomos em nível molecular. A possibilidade de se obter sondas de cromossomos inteiros ou de segmentos específicos abriram

grandes perspectivas (PINKEL et al., 1986). A análise de sequências específicas como marcadores cromossômicos fornece um enfoque direcionado para a identificação de loci associados a características particulares, enriquecendo nossa compreensão sobre a genética animal. Além disso, o estudo de sequências repetitivas, como microsatélites e elementos transponíveis, tem se revelado crucial para a análise de variações genômicas em escalas micro e macroevolutivas (BURT; TRIVERS, 2006). Essas técnicas permitem a identificação de rearranjos cromossômicos, deleções, duplicações e outras alterações genéticas que podem estar associadas a fenótipos e/ou à evolução das espécies.

14. Objetivos – Geral e Específicos:

▪ Objetivo geral

Descrever sob o ponto de vista cromossômico espécies e/ou populações de vertebrados, principalmente peixes, anfíbios anuros e quirópteros, fornecendo dados para inferências com vistas à evolução cromossômica, taxonomia e conservação.

▪ Objetivos específicos

- Obter os cariótipos de espécies de vertebrados coletadas na região centro-sul do Paraná;
- Determinar a microestrutura cariotípica baseada no padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva;
- Mapear cromossomicamente os genes ribossômicos 45S;
- Construir idiogramas para melhor visualizar as características do cariótipo de cada espécie;
- Comparar os resultados obtidos com os já descritos na literatura com o fim de elaborar cenários biogeográfico e evolutivo mais consistentes.

15. Aporte teórico: (limite 3 páginas)

▪ Anfíbios anuros

A grande parte dos estudos citogenéticos realizados em anfíbios refere-se a ordem dos anuros, totalizando até 2018, 830 espécies com cariótipos descritos (FERRO et al., 2018). É previsível que desde 1990, muitas outras espécies já tiveram seus cariótipos estudados e descritos, porém ainda existe uma grande parcela de anuros, a terem seu cariótipo devidamente caracterizado. A observação dos cromossomos dos anuros teve início por volta de 1930, com

utilização da técnica de esmagamento dos testículos, o que possibilitava análises de fases meióticas e, esporadicamente, de metáfases espermatozoniais (GREEN; SESSION, 1991).

Revisões consistentes, baseadas principalmente em dados moleculares foram desenvolvidas desde 2005, como as realizadas por Faivovich et al. (2005), as quais tiveram como consequência significativas alterações na sistemática e na taxonomia de toda a classe Amphibia, entretanto, na maioria destes trabalhos não foram considerados dados cromossômicos. É importante destacar ainda que estudos de dados cariotípicos, associados às informações de sequenciamento de DNA, têm obtido sucesso com resultados relevantes em relação a classificação filogenética de certos grupos da anurofauna brasileira (TARGUETA et al., 2010), demonstrando que a citogenética colabora no esclarecimento de questões sobre a sistemática e taxonomia, efetivamente. A estabilidade do cariótipo em cada espécie pode, eventualmente, ser utilizada para identificação taxonômica, apesar de que espécies diferentes podem apresentar cariótipos semelhantes. A citogenética tem se mostrado uma ferramenta interessante na caracterização das espécies de anfíbios, quando se comparam parâmetros das macro- e microestruturas cariotípica (NOLETO et al., 2011).

Durante algumas décadas atrás, acreditou-se que o cariótipo dos anuros era muito estável e que cada família possuía tipicamente um cariótipo muito similar. O atual acúmulo de informações vem contradizer essa ideia ao revelar que estes táxons constituem um excelente grupo para pesquisa de diversos aspectos da mutação cromossômica (SCHMID, 1982; LOURENÇO et al., 1999; HANADA, 2002). Como exemplo a família Hylidae, existe uma grande diversidade de complementos cromossômicos (de 9 até 16 pares cromossômicos), embora a maioria das espécies dentro do gênero *Boana* têm um número diploide de 24 cromossomos, o qual representa uma das principais sinapomorfias dentro da família, devido ao fato de gêneros distintos dentro do táxon apresentarem cariótipos muito similares (DUELLMAN, 2001; FAIVOVICH et al., 2005). Este cariótipo teria surgido a partir da diferenciação do número cromossômico original de $2n = 26$ cromossomos, presente predominantemente na família Leptodactylidae, a partir fusões cromossômicas (BOGART, 1973).

▪ Peixes

O Brasil é dividido em doze regiões hidrográficas segundo a Agência Nacional das Águas (ANA, 2021), dentre as quais a bacia do rio Iguaçu e do rio Uruguai, englobando os

estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, exibem grande importância em recursos hídricos. A ictiofauna de água doce da região neotropical (região biogeográfica que se estende do México ao extremo sul da América do Sul) é a mais diversa do mundo, sendo estimada em mais de 2400 espécies (LOWE-MCCONNEL, 1987). Ao contrário das demais regiões zoogeográficas do planeta, que são dominadas por Cypriniformes (exceto a Austrália), a ictiofauna neotropical apresenta um predomínio de Characiformes e Siluriformes (BRITISKI, 1992).

Nos Characiformes observam-se grupos com cariótipos bastante heterogêneos, ao lado de outros bem mais conservados na estrutura cariotípica. A variação no número diploide, de $2n = 28$ em *Hemigrammus* (SCHEEL, 1973) a $2n = 102$ em *Potamorhina altamazonica* (FELDBERG et al., 1993). De modo geral, existem dois padrões de diversificação cromossômica: (1) como em Erythrinidae ou gêneros como *Astyanax* mostram grande variabilidade quanto ao número e estrutura cromossômica; (2) famílias como Anostomidae, Curimatidae, Prochilodontidae, Chilodontidae, Hemiodontidae e Parodontidae mostram pequena variação numérica e estrutural no cariótipo (GALETTI JR. et al., 1994).

Já em Siluriformes a estrutura cariotípica parece ser mais conservada, sendo que $2n=56\pm 2$ cromossomos deve representar o número cromossômico basal. Contudo existem exemplos de intensa diversificação cariotípica, como em Loricariidae com número cromossômico diploide variando de $2n=44$ a 80 (ARTONI; BERTOLLO, 1996). Da mesma forma, em Loricariinae podem ser encontrados exemplos de polimorfismos devido à presença de cromossomos supranumerários (SCAVONE; JULIO JR., 1995). Outro aspecto de destaque na estrutura cariotípica dos peixes diz respeito à presença de cromossomos sexuais. Os peixes, diferentemente das aves e mamíferos, não apresentam cromossomos sexuais na base de sua filogenia. Assim, esse caráter deve ter surgido de forma independente e repetida na história evolutiva desse grupo, onde algumas espécies apresentam cromossomos sexuais bem diferenciados, embora essa ocorrência não seja frequente. Sistemas de cromossomos sexuais com heterogametia feminina (ZZ/ZW) (ARTONI et al., 1998, NOLETO et al., 2009) e masculina (XX/XY) (BORN; BERTOLLO, 2000). Na maioria desses casos fica evidente que a diferenciação dos cromossomos sexuais foi acompanhada por um processo de heterocromatinização e alteração de tamanho do cromossomo Y e W.

Devido à posição basal que os peixes com nadadeiras raiadas ocupam na filogenia dos vertebrados, estudos sobre cromossomos deste grupo forneceram informações valiosas

informações para a compreensão da evolução de cromossomos sexuais, distribuição de genes ribossômicos, existência de cromossomos supranumerários e o papel de poliploidia na evolução (PISANO et al., 2007).

▪ Quirópteros

A ordem Chiroptera é o grupo de mamíferos mais diversificado do mundo. Mesmo possuindo todas as características comuns aos demais mamíferos, são os únicos dentro da classe Mammalia com real capacidade de voo (REIS et al., 2017). Atualmente no Brasil a fauna de quirópteros está representada por 181 espécies de morcegos oficialmente registradas (GARBINO et al., 2022), distribuídas em 9 famílias: Emballonuridae, Phyllostomidae, Mormoopidae, Noctilionidae, Furipteridae, Thyropteridae, Natalidae, Molossidae e Vespertilionidae. Dentre todas as espécies de morcegos no Brasil, 98 delas ocorrem na Mata Atlântica (MUYLAERT et al., 2017). Na região sul do Brasil, já se têm descrito um total de 70 espécies de morcegos, o Paraná apresentando a maior riqueza (64 espécies), seguido pelo estado de Santa Catarina (47) e Rio Grande do Sul (40), sendo as três famílias mais representadas, Phyllostomidae, Vespertilionidae e Molossidae (PASSOS et al. 2010).

O número diploide de cromossomos e o número fundamental de braços autossômicos são conhecidos por menos da metade de todas as espécies de morcegos descritas (BAKER, 2006). O número diploide varia de $2n = 14$ em *Vampyressa melissa* a $2n = 62$ em várias espécies de rinolofídeos (ZIMA et al., 1992). No Brasil, os primeiros estudos sobre o número e morfologia dos cromossomos de espécies de morcegos foram conduzidos por Beçak *et al.* (1969), Yonenaga et al., (1969) e Toledo (1973). Por volta de 1989, apenas 25% das espécies registradas em nosso território tinham seus cariótipos descritos a partir de espécimes capturados no Brasil (VARELLA-GARCIA et al., 1989), quadro que vem mudando lentamente, indicando que a quiropterofauna brasileira carece ainda de estudos mais aprofundados nessa área, (REIS et al., 2017).

O modo predominante de evolução cromossômica é a translocação Robertsoniana em qualquer direção (isto é, fusões e fissões), de acordo com comparações cariotípicas baseadas em padrões de bandas G (BAKER; BICKHAM, 1980). O advento da técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) facilitou a identificação de braços cromossômicos homólogos com base em sequências de DNA homólogas independentes do conservado padrão de bandas G.

Embora nos últimos anos relações filogenéticas tenham sido propostas tanto para dados morfológicos (GREGORIN, 2000), quanto para dados moleculares (AMMERMAN et al., 2012), a falta de dados cromossômicos para as espécies é notória, de modo que estudos sobre este enfoque são necessários. Abordar essa carência de informações é crucial para avançar nosso conhecimento sobre a biogeografia, evolução e diversidade das famílias de morcegos.

16. Metodologia de pesquisa:

Estamos amparados pelas seguintes autorizações de coleta para finalidade científica (SISBIO) e Experimentação Animal (CEUA):

- SISBIO Nº 104725-1
- SISBIO Nº 63336-3
- SISBIO Nº 87088-1
- CEUA/Unespar (2021/0001)
- CEUA/Unespar (2023/0008)

- **Preparações cromossômicas** (BALDISSERA et al., 1993; FORD; HAMERTON, 1956; BERTOLLO et al., 1978).

1. Injetar na cavidade peritoneal do animal 0,2 ml de solução de levedura glicosilada para cada 25g de peso corporal;
2. Após 24 horas injetar na cavidade peritoneal do animal 0,2 ml de solução de colchicina 0,5% para cada 25g de peso corporal, deixando agir por 40 minutos a 8 horas;
3. Anestesiá-lo com isoflurano (morcegos) / xilocaína (anuros) / benzocaína (peixes) e dissecá-lo, retirando os úmeros (morcegos) / fêmures (anuros) / rim (peixes);
4. Realizar a hipotonização com cloreto de potássio (KCl) 0,075M em estufa a 37 °C por 30–40 minutos;
5. Proceder a pré-fixação com algumas gotas de fixador Carnoy (3 metanol : 1 ácido acético);
6. Após centrifugar à 1300 rpm por 8 minutos, descartar o sobrenadante e adicionar 6 mL de fixador Carnoy;
7. Ressuspender levemente e centrifugar novamente por 8 minutos a 1300 rpm;
8. Repetir os itens 6 e 7 por duas vezes. Após a última centrifugação e descarte do sobrenadante, adicionar cerca de 1,5 mL de fixador, dependendo da quantidade de material

sedimentado, e ressuspender bem o material. Este poderá ser então guardado no freezer, acondicionado em microtubos, ou trabalhado conforme os seguintes passos;

9. Pingar 3–4 gotas da suspensão obtida, sobre diferentes regiões de uma lâmina bem limpa e conservadas em álcool gelado;
10. Deixar secar ao ar.
11. Corar com solução de Giemsa diluída a 5% em tampão fosfato (pH=6,8), durante 10 minutos.

▪ **Deteção de Heterocromatina Constitutiva (bandas-CBG) (SUMNER, 1972)**

1. Inicialmente, as lâminas contendo o material celular serão lavadas em ácido clorídrico 0,2M a 37°C durante 15 minutos e, em seguida, serão lavadas com água destilada;
2. As lâminas serão incubadas em solução de hidróxido de bário a 5%, recém preparada e filtrada, a 25°C, durante 2 minutos;
3. Posteriormente cada uma das lâminas será mergulhada em solução de ácido clorídrico 0,2M, lavando-as com água destilada;
4. As lâminas serão imersas em solução salina 2xSSC, a 50°C, durante 30 minutos. Sucessivamente, serão lavadas com água destiladas e deixadas secando ao ar;
5. Para finalizar o procedimento, as lâminas serão coradas com solução de Giemsa a 5%, em tampão fosfato com pH de 6,8 durante 15 minutos.

▪ **Deteção das Regiões Organizadoras de Nucléolo (HOWELL; BLACK, 1980)**

1. Sobre as preparações cromossômicas, coloca-se 2 gotas de solução de gelatina acidificada (1%) e 4 gotas de solução aquosa de nitrato de prata – AgNO₃ (50%), misturando levemente com a lamínula;
2. Cobre-se a lâmina com uma lamínula (60x20mm), mantendo-a em estufa/banho-maria a 60°C, sendo o tempo necessário para que os cromossomos e núcleos apresentassem uma coloração marrom dourada e presença de micro bolhas;
3. Posteriormente remove-se a lamínula com um jato de água destilada, e a lâmina será deixada secando ao ar.

▪ **Dupla coloração Cromomicina A3/DAPI (SCHWEIZER, 1980)**



- Assinatura Avançada realizada por: **Rafael Bueno Noleto (XXX.821.399-XX)** em 15/07/2026 14:02 Local: UNESPAR/UVA/COL/BIO. Inserido ao protocolo **26.255.297-7** por: **Rafael Bueno Noleto** em: 15/07/2026 14:01. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.br.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **d7cfd99cc58012daed2c0b9a568dff99**

18. Referências:

- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). Manual de Usos Consuntivos da Água no Brasil. Brasília: ANA, 2021. Disponível em: <http://snirh.gov.br/usos-da-agua/>
- AMMERMAN, Loren K.; LEE, Dana N.; TIPPS, T. Marie. First molecular phylogenetic insights into the evolution of free-tailed bats in the subfamily Molossinae (Molossidae, Chiroptera). **Journal of Mammalogy**, v. 93, n. 1, p. 12-28, 2012.
- ARTONI, Roberto Ferreira; BERTOLLO, Luiz Antonio Carlos. Cytogenetic studies on Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Considerations on karyotype evolution in the genus Hypostomus. **Caryologia**, v. 49, n. 1, p. 81-90, 1996.
- ARTONI, Roberto Ferreira; VENERE, Paulo Cesar; BERTOLLO, Luiz Antonio Carlos. A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). **Cytologia**, v. 63, n. 4, p. 421-425, 1998.
- BALDISSERA Jr., F. A.; OLIVEIRA, P. S. L.; KASAHARA, S. Cytogenetics of four Brazilian *Hyla* species (Amphibia-Anura) and description of a case with supernumerary chromosomes. **Revista Brasileira de Genética**, v. 16, p. 335-345, 1993.
- BAKER, Robert J.; BICKHAM, John W. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. **Systematic Biology**, v. 29, n. 3, p. 239-253, 1980.
- BAKER RJ: Order Chiroptera, in O'Brien SJ, Menninger JC, Nash WG (eds): **Atlas of Mammalian Chromosomes**, pp 378–380, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2006.
- BEÇAK, M. L.; BATISTIC, R. F.; VIZOTTO, L. D.; BEÇAK, W. Sex determining mechanism XY1 Y2 in *Artibeus lituratus* (Chiroptera, Phyllostomidae). **Experientia**, v. 25, p. 81-83, 1969.
- BERTOLLO, L. A. C. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Braz. J. Genet.**, v. 1, p. 103-120, 1978.
- BOGART, J. P. Evolution of anuran karyotypes In: Vial JL (Ed.) Evolutionary Biology of the Anurans. 1973.
- BORN, Guassenir Gonçalves; BERTOLLO, Luiz Antonio Carlos. An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus*, with a polymorphic NOR-bearing X chromosome. **Chromosome Research**, v. 8, p. 111-118, 2000.
- BRITSKI, H.A. Conhecimento atual das relações filogenéticas de peixes neotropicais. In Situação atual e perspectivas da ictiologia no Brasil (A.A. Agostinho & E. Benedito-Cecílio, eds.). Documentos do IX Encontro Brasileiro de Ictiologia, Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, p. 43-57, 1992.
- BURT, Austin; TRIVERS, Robert. **Genes in conflict: the biology of selfish genetic elements**. Harvard University Press, 2006.
- DUELLMAN, W. E. The hylid frogs of Middle America. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. **Ithaca**, v. 1, p. 1159, 2001.
- FAIVOVICH, Julián et al. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hyliinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of the American Museum of natural History**, v. 2005, n. 294, p. 1-240, 2005.

- FELDBERG, Eliana et al. Karyotype evolution in Curimatidae (Teleostei, Characiformes) from the Amazon region. II. Centric fissions in the genus *Potamorhina*. **Genome**, v. 36, n. 2, p. 372-376, 1993.
- FERGUSON-SMITH, Malcolm A.; TRIFONOV, Vladimir. Mammalian karyotype evolution. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 12, p. 950-962, 2007.
- FERREIRA, Karla Letícia; NOLETO, Rafael Bueno. Karyotype reexamination of *Corydoras paleatus* (Siluriformes) and a review of the cytogenetics of genus with a focus on the ribosomal genes. **LUMINÁRIA**, v. 25, n. 02, 2023.
- FERRO, Juan M. et al. Chromosome evolution in Cophomantini (Amphibia, Anura, Hylinae). **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. e0192861, 2018.
- FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicine hypotonic citrate squash sequence for Mammalian chromosomes. **Stain technology**, v. 31, p. 247-251, 1956.
- FRANKHAM, Richard et al. **Genetic management of fragmented animal and plant populations**. Oxford University Press, 2017.
- GALETTI, P. M.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Trends in chromosome evolution of neotropical characiform fishes. **Caryologia**, v. 47, n. 3-4, p. 289-297, 1994.
- GARBINO, G. S. T.; GREGORIN, R.; LIMA, I. P.; LOUREIRO, L.; MORAS L.; MORATELLI, R.; NOGUEIRA, M. R.; PAVAN, A. C.; TAVARES, V. C.; NASCIMENTO, M. C.; NOVAES, R. L. M.; PERACCHI, A. L. **Updated checklist of Brazilian bats: versão 2020**. Comitê da Lista de Morcegos do Brasil—CLMB. Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (Sbeq), 2022.
- GREGORIN, R. **Filogenia de Molossidae Gerais, 1855 (Mammalia: Chiroptera)**. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000.
- GREEN, D. M.; SESSIONS, S. K. Amphibian Cytogenetics and Evolution. **Academic Press**, v. 1, p. 431-432, 1991.
- GUERRA, M. dos S. **Introdução à citogenética geral**. Guanabara koogan, 1988.
- HANADA, Hideki. G and C banding show structural differences between the Z and W chromosomes in the frog *Buergeria buergeri*. **Hereditas**, v. 136, n. 2, p. 151-154, 2002.
- HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v. 36, n. 8, p. 1014-1015, 1980.
- KASAHARA, Sanae. Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados. **Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto**, p. 160, 2009.
- LOURENÇO, Luciana B.; RECCO-PIMENTEL, Shirlei M.; CARDOSO, Adão J. Two karyotypes and heteromorphic sex chromosomes in *Physalaemus petersi* (Anura, Leptodactylidae). **Canadian Journal of Zoology**, v. 77, n. 4, p. 624-631, 1999.
- MCCONNELL, Ro; LOWE-MCCONNELL, R. H. **Ecological studies in tropical fish communities**. Cambridge University Press, 1987.
- MUYLAERT, Renata d L. et al. **ATLANTIC BATS: a data set of bat communities from the Atlantic Forests of South America**. 2017.

- NOLETO, R. B. et al. An unusual ZZ/ZW sex chromosome system in *Characidium* fishes (Crenuchidae, Characiformes) with the presence of rDNA sites. **Journal of Fish Biology**, v. 75, n. 2, p. 448-453, 2009.
- NOLETO, Rafael Bueno et al. Comparative cytogenetics of eight species of *Cycloramphus* (Anura, Cycloramphidae). **Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology**, v. 250, n. 3, p. 205-214, 2011.
- PASSOS, Fernando C. et al. Morcegos da Região Sul do Brasil: análise comparativa da riqueza de espécies, novos registros e atualizações nomenclaturais (Mammalia, Chiroptera). **Iheringia. Série Zoologia**, v. 100, p. 25-34, 2010.
- PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of national Academy of Sciences**, v. 83, p. 2934-2938. 1986.
- PISANO, E., C. OZOUF-COSTAZ, F. FORESTI; B. G. KAPOOR. **Fish Cytogenetics**. Enfield N. H., Science Publishers Inc. (USA), 2007.
- REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; BATISTA, C. B.; LIMA, I. P.; PEREIRA, A. D. **História Natural dos Morcegos Brasileiros: Chave de Identificação de Espécies**. 1.ed. Rio de Janeiro: Technical Books, p. 416. 2017.
- SCAVONE, M. D.; JÚLIO JR., H. F. Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae: Siluriformes). **Braz. J. Genet.**, v. 18, n. 1: 31-35. 1995
- SEUANEZ, Héctor N. Chromosomal and molecular characterization of the primates: Its relevance in the sustaining of primate populations. In: **Primates: The Road to Self-Sustaining Populations**. New York, NY: Springer New York, p. 887-910, 1986.
- SCHEEL, J. J. Fish chromosome and their evolution. Internal report of denmarks akvarium. Charlottenlund, Denmark, 22 p. 1973.
- SCHMID, M. Chromosome banding in Amphibia VII: Analysis of the structure and variability of NORs in Anura. **Chromosoma**, v. 87, p. 327-344. 1982.
- SCHWEIZER, D. Simultaneous fluorescent staining of R-bands and specific heterochromatic regions (DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenetics and Cell Genetics** 27, 190–193. 1980.
- STRICKBERGER, Monroe W. **Evolution**. Jones & Bartlett Learning, 2005.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental cell research**, v. 75, n. 1, p. 304-306, 1972.
- SUMNER, Adrian T. **Chromosomes: organization and function**. John Wiley & Sons, 2008.
- TARGUETA, C. P. et al. Cytogenetic contributions for the study of the Amazonian *Engystomops* (Anura; Leiuperidae) assessed in the light of phylogenetic relationships. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 54, n. 3, p. 709-725, 2010.
- TOLEDO, L. A. **Estudos Citogenéticos em Morcegos Brasileiros (Mammalia-Chiroptera)**. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, SP, 1973.



VARELLA-GARCIA, M.; TADDEI, V. A. Citogenética de Quirópteros: Métodos e Aplicações. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 6, n. 2, p. 297-323, 1989.

VENANCIO NETO, Sebastião et al. Comparative cytogenetics among *Boana* species (Anura, Hylidae): focus on evolutionary variability of repetitive DNA. **Genetics and Molecular Biology**, v. 45, 2023.

YONENAGA, Yatiyo; FROTA-PESSOA, Oswaldo; LEWIS, Kenneth R. Karyotypes of seven species of Brazilian bats. **Caryologia**, v. 22, n. 1, p. 63-79, 1969.

ZIMA, J. et al. Comparative karyology of rhinolophid bats (Chiroptera: Rhinolophidae). **Prague studies in mammalogy**, v. 229, 1992.

Local/Data: União da Vitória / 15 de julho de 2026.

Assinatura Coordenador:

Documento: **ProjetoPesquisa.pdf**.

Assinatura Avançada realizada por: **Rafael Bueno Noleto (XXX.821.399-XX)** em 15/07/2026 14:02 Local: UNESPAR/UVA/COL/BIO.

Inserido ao protocolo **26.255.297-7** por: **Rafael Bueno Noleto** em: 15/07/2026 14:01.



Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021.

A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço:
<https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: