



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

O APARATO AUDITIVO EM MORCEGOS: FORMA E EVOLUÇÃO

LETÍCIA CAMPOS GUIMARÃES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientadora: Julia Klaczko

Brasília

Fevereiro/2023

O aparato auditivo em morcegos: forma e evolução

Letícia Campos Guimarães

Julia Klaczko

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em Zoologia.

Aprovada por

Julia Klaczko – UnB

Ludmilla Aguiar – UnB

Diego Astua de Moraes – UFPE

Angele Martins - UnB

Brasília

Fevereiro/2023

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha família, por sempre me guiar para tomar as melhores decisões e sempre me incentivar a seguir os caminhos que me deixem feliz. Mãe, pai e Gabi, muito obrigada por estarem ao meu lado sempre, mesmo que não entendam completamente o que decidi estudar.

Muito obrigada à minha incrível orientadora Júlia, por me auxiliar desde a graduação e até o último minuto dessa dissertação. Sei que tomei muitas decisões erradas ao longo da vida, mas ter te escolhido para me orientar nessa jornada com toda certeza não foi uma delas.

Obrigada aos meus amigos, professores e colegas de laboratório por me fazer companhia, me dar forças e me fazer rir até nos momentos de maior tensão nesses últimos anos.

Finalmente, muito obrigada à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade de Brasília pelo suporte financeiro destinado para a realização dessa pesquisa.

Eu só sou a profissional que sou hoje por causa de vocês.

RESUMO

Os morcegos são um dos grupos mais diversos de mamíferos, tanto em número de espécies quanto em diversidade de hábitos e formas. Dentre as diferentes especializações, morcegos apresentam um modo característico de navegar usando a ecolocalização. O aparato auditivo completo é essencial para animais que utilizam a audição como sentido principal para busca de alimentos e localização no espaço. No entanto, ainda existem lacunas no estudo da variação da forma do aparato auditivo em diferentes espécies, com dúvidas se essa estrutura seria conservada filogeneticamente ou não. Assim, nossos objetivos são avaliar e descrever a variação da forma do ouvido e do crânio dos morcegos e testar os possíveis fatores que auxiliam a promover a diversificação morfológica dessa estrutura: ecolocalização, habitat, histórico filogenético. Para tanto foram analisados a forma do ouvido e do crânio de 17 espécimes de oito espécies de morcegos insetívoros com ocorrência registrada no Brasil por meio de morfometria geométrica 3D. Uma ANOVA filogenética foi usada para testar a associação entre a forma do ouvido e do crânio com os parâmetros de sinais de ecolocalização (estrutura, duração e frequência de máxima energia) e com o habitat, e também para avaliar o efeito do tamanho na variação da forma. Tanto a forma do crânio quanto a forma do ouvido mostraram correlação com a estrutura do chamado e a duração média do pulso, mas não com habitat, frequência máxima de energia nem com o tamanho. Também foi feita análise de sinal filogenético K de Blomberg, que revelou forte influência da filogenia na forma do crânio, mas não tão forte na do ouvido.

Palavras-chave: morfometria geométrica, chiroptera, ecolocalização, forma do ouvido, forma do crânio, métodos filogenéticos comparativos.

ABSTRACT

Bats are one of the most diverse groups of mammals, both in number of species and in diversity of habitats and shapes. Among the different specializations, bats have a characteristic way of navigating using echolocation. The entire hearing apparatus is essential for animals that use hearing as their main sense for finding food and navigating in space. However, there are still gaps in the study of the variation of shape in the hearing apparatus in different species, with doubts as to whether this structure would be phylogenetically conserved or not. Thus, our objectives are to evaluate and describe the variation in the shape of the ear and skull of bats and to test the possible factors that might help to promote the diversification of this structure: echolocation, habitat, phylogenetic history. For this purpose, the ear and skull shape of 17 specimens of eight species of insectivorous bats with recorded occurrence in Brazil were analyzed using 3D geometric morphometrics. A phylogenetic ANOVA was used to test the association between ear and skull shape with echolocation signal parameters (frequency of maximum energy, duration and call structure) and habitat, as well as to test the effect of size on shape variation. Both the shape of the skull and the shape of the ear showed correlation with call structure and average pulse duration, but not with habitat, frequency of maximum energy or with size. Blomberg's K phylogenetic signal analysis was also performed, which revealed a strong influence of phylogeny on the shape of the skull, but not as strong on the shape of the ear.

Key words: geometric morphometrics, chiroptera, echolocation, ear shape, skull shape, comparative phylogenetic method

1. Introdução

Os morcegos, animais pertencentes à ordem Chiroptera, são o segundo grupo mais diverso de mamíferos, com mais de 1300 espécies distribuídas em 20 famílias (Fenton & Simmons, 2015). São caracterizados pelas mãos modificadas em forma de asa, por isso o nome do grupo (do grego *Chiro*: mão, *Ptero*: asa), tornando-os capazes de realizar voo verdadeiro, ou seja, conseguir controlar o local e momento de iniciar o voo e pousar (Teeling, 2009).

Durante muito tempo as espécies de morcegos foram divididas em “megaquirópteros” e “microquirópteros”. Os megaquirópteros eram conhecidos como morcegos do Velho Mundo e englobavam apenas a família Pteropodidae, ou raposas voadoras. Já o grupo Microchiroptera era formado por todas as demais famílias de morcegos que, como o nome sugere, possuem comparativamente menor tamanho corporal. Recentemente, com novas análises filogenéticas incluindo dados moleculares os morcegos foram rearranjados em duas novas subordens: Yinpterochiroptera e Yangochiroptera (Tsagkogeorga et al., 2013). A primeira, Yinpterochiroptera, engloba os antigos megaquirópteros e algumas famílias de microquirópteros. Ocorre na Europa, Ásia, África e Oceania, e atualmente é composta pelas famílias Craseonycteridae, Hipposideridae, Megadermatidae, Pteropodidae, Rhinolophidae e Rhinopomatidae. Já a subordem Yangochiroptera é formada exclusivamente por espécies antes pertencentes ao antigo grupo microchiroptera, incluindo as famílias Emballonuridae, Furipteridae, Miniopteridae, Molossidae, Mormoopidae, Mystacinidae, Myzopodidae, Natalidae, Noctilionidae, Nycteridae, Phyllostomidae, Thyropteridae, Cistugidae e Vespertilionidae. Apresentam ampla distribuição, variando desde famílias exclusivamente neotropicais (como Phyllostomidae e Natalidae), de endêmicas de grandes ilhas (como Myzopodidae endêmica de Madagascar), até famílias com distribuição global (Vespertilionidae) (Fenton & Simmons, 2015; Tsagkogeorga et al., 2013).

A maior diversidade das espécies de morcegos ocorre em regiões tropicais e subtropicais (Fenton & Simmons, 2015), mas, como mencionado anteriormente, existem também espécies com ocorrência cosmopolita, exceto Antártica e Círculo Polar Ártico (Evin et al., 2011; Fenton & Simmons, 2015). A

diversidade geográfica acompanha uma grande diversidade alimentar, e embora aproximadamente 70% das espécies registradas sejam insetívoras, há registros de espécies com dietas compostas por artrópodes, frutas, pólen, néctar e até vertebrados, como peixes, pequenos morcegos e pequenos anfíbios (Denzinger & Schnitzler, 2013; Simmons, 2005).

Morcegos, baleias e golfinhos, algumas espécies de aves noturnas, alguns musaranhos e tenreques (Moss, 2018) utilizam ecolocalização para detectar e classificar corpos sólidos no ambiente. A ecolocalização está intimamente relacionada à navegação e forrageamento dos animais que o utilizam (Denzinger & Schnitzler, 2013; Fenton & Simmons, 2015; Thomas et al., 2004). Os morcegos ecolocalizadores emitem sons em frequências que variam da faixa audível até ultrassom não audível (8kHz até acima de 200 kHz), e podem durar de 1 a 100 ms. Esses sons, ao entrarem em contato com corpos sólidos dentro da área de alcance, voltam como eco, que é captado pelo sistema auditivo do animal. Ao processar o eco ele consegue visualizar a organização do ambiente como se fosse um modelo em 3D (Moss, 2018).

São conhecidos três métodos de emissão de biossonar por quirópteros, o primeiro é por meio de cliques na língua, e até onde se sabe só é utilizada por indivíduos do gênero *Rosettus*, da família Pteropodidae, Yinpterochiroptera (Yovel et al., 2011). Nas outras formas o som é produzido pela na laringe, mas emitido pelas cavidades oral ou nasal, e esses métodos são utilizados por mais de 1000 espécies, em sua maioria dentro do grupo Yangochiroptera (Pedersen, 1998; Ratcliffe et al., 2013). Os sons produzidos pela laringe sempre possuem um componente de frequência modulada (FM), ou seja, variam a frequência bruscamente em um curto espaço de tempo (Moss, 2018). Mas também há espécies, como as do gênero *Rhinolophus*, que combinam o componente FM a um componente de frequência constante (CF), com frequência de banda curta e praticamente sem alterações (Moss & Sinha, 2003). Então, convencionalmente os morcegos que ecolocalizam pela laringe são categorizados como morcegos FM ou morcegos CF (ou CF-FM por alguns autores como em Kossel & Vater, 1995).

Embora não sejam sempre espécie-específicos, é possível identificar alguns chamados, principalmente os da fase de busca por presas (*search call*), a nível de gênero ou espécie. São considerados diversos parâmetros para que

se possa identificar a qual animal pertence o canto gravado, sendo eles: frequências máxima e mínima, largura de banda, duração do pulso, intervalo entre pulsos, quantidade de harmônicos, estrutura do chamado (se é FM ou CF) e frequência máxima de energia (Fenton & Bell, 1981).

Para a ecolocalização, as estruturas envolvidas são as que produzem o sinal (laringe ou língua), as que direcionam o sinal (cavidade nasal/oral e movimentação da cabeça), o sistema auditivo e o sistema de controle de voo (Moss et al., 2011). Estudos relatam que pode haver variação morfológica no crânio de acordo com a liberação do som utilizado na ecolocalização: as espécies que emitem som pela boca têm o crânio construído ao redor da cavidade oral, para que essa funcione como um amplificador; os que apresentam emissão nasal sofrem modificações no rosto e nas passagens nasais (Pedersen, 1998).

Além da variação das estruturas que produzem o sinal, também foram relatadas variações nas estruturas que recebem o sinal: o aparato auditivo. Ele é dividido entre ouvido externo, médio e interno. O ouvido externo, também chamado de orelha, é a parte visível do aparato auditivo, responsável por captar e canalizar o som pelo meato acústico externo até chegar no tímpano, que converte a onda sonora em energia mecânica para os ossos do ouvido médio. Esses estão localizados em uma cavidade próxima ao osso temporal e em mamíferos sua parte óssea é composta pelos ossículos: estribo, martelo e bigorna, que estão conectados ao ouvido interno para a transmissão dos sinais mecânicos. Finalmente, o ouvido interno é formado pelo labirinto, que engloba o sistema vestibular e coclear, responsáveis pelos sentidos de movimento e posicionamento e de audição, respectivamente (Ades & Engstrom, 1974; Ekdale, 2016; Koyabu, 2017; Torres & Giráldez, 1998)

O sistema coclear, ou a cóclea, é a estrutura mais comumente estudada em termos de variação com relação à ecolocalização e audição. Isso porque essa estrutura em espiral, formada por células sensoriais e de suporte, engloba o órgão de Corti, responsável por captar as vibrações mecânicas do som e transformá-las em impulsos elétricos que serão processados pelo sistema nervoso, sendo então a parte do ouvido que é considerada a mais diretamente ligada a mecanismos de audição (Girdlestone et al., 2020; Soto et al., 2003).

Além disso, sabe-se que morcegos que ecolocalizam pela laringe possuem cóclea larga e proeminente quando comparados a outros mamíferos que não ecolocalizam (Fenton & Ratcliffe, 2017).

Estudos analisando a variação da cóclea em morcegos sugerem que o tamanho desta estrutura está mais relacionado com requisitos funcionais do que relações taxonômicas, podendo haver inclusive variação dentro do próprio grupo. Habersetzer & Storch (1992) observaram que espécies do gênero *Pteronotus* que emitem chamados do tipo FM têm a cóclea significativamente menor que espécies do mesmo gênero que utilizam chamados tipo CF-FM, e Kossl & Vater (1995) documentaram resultados semelhantes para espécies das famílias Rhinolophidae, Hipposideridae e Vespertilionidae.

Existem poucos estudos analisando morfologia e variação de forma relacionada às demais estruturas do aparato auditivo, e, quando existentes, são apenas analisados por medidas lineares (Davies, Bates, et al., 2013; Davies, Maryanto, et al., 2013), desconsiderando por exemplo a possibilidade de análise digital de espécimes, em especial tomografias computadorizadas 3D. Essa seria uma solução para a visualização de partes do indivíduo de difícil acesso por meio de softwares sem que seja necessário alterar o espécime original (Shi et al., 2018).

A utilização do método de morfometria geométrica (GMM) permite descrever e comparar diferenças na forma de estruturas morfológicas, descritas pelas comparações de representações gráficas de coordenadas de marcos anatômicos ou *landmarks* entre os espécimes, em 2D ou 3D, preservando a geometria da forma por meio de superposição dos marcos e retirando o efeito do tamanho (Adams et al., 2004; Cox et al., 2011). Conjuntamente, os métodos filogenéticos comparativos são uma ferramenta que tem sido amplamente utilizada em estudos de anatomia comparativa, pois permite análises precisas da diversificação e manutenção da variação morfológica durante o processo de evolução e ramificação das espécies (Garamszegi, 2014).

Estudo recente sugere que mudanças na sensibilidade auditiva evoluíram como resposta a mudanças de frequência em chamados sociais e de ecolocalização, mas não analisou a variação na forma do ouvido (Lattenkamp et al., 2021). Sendo assim, os objetivos desse trabalho são: 1) avaliar e descrever

a variação de forma do ouvido e do crânio de morcegos; 2) testar há forte sinal filogenético na forma do ouvido e do crânio; 3) e finalmente testar se há relação entre a forma e padrões de ecolocalização e habitat. Hipotetizamos que a variação na forma do ouvido esteja relacionada apenas com a ecolocalização e independente da história filogenética, enquanto a da forma do crânio terá relação com a filogenia.

Para testar essa hipótese foram selecionadas oito espécies de morcegos da subordem Yangochiroptera, pertencentes a três famílias e seis gêneros: três espécies da família Molossidae: *Molossops temminckii* (Burmeister, 1854), *Molossus molossus* (Pallas, 1766), *Nyctinomops macrotis* (Gray, 1840); quatro da família Vespertilionidae: *Eptesicus diminutus* (Osgood, 1915), *Eptesicus furinalis* (D'orbigny & Gervais, 1847), *Lasiurus cinereus* (Palisot de Beauvois, 1796), *Lasiurus blossevilli* (Lesson & Garnot, 1826) e uma da família Noctilionidae: *Noctilio leporinus* (Linnaeus, 1758). Todas as espécies tem ocorrência registrada no Brasil, e hábitos exclusivamente insetívoros, exceto por *Noctilio leporinus* que também apresenta hábitos piscívoros. Apresentam ecologia e parâmetros de ecolocalização conhecidos, e produzem os sinais de alta frequência pela laringe e emitem pela boca (Pedersen, 1993).

2. Material e métodos

Pelo levantamento inicial, foram escolhidas 17 espécies de morcegos, mas foram então selecionadas aquelas que 1) tivessem ocorrência registrada no Brasil; 2) tivessem chamados de ecolocalização tipo *search call* conhecidos na literatura; 3) apresentassem dados de filogenia disponíveis; 3) apresentassem ecolocalização de tipo laringo-oral; 4) tivessem tomografia computadorizada (CTscan) 3D disponível para download no banco de dados Morphosource e 5) tivessem pelo menos um ouvido intacto. Todas as espécies que não se encaixaram em todas essas etapas foram desconsideradas, sobrando então oito espécies a ser analisadas nesse trabalho. Todas os exemplares selecionados foram disponibilizados por Shi, Westeen, Rabosky (2018), para os detalhes ver Tabela 1.

Tabela 1. Identificação dos espécimes disponibilizados por (Shi, Westeen, Rabosky, 2018) disponibilizados no morphosource e utilizados nesse trabalho.

Espécie	Família	Voucher original
<i>Molossops temminckii</i>	Molossidae	UMMZ125373
<i>Molossops temminckii</i>	Molossidae	AMNH260262
<i>Molossops temminckii</i>	Molossidae	AMNH264110
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH97080
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH211380
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH205675
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH78895
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH78443
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH40723
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH94694
<i>Molossus molossus</i>	Molossidae	AMNH178664
<i>Nyctinomops macrotis</i>	Molossidae	UMMZ113271
<i>Eptesicus diminutus</i>	Vespertilionidae	UMMZ125748
<i>Eptesicus furinalis</i>	Vespertilionidae	UMMZ124387
<i>Lasiurus cinereus</i>	Vespertilionidae	UMMZ51379
<i>Lasiurus blossevilli</i>	Vespertilionidae	UMMZ125725
<i>Noctilio leporinus</i>	Noctilionidae	UMMZ68190

Morcegos da família Molossidae

Molossops temminckii (Burmeister, 1854)

M. temminckii é uma espécie com distribuição da Colômbia ao sul do Brasil. Essa espécie vive em bordas de florestas ou entre árvores muito espaçadas (Oliveira et al., 2018). É uma das menores espécies dentro da família, com antebraço de aproximadamente 30 mm e pesando em média 6 g (Freeman, 1981b; Oliveira et al., 2018). Apresenta voo mais lento, mas com maior capacidade de manobra, quando comparado a outros Molossídeos (Freeman, 1981a; Norberg & Rayner, 1987)

É uma espécie com grande plasticidade vocal, com chamado variando conforme a quantidade de obstáculos do ambiente em que é encontrado, controlando entre frequência modulada crescente (UFM), frequência modulada decrescente (DFM) e frequência semi-constante (qCF). O chamado de procura se diferencia de outras espécies da mesma família, é de frequência modulada crescente com pico de frequência de aproximadamente 50 kHz (Guillén-Servent & Ibáñez, 2007).

Molossus molossus (Pallas, 1766)

Ocorre do sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, alimenta-se de insetos aéreos duros, principalmente besouros (Freeman, 1981a). Chamados de procura de *M. molossus* são em pulsos pares de frequência alternada, geralmente o primeiro pulso de menor frequência, e o segundo pulso com frequência mais alta, de pico 37.5 kHz. No espectrograma, os chamados mostram formato côncavo frequência quase constante (Barataud et al., 2013).

Nyctinomops macrotis (Gray, 1840)

Espécie encontrada do nordeste do México até o Brasil, é insetívora, consumindo principalmente lepidópteros, e encontrada em áreas abertas (Freeman, 1981a) Espécie considerada grande para a família (antebraço = 58.3–62.5 mm (Mora & Torres, 2008). Seus chamados de procura são longos e de banda estreita, com um único harmônico e frequência modulada descendente. Esses chamados são de baixa frequência (FME ~22.34 kHz) quando comparado a outros morcegos, podendo até ser percebida por ouvidos humanos (Zamora-Gutierrez et al., 2016).

Morcegos da família Vespertilionidae

Eptesicus diminutus (Osgood, 1915)

Essa espécie é encontrada da Venezuela até o norte da Argentina. É pequena, com antebraço entre 32 e 35 mm, e pesa entre 4,9 e 6,5 g. (Barquez et al., 1993). Alimenta-se de insetos moles, como Lepidoptera e Hymenoptera. Seus pulsos são de frequência modulada de curta duração (1.80 ± 0.37 ms) e banda larga (42.43 ± 6.45 kHz), com dois harmônicos, sendo que a frequência de maior energia se encontra no primeiro. A frequência de maior energia é alta, a maior dentre as espécies aqui analisadas, de ~66 kHz. (Santos, 2014)

Eptesicus furinalis (d'Obigny e Gervais, 1847)

A espécie é encontrada do nordeste do México até o norte da Argentina forrageando em espaços abertos. É uma espécie pequena (antebraço= 38,8 mm, massa=7,6 g segundo Rydell et al., 2002). O chamado de procura é de frequência modulada decrescente inicial que termina em uma “cauda” de banda estreita, essa variando a duração com a proximidade a obstáculos e alvos. A maior parte da energia é de frequência 41.6 kHz (Barataud et al., 2013). Os

pulsos de procura são geralmente emitidos regularmente a cada 6s, embora varie conforme a proximidade ao alvo. Apenas harmônica fundamental é evidente na maior parte dos casos.

Lasiurus blossevillii (Lesson e Garnot, 1826)

Encontrada no oeste da América do Norte e do Equador ao norte da Argentina, conhecido popularmente como morcego vermelho. Seus pulsos durante a fase de procura são alternados irregularmente entre frequência modulada e frequência quase constante, essa segunda podendo ser confundida com sinais de *Molossus molossus*, mas eles podem ser diferenciados pois a energia dos chamados de *L. blossevillii* é distribuída uniformemente ao longo do pulso (Barataud et al., 2013). A FME é de média 38.77 kHz (Rivera-Parra & Burneo, 2013).

Lasiurus cinereus (Beauvois, 1796)

Encontrada do sul do Canadá até a região central da Argentina. Chamado popularmente de morcego grisalho (Hoary Bat). É insetívoro, com dieta composta majoritariamente por lepidópteros (Freeman, 1981a). Essa espécie possui grande plasticidade em seus chamados de ecolocalização, podendo variar muito dependendo da quantidade de obstáculos presentes no ambiente em que forrageia, mas em geral seus chamados são de frequência modulada e baixa frequência de máxima energia (~35.47 kHz segundo Zamora-Gutierrez et al., 2016)

Morcegos da família Noctilionidae

Noctilio leporinus (Linnaeus, 1758)

Espécie encontrada do noroeste mexicano (Sinaloa) até o norte da Argentina. Alimenta-se de pequenos peixes e insetos, e pode também se alimentar de crustáceos e aracnídeos (Brooke, 1994; Zortea & Aguiar, 2001). Antebraço maior que 75 mm e pesa mais que 50g (50-90g Hood & Pitocchelli, 1983). Além do tamanho maior, se diferencia da outra espécie da família por seus membros posteriores e garras desenvolvidos para agarrar peixes (Hood & Pitocchelli, 1983). Seus chamados de procura dão de frequência constante com

FME de média 34.61 kHz e longa duração com aproximadamente 12.72 ms (Rivera-Parra & Burneo, 2013).

Manipulação dos crânios obtidos

Os arquivos CTScan obtidos no *morphosource* foram convertidos utilizando o software Fiji para os formatos suportados em cada programa utilizado em sequência. Para as descrições anatômicas, foi utilizado o CTvox (Bruker), enquanto para o isolamento dos ouvidos e digitalização de marcos para as análises de morfometria geométrica, foi utilizado o programa 3Dslicer (Fedorov et al., 2012)

Os marcos anatômicos utilizados para as análises de morfometria geométrica do crânio foram baseados em Santana et al., 2019, (Tabela 2 e Figura 1), totalizando 34 marcos. Para descrição do ouvido foram digitalizados 26 marcos, todos escolhidos especialmente para a realização deste trabalho e estão descritos na Tabela 3 e Figura 2.

Tabela 2. Referência dos marcos utilizados para comparação de forma do crânio.

Número	Referência anatômica
1	Ponto anterior da maxila direito
2	Ponto anterior da maxila esquerdo
3	Ponto anterior do alvéolo do canino direito
4	Ponto anterior do alvéolo do canino esquerdo
5	Ponto anterior do alvéolo do pré-molar direito
6	Ponto anterior do alvéolo do pré-molar esquerdo
7	Ponto anterior no alvéolo do primeiro molar direito
8	Ponto anterior no alvéolo do primeiro molar esquerdo
9	Ponto posterior no alvéolo do último molar direito
10	Ponto posterior no alvéolo do último molar esquerdo
11	Ponto ventral no hámulo pterigoideo direito
12	Ponto ventral no hámulo pterigoideo esquerdo
13	Ponto ventral no processo mastoide direito
14	Ponto ventral no processo mastoide esquerdo
15	Ponto dorsal da borda interna do meato auditivo direito
16	Ponto dorsal da borda interna do meato auditivo esquerdo
17	Ponto ventral da borda interna do meato auditivo direito
18	Ponto ventral da borda interna do meato auditivo esquerdo
19	Ponto lateral do côndilo occipital direito
20	Ponto lateral do côndilo occipital esquerdo
21	Borda dorsal do forâmen magno
22	Borda ventral do forâmen magno
23	Ponto posterior da linha central do palato
24	Ponto anterior da linha central do palato completo
25	Ponto anterior da linha central dos nasais
26	Ponto posterior na interseção das cristas sagital e da nuca
27	Ponto posterior da interseção do arco zigomático e osso lacrimal direito

28	Ponto posterior da interseção do arco zigomático e osso lacrimal esquerdo
29	Ponto posterior da interseção do arco zigomático e caixa craniana direito
30	Ponto posterior da interseção do arco zigomático e caixa craniana esquerdo
31	Ponto ventral da interseção do arco zigomático na maxila direito
32	Ponto ventral da interseção do arco zigomático na maxila esquerdo
33	Ponto lateral na margem da fossa mandibular direita
34	Ponto lateral na margem da fossa mandibular esquerda

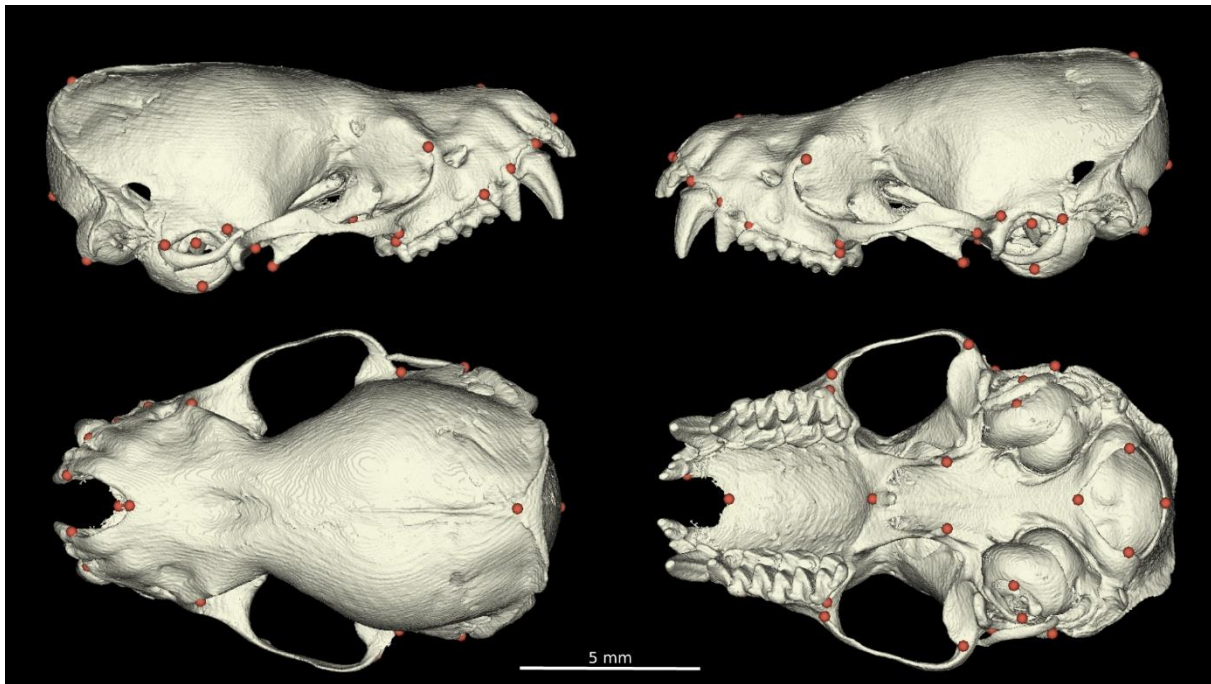


Imagem 1. Crânio de *Eptesicus diminutus* com demonstrações dos marcos utilizados para as análises de morfometria do crânio, em vista lateral direita (a), esquerda (b), dorsal (c) e ventral (d).

Como o ouvido é composto de diversas estruturas delicadas, muitos dos espécimes estavam com um dos lados danificados. Assim, foi selecionado apenas o ouvido direito para a colocação dos marcos e análises de forma, exceto em um dos espécimes de *Molossus molossus*, que estava com o lado direito danificado e foi então observado o ouvido do lado esquerdo, e os marcos foram invertidos para ficar na mesma configuração que os outros para as análises de superimposição.

Tabela 3. Referência dos marcos utilizados para comparação de forma do ouvido.

Número	Referência anatômica
1	Ponto de encontro entre a bula e o martelo
2	Ponto mais baixo da abertura da bula
3	Ponto mais posterior da abertura da bula

4	Ponto mais anterior da abertura da bula
5	Ponto mais acima da abertura da janela oval, com relação aos canais semicirculares
6	Ponto mais abaixo da abertura da janela oval
7	Ponto mais extremo da lateral externa da abertura da janela oval
8	Ponto mais extremo da lateral interna da abertura da janela oval
9	Abertura interna da janela redonda
10	Abertura externa da janela redonda, de encontro com o estribo
11	Ponto final da cóclea com relação aos giros
12	Ponto central entre as ampolas do canal semicircular anterior
13	Centro canal semicircular anterior
14	Divisão entre canal semicircular anterior e lateral
15	Divisão entre canal semicircular lateral e posterior
16	Divisão entre canal semicircular posterior e anterior
17	Ponto interno do pescoço do estribo
18	Ponto entre ramo anterior e base do estribo
19	Ponto entre ramo posterior e base do estribo
20	Ponto de encontro entre cabeça do estribo e processo lenticular da bigorna
21	Extremidade processo curto da bigorna
22	Região entre braço curto e braço longo da bigorna
23	Ponto de encontro entre cabeça da bigorna e cabeça do martelo
24	Extremidade inferior da apófise orbicular
25	Colo do martelo
26	Extremidade do <i>manubrium</i>

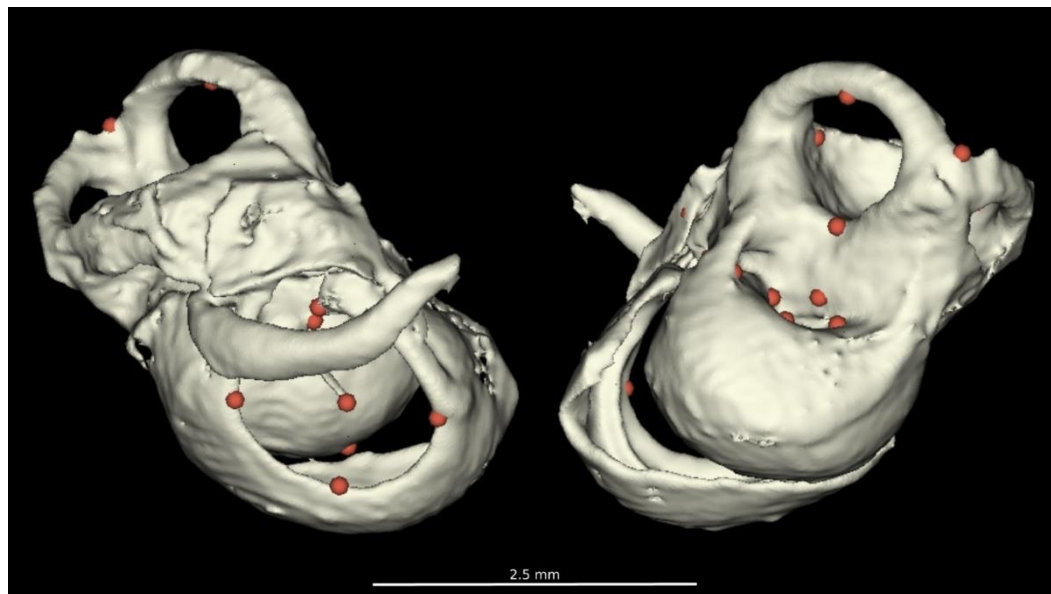


Imagem 2. Ouvido de *Eptesicus diminutus* com demonstrações dos marcos utilizados para as análises de morfometria, em vista lateral direita (a) e esquerda (b).

Os dados provenientes dos marcos anatômicos foram transferidos para análise no programa Rstudio (R Core Team, 2021) utilizando o pacote Geomorph (Adams et al., 2022; Baken et al., 2021).

Primeiramente fizemos a análise de morfometria geométrica por meio de análises generalizadas de Procrustes (GPA) e análises de componentes principais (PCA). As análises do crânio e do ouvido foram realizadas de forma independente entre si para observar a variação de forma entre cada provável módulo. Então, com os dados do GPA foi utilizada análise K de Blomberg (Blomberg et al., 2003) para mensurar o sinal filogenético dos traços morfológicos. Foi utilizada a filogenia disponibilizada por Shi & Rabosky (2015) trimada para incluir apenas as espécies utilizadas nesse trabalho. Finalmente, uma análise de variância filogenética (ANOVA) foi feita para avaliar a relação entre dados de ecologia e ecolocalização e as formas. Os fatores utilizados foram hábitat e três parâmetros de ecolocalização: estrutura do chamado (CF ou FM), frequência de máxima energia (FME) e duração de chamados de procura (CD) disponibilizadas por Arias-Aguilar et al. (2018), Barataud et al. (2013), Guillén-Servent & Ibáñez (2007) e Rivera-Parra & Burneo (2013).

3. Resultados

3.1. Descrições

Família Molossidae

Molossops temminckii

O crânio possui formato “retangular”, com a parte rostral e a parte cerebral de altura e largura semelhantes, se desconsiderar o ectotimpânico que é bem grande. O maxilar apresenta proeminências seguindo os dentes, uma para o incisivo, uma para o canino e outra para o pré-molar. Na porção que compreende os molares, é fino e curto.

Possui uma crista externa baixa, praticamente não visível de vista lateral, mas que se estende do frontal ao occipital. Não é possível ver uma separação clara entre os ossos maxilar, nasal e frontal, nem entre o frontal e parietal. Processo zigomático do esquamosal bem fino e reto. Sutura sagital apresenta uma leve crista quando encontra a sutura partiointerparietal, e é possível ver o interparietal por isso. Possui um grande forame magno, que ocupa quase a parte posterior inteira do crânio.

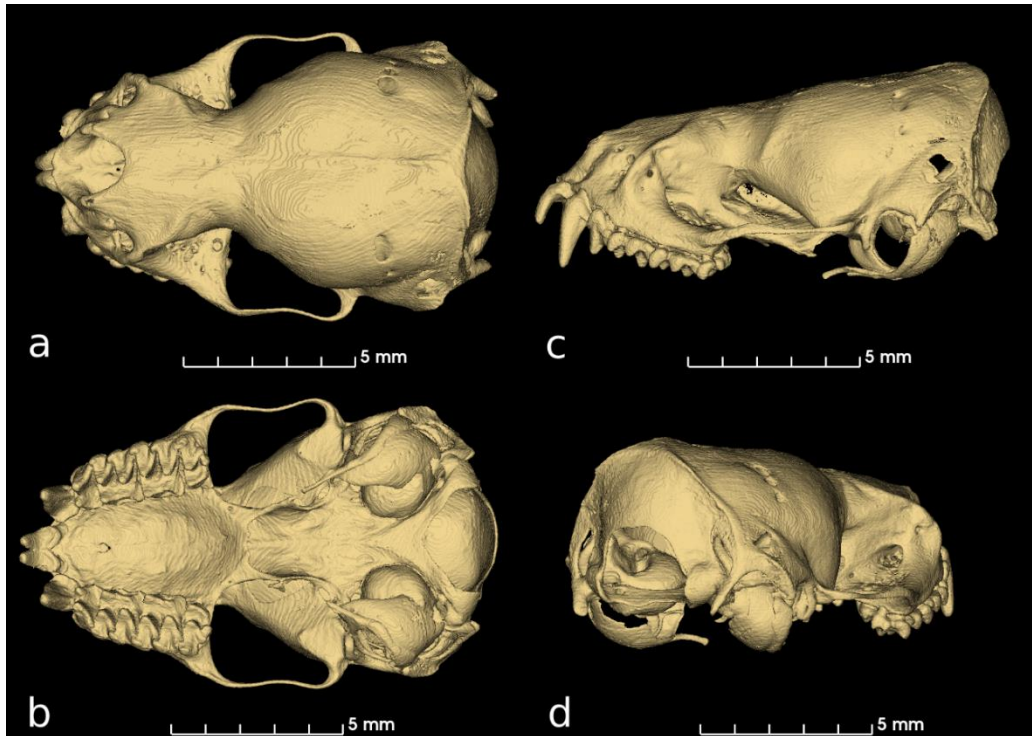


Imagem 3: Crânio de *Molossops temminckii* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

Ectotimpânico é grande e com uma grande abertura em formato oval “tombado” e a bula timpânica grande e espessa. Os canais semicirculares são pequenos e finos, localizados bem próximo à lateral do crânio. Abertura do canal oval é grande e facilmente visível. A cóclea possui formato cônico achatado. A janela oval é pequena e bastante inclinada para a porção posterior do crânio, fazendo com que o conjunto do sistema vestibular e coclear aparente estar caído em direção caudal. O canal semicircular também é rotacionado, voltado para o interior do crânio, e tanto esse quanto os outros canais são finos e com abertura não muito ampla, com ampolas robustas. O estribo possui ramos curtos mas separados. Os três ossículos estão posicionados bem próximos um do outro e a distinção entre martelo e bigorna é difícil. A bigorna possui ramo longo grosso e curto, e o martelo apresenta *manubrium* em formato de remo voltado para o interior do ouvido, terminando bem próximo à cóclea.

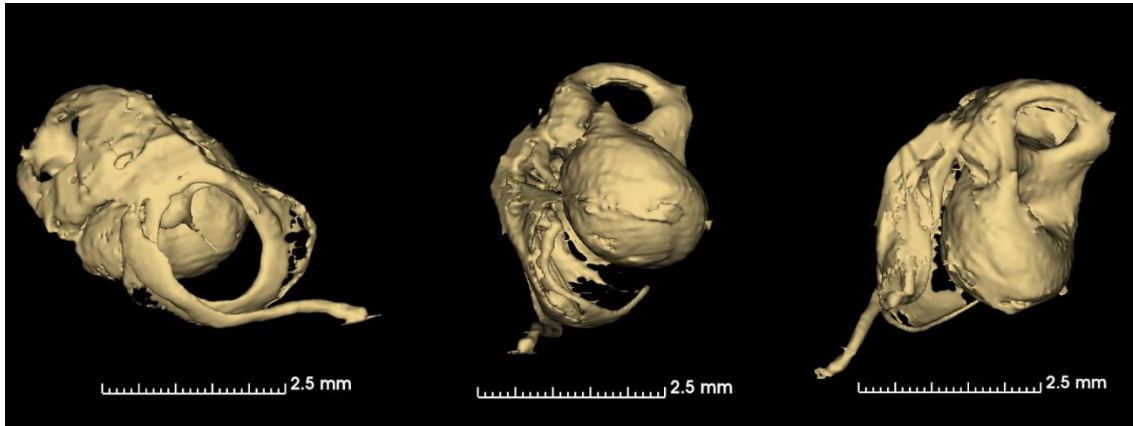


Imagem 4: Ouvido direito de *Molossops temminckii* de vista lateral externa, frontal e superior.

Molossus molossus

Poucas suturas são visíveis na parte rostral do crânio. A maxila tem sua porção superior curta e com a porção anterior côncava, enquanto sua porção inferior é comprida e fina. Apresenta dois forâmens, o primeiro tendo mais que o dobro do tamanho do segundo. Lateralmente, a sutura que une os ossos lacrimal e palatino ao frontal é uma das poucas que estavam visíveis em todos os espécimes analisados. O osso frontal é grande e domina a vista lateral do crânio. Na vista dorsal, é possível visualizar o nasal com um formato de “Y”, e logo ao final se inicia uma crista que se estende por todo o *cranium* até o interparietal.

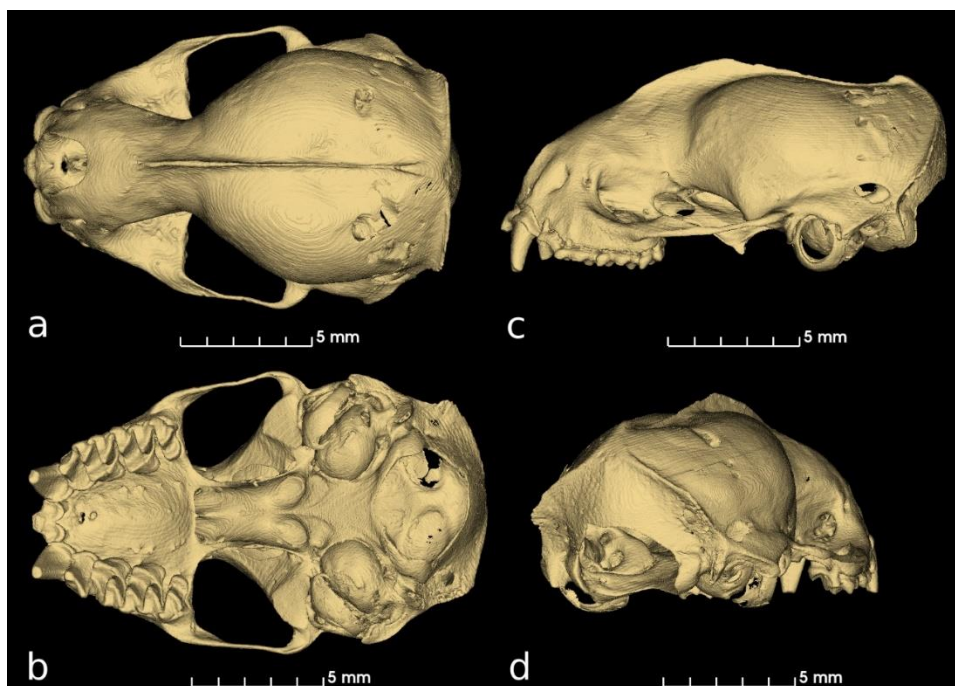


Imagem 5: Crânio de *Molossus molossus* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

Ectotimpânico grande e espesso. Abertura da bula em formato ovalado e levemente inclinada ventralmente. Os canais semicirculares são compactos e robustos, e no início deles as ampolas são proeminentes e facilmente identificáveis. A janela oval é ampla e bastante inclinada para a porção posterior do crânio, fazendo com que o conjunto do sistema vestibular e coclear aparente estar caído em direção caudal. A cóclea não é muito grande e possui formato levemente cônico. O estribo tem os ramos curvados e separados, a bigorna pequena, com o ramo longo mais curto, e inclinado de modo que a cabeça está voltada para a porção anterior do crânio. Tanto a bigorna quanto o martelo estão localizados acima da abertura da bula timpânica, de modo que apenas o longo *manubrium* em forma de remo seja visível pela visão externa.

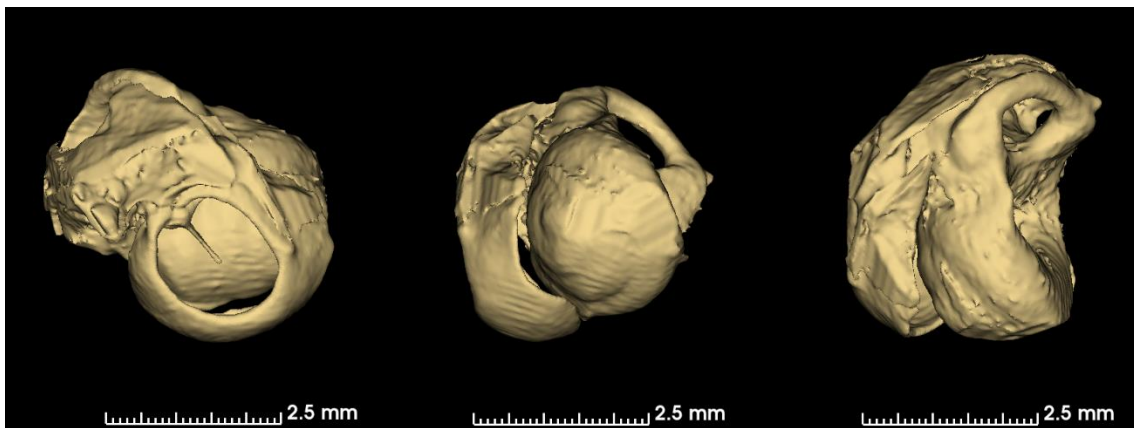


Imagem 6: Ouvido direito de *Molossus molossus* em vista lateral externa, frontal e superior.

Nyctinomops macrotis

Há uma fenda no premaxilar na área do forame nasal. Os incisivos são inclinados, formando um formato parecido a um “V”, e são grandes. Ao longo do crânio, poucas suturas são visíveis, mas é possível ver claramente a separação entre os ossos nasais e frontais devido a dois pequenos forames na região. Também devido a pequenos forames é possível diferenciar com clareza as porções frontal e parietal do crânio. Apresenta uma pequena crista sagital externa. A porção frontal é estreita, enquanto o lacrimal e início do jugal são largos, deixando um grande espaço lateralmente para a região ocular. O forame magno é voltado para a porção ventral do corpo, mas largo a ponto de ser visível na visão anterior do crânio, com abertura larga tanto horizontal quanto verticalmente.

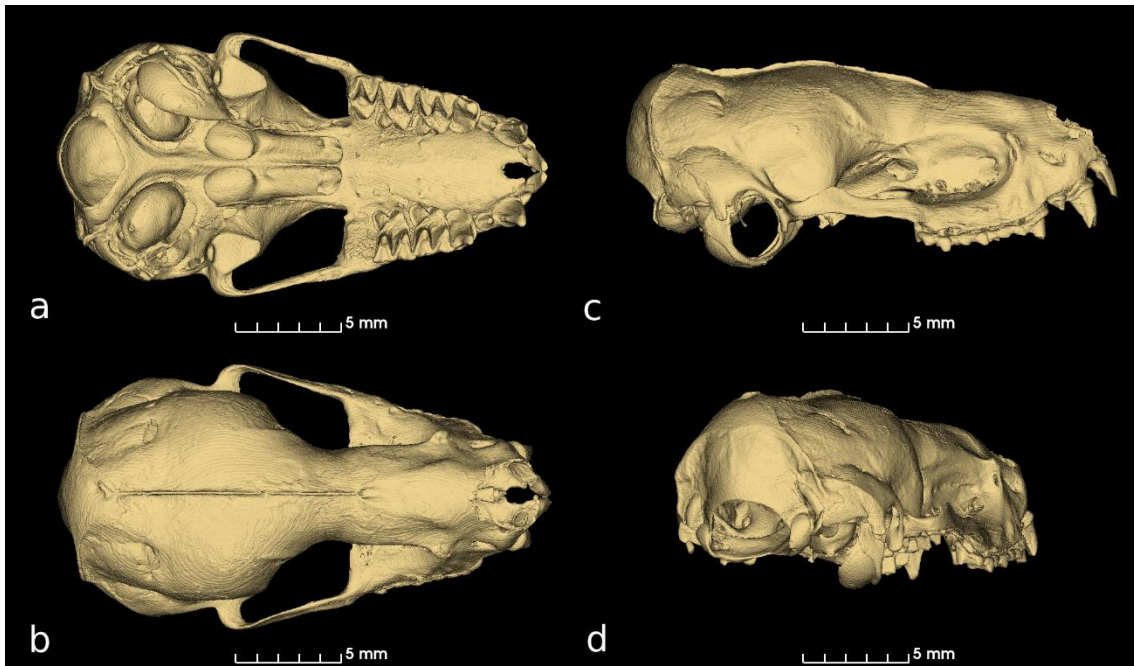


Imagem 7: Crânio de *Nyctinomops macrotis* em em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

Apresenta ampla abertura da bula timpânica levemente inclinada para a porção frontal do crânio acompanhada de ectotimpânico curto. Tanto a cóclea, pequena e achatada, quanto os canais semicirculares, finos e com circunferência mais larga do que alta, são rotacionados para o interior do crânio, e a janela oval é baixa e comprida. O estribo possui o característico formato de “Y” com os ramos compridos e finos. Bigorna rotacionada com a cabeça apontando para a porção frontal e o corpo para baixo, com o processo longo comprido e fino, de modo a ficar em posição perpendicular ao estribo.

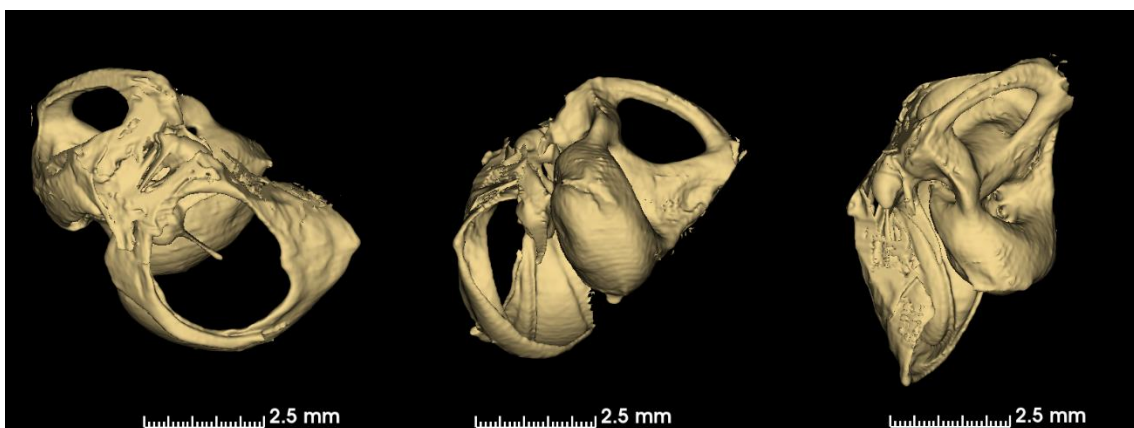


Imagem 8: Ouvido direito de *Nyctinomops macrotis* em vista lateral externa, frontal e superior.

Família Vespertilionidae

- *Eptesicus diminutus*

Há uma fenda no premaxilar na área do forame nasal. A região frontal do crânio é larga, quase da mesma largura da região craniana, e alta, fazendo o crânio parecer ter um formato retangular.

Quase não há suturas presentes, mas é possível visualizar as delimitações dos ossos nasal e parietal. Há uma pequena crista sagital externa e crista nugal.

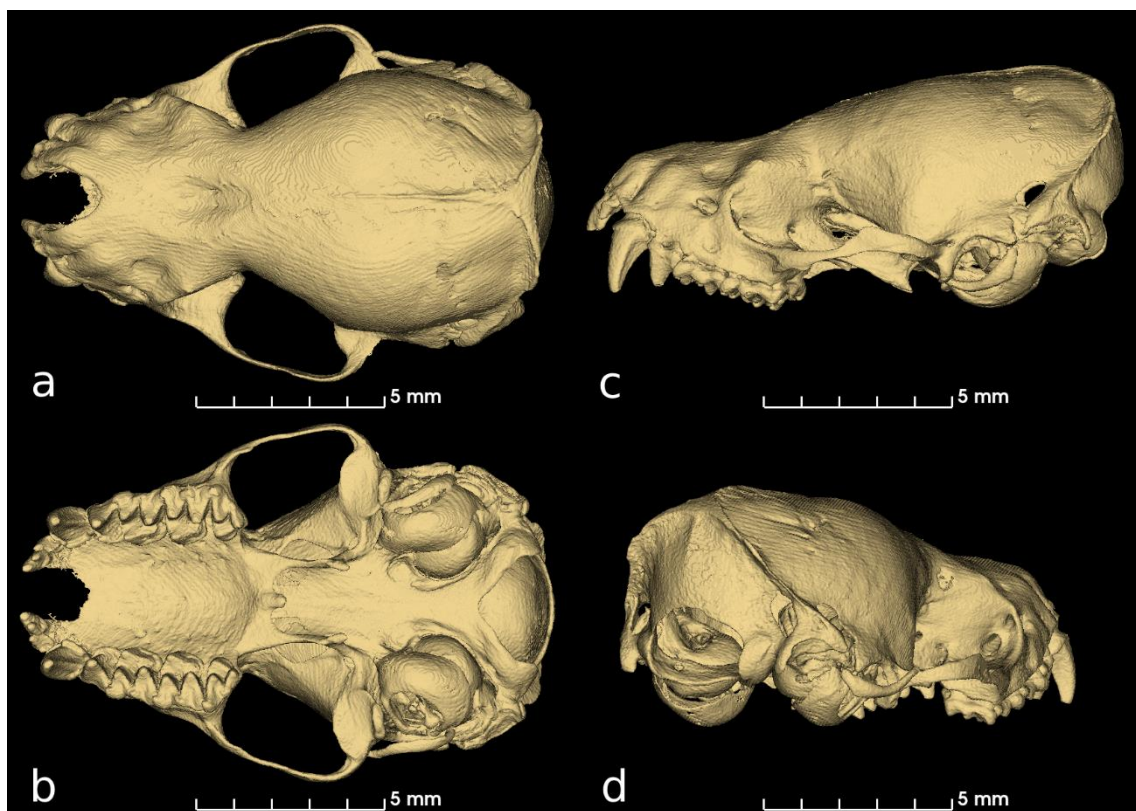


Imagem 9: Crânio de *Eptesicus diminutus* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

Quanto ao ouvido, a abertura da bula timpânica é ampla e levemente inclinada para a porção ventral do corpo, com um ectotimpânico discreto. O canal semicircular anterior é posicionado quase paralelamente ao esquamosal, com as ampolas grandes e ocupando quase metade da altura do canal. Os canais são finos quando comparados à outras espécies. A janela oval está levemente inclinada para o interior e para a porção caudal do crânio, e sua pequena abertura dá espaço a uma cóclea aumentada e de formato

ovalado. O estribo está posicionado quase paralelamente à abertura timpânica, com ramos finos e não muito espaçado entre si e pescoço longo. A bigorna e o martelo estão posicionados muito próximos tanto entre si quanto do esquamosal. Devido à posição da abertura da bula, em visão externo é possível ver apenas a parte inferior do martelo e seu *manubrium* fino e comprido.

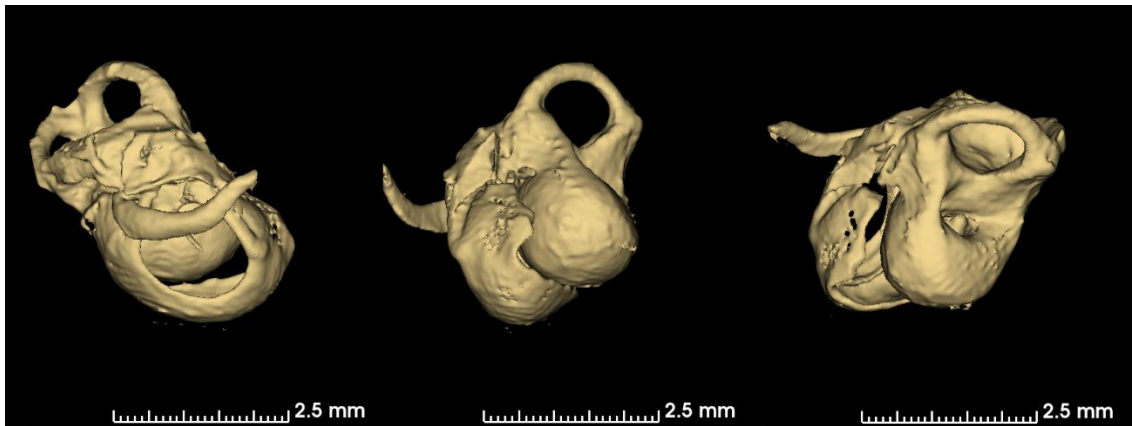


Imagem 10: Ouvido direito de *Eptesicus diminutus* em vista lateral externa, frontal e superior.

Eptesicus furinalis

Premaxilar dividido na região nasal. A região frontal do crânio possui comprimento e largura similares à região craniana, com uma leve afunilação na região orbital. Apresenta uma baixa crista sagital externa que encontra com a crista da nuca, essa sendo mais protuberante. A arcada dentária é larga e comprida, e o palato a acompanha, terminando um pouco depois do último molar.

A abertura da bula é de formato arredondado e não muito grande, voltada para a lateral. Os canais semicirculares são finos e sua abertura é pequena e de formato circular, o canal anterior voltado para o interior do crânio. A janela oval tem formato levemente triangular e voltada para a porção posterior do crânio. Quanto aos ossículos, o estribo é localizado bem próximo da divisão entre os canais semicirculares anterior e lateral, os ramos são finos e o pescoço robusto. A bigorna é pequena e sua cabeça rotacionada para a porção anterior do crânio, localizada ao lado do canal semicircular lateral. A divisão entre bigorna e martelo em *E. furinalis* é mais clara do que a de *E.*

diminutus, o segundo grande e inclinado para o interior do crânio, tornando difícil a visualização do *manubrium* pela visão externa.

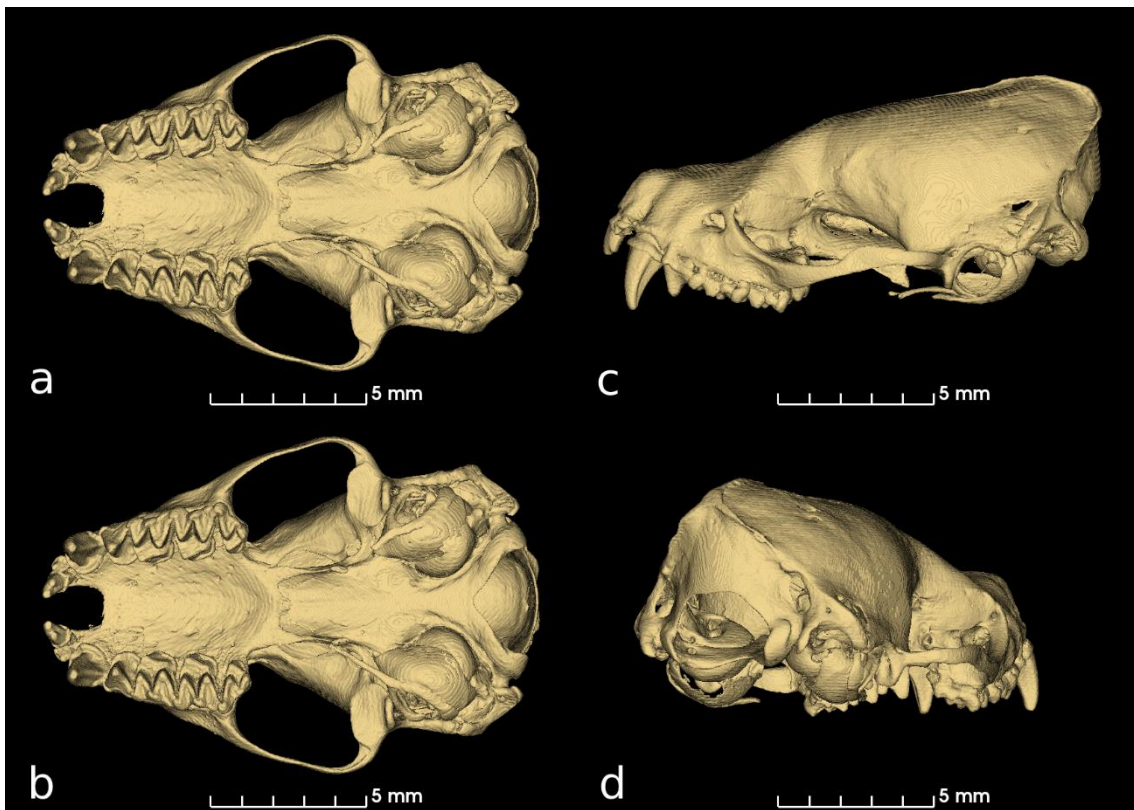


Imagem 11: Crânio de *Eptesicus furinalis* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

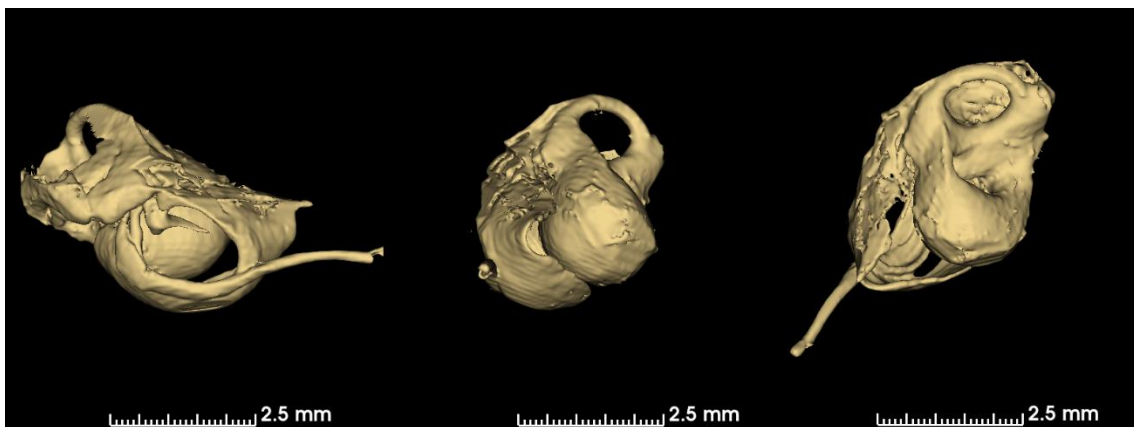


Imagem 12: Ouvido de *Eptesicus furinalis* em vista lateral externa, frontal e superior.

Lasiurus blossevillii

Possui grande abertura nasal em formato de “u”, e o início do palato acompanha tanto em formato quanto em tamanho. O rostró é curto, com aproximadamente metade do comprimento do crânio, mas de largura

semelhante. Há um afunilamento na região pós-orbital. A caixa craniana é alta e em formato redondo, com a presença de uma pequena crista sagital externa e da nuca. Os côndilos occipitais são grandes e proeminentes.

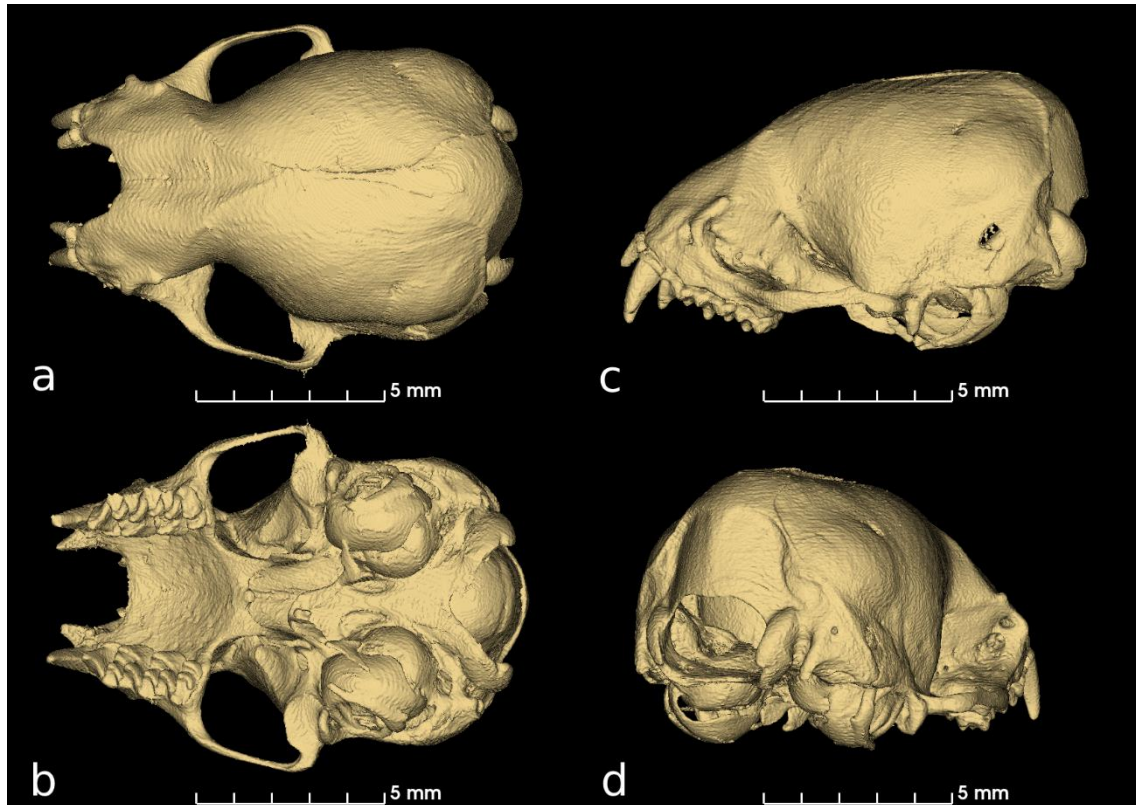


Imagem 13: Crânio de *Lasiurus blossevillii* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

A abertura da bula é pequena e redonda, levemente voltada para a região ventral, acompanhada de um ectotimpânico grade a ponto de quase cobrir a cóclea. Os canais semicirculares são grossos e pequenos direcionados latero-anteriormente. Pequena janela oval que acompanha a mesma direção do canal semicircular anterior, dando abertura para uma cóclea robusta de formato redondo. Os ossículos do ouvido médio estão posicionados próximos e sem muito espaço entre si. O estribo é pequeno e curto, assim como a bigorna e o martelo.

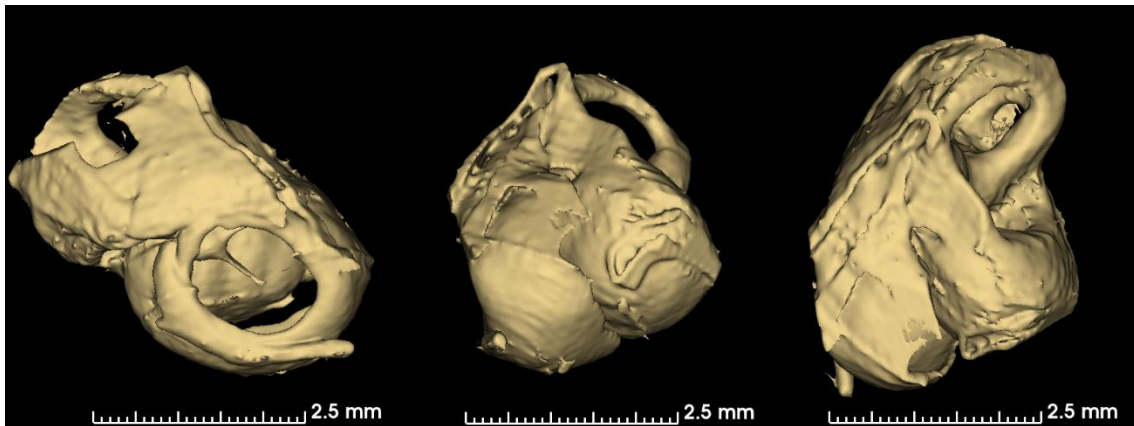


Imagem 14: Crânio de *Lasiurus blossevillii* em vista lateral externa, frontal e superior.

Lasiurus cinereus

Possui grande abertura nasal em formato de “u”, e o início do palato acompanha tanto em formato quanto em tamanho. O rostro é curto, alto e largo, chegando a ultrapassar pouco a largura da caixa craniana na altura do último molar. Há um leve afunilamento na região pós-orbital. Os côndilos occipitais são grandes e proeminentes.

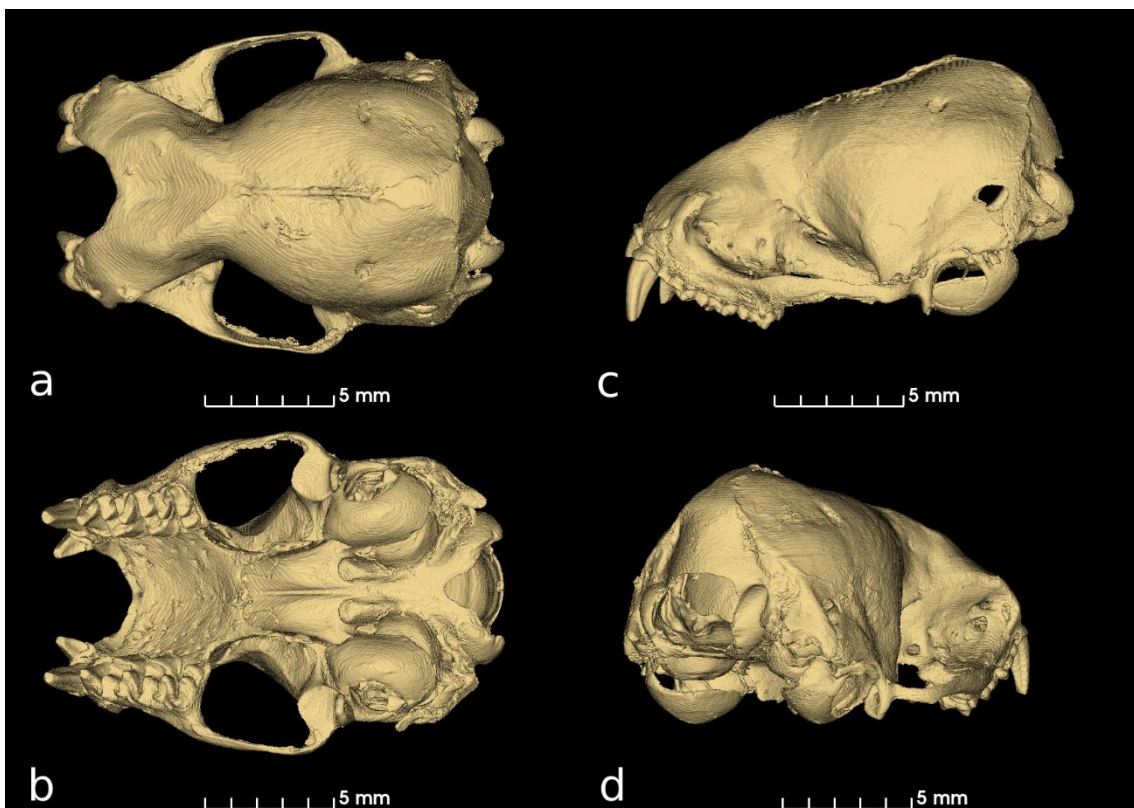


Imagem 15: Crânio de *Lasiurus cinereus* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

Apresenta ampla abertura da bula timpânica inclinada para a região ventral, acompanhada de ectotimpânico grande e côncavo capaz de acobertar a cóclea. Sistema vestibular e coclear movidos de modo que estão em posição quase perpendicular ao temporal. Tanto a cóclea quanto os canais semicirculares possuem formato levemente achatado, e a janela oval é grande. Estribo e bigorna com formato, direcionamento e proporções semelhantes ao observado em *L. blossevillii*, mas o martelo é rotacionado para o interior da bula acompanhando a cóclea.

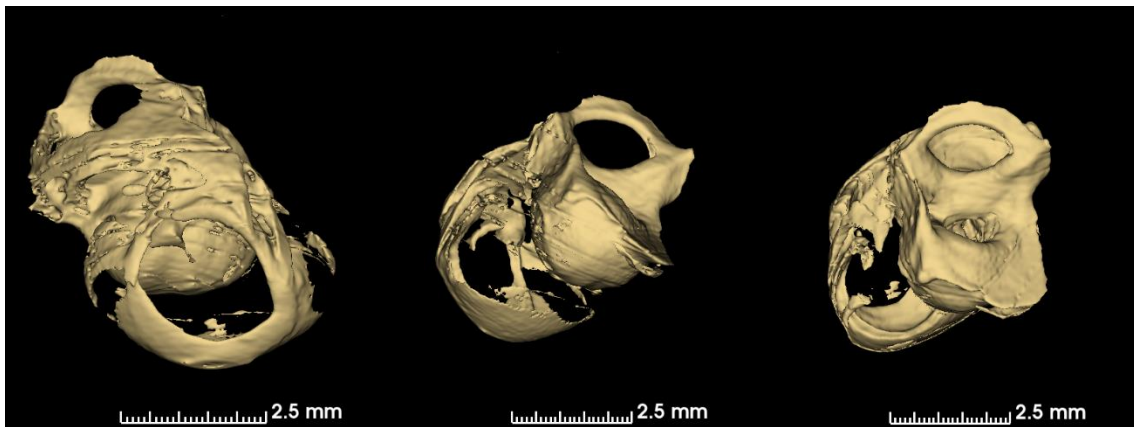


Imagem 16: Ouvido direito de *Lasiurus cinereus* em vista lateral externa, frontal e superior.

Família Noctilionidae

Noctilio leporinus

Possui dois pares dentes incisivos, sendo o primeiro bem proeminente, e caninos bem desenvolvidos. A fórmula dentária é $i\ 2/1\ c\ 1/1\ p\ 1/2\ m\ 3/3 = 28$. A parte rostral é larga e robusta, principalmente o osso maxilar. Apresenta uma crista externa que se estende do frontal ao supraoccipital. Basioccipital possui uma abertura ampla para um grande forame magno, mas não muito robusta. O osso temporal aparenta ter uma leve expansão para acomodar o sistema vestibular sem comprimi-lo.

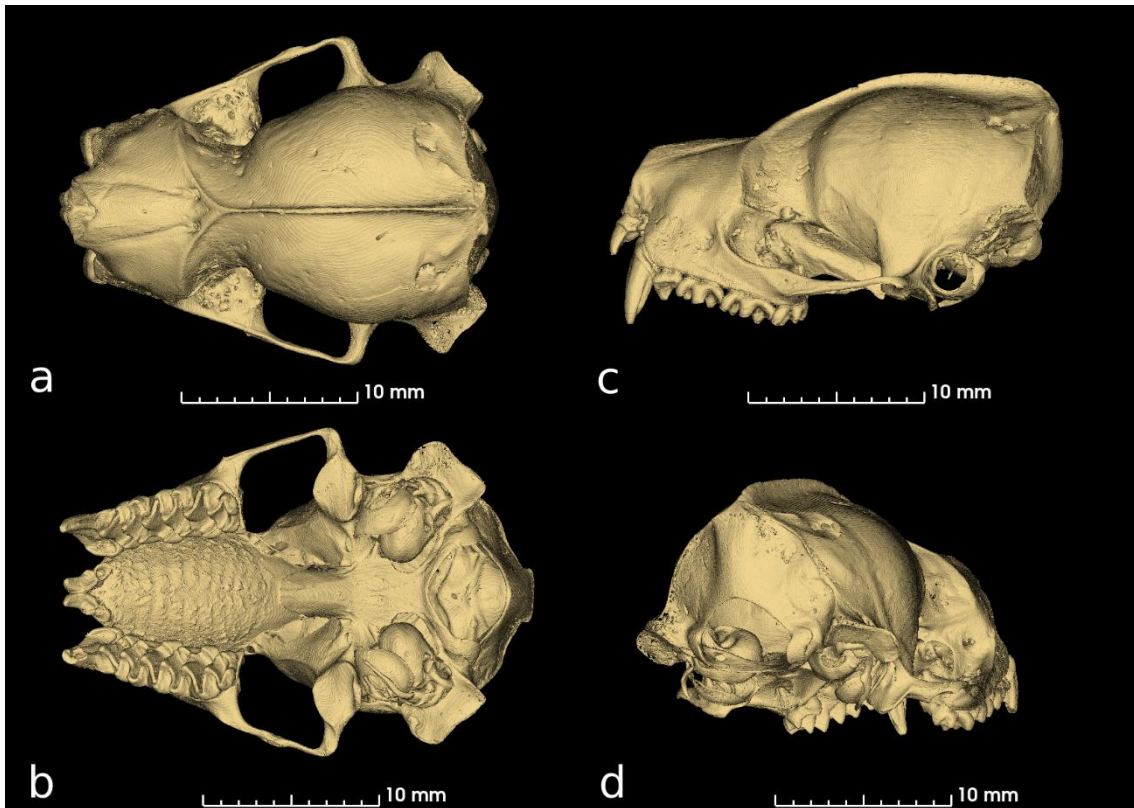


Imagem 17: Crânio de *Noctilio leporinus* em vista superior (a), inferior (b), lateral (c) e lateroposterior (d).

O ouvido de *N. leporinus* é pequeno comparando a proporção ao resto do crânio. Abertura da bula pequena e voltada para a lateral externa, acompanhada de ectotimpânico curto. Canais semicirculares pequenos e grossos, com comprimento parecido ao da cóclea. A cóclea possui formato cônico, sendo mais comprida do que larga, e a janela oval é grande e redonda.

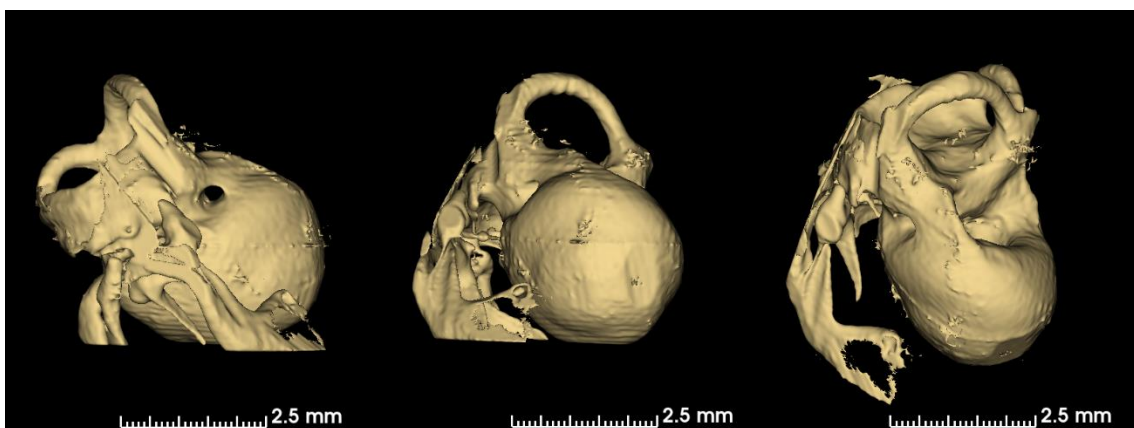


Imagem 18: Ouvido direito de *Noctilio leporinus* em vista lateral interna

3.2. Análises

Os resultados das análises de componentes principais dos crânios revelaram que os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) corresponderam juntos a 76,13% da variância total (PC1=61%, PC2=15.13%). Os dados plotados da PCA no espaço da forma, na extremidade positiva do PC1 e intermediária do PC2, espécies com formato mais próximo são as do gênero *Lasiurus*, com o crânio curto e alto. Na extremidade oposta está *Nyctinomops macrotis* com seu crânio de formato fino e comprido. Espécies do gênero *Eptesicus* ficaram próximas a *Noctilio leporinus* perto da extremidade positiva do PC2 e intermediária do PC1, com um crânio em formato retangular. As espécies restantes da família Molossidae não tiveram grande variação de forma, ficando as duas no quadrante negativo tanto de PC1 quanto PC2, com o formato do crânio mais comprido e baixo.

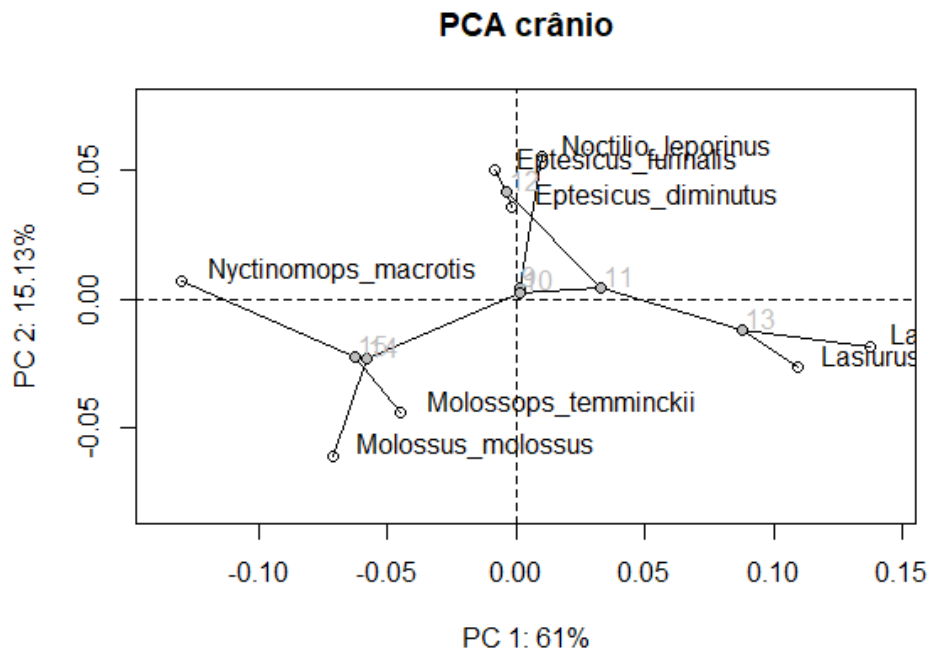


Figura 1: Gráfico comparando PC1 e PC2 da forma do crânio, com filogenia.

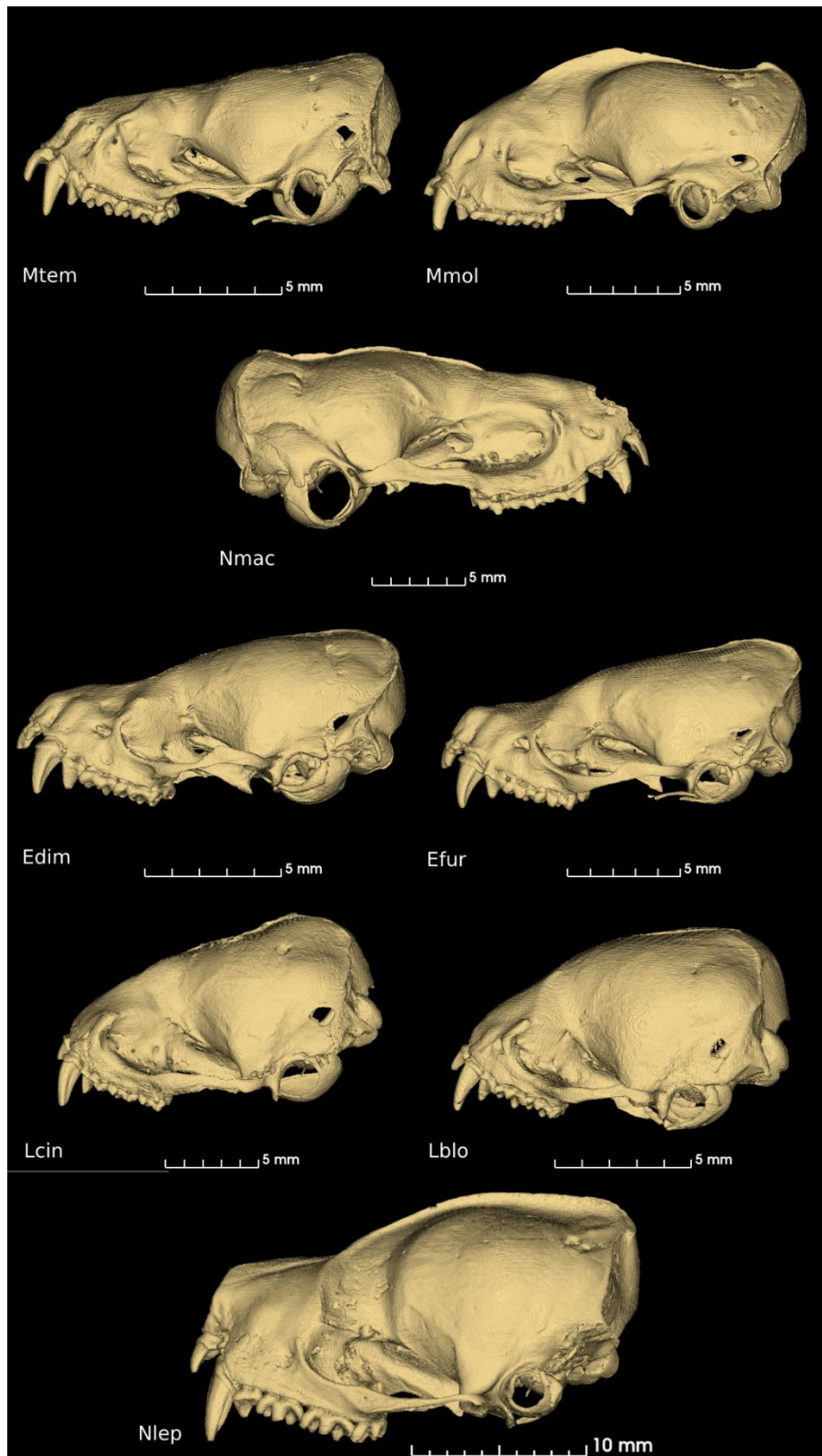


Imagem 19: Comparativo de vista lateral do crânio de todas as espécies analisadas. Mtem= *Molossops temminckii*, Mmol= *Molossus molossus*, Nmac= *Nyctinomops macrotis*, Edim= *Eptesicus diminutus*, Efur= *Eptesicus furinalis*, Lcin= *Lasiurus cinereus*, Lblo= *Lasiurus blossevillii*, Nlep= *Noctilio leporinus*.

Na análise de componentes principais do ouvido, os dois primeiros componentes correspondem a 57.75% da variação (PC1=33.74% e PC2=24.01%). Plotando no espaço da forma, não houve divisão tão clara entre as espécies como nos crânios. *Nyctinomops macrotis* pode ser encontrado na extremidade negativa de PC1 com uma cóclea pequena e achatada, grande abertura da bula timpânica e canais semicirculares achatados. Já na extremidade positiva ainda de PC1, as espécies do gênero *Lasiurus*, com ectotimpânico grande e côncavo, canais semicirculares espessos e cócleas robustas. Na extremidade positiva de PC2 está *Eptesicus furinalis* com a cóclea aumentada de formato ovalado, abertura da bula arredondada e de tamanho menor, e canais semicirculares finos e não muito grandes. Na porção negativa de PC1 e PC2 há *M. molossus* com grande abertura da bula em formato ovalado, canais semicirculares compactos e robustos e cóclea não muito grande de formato cônico.

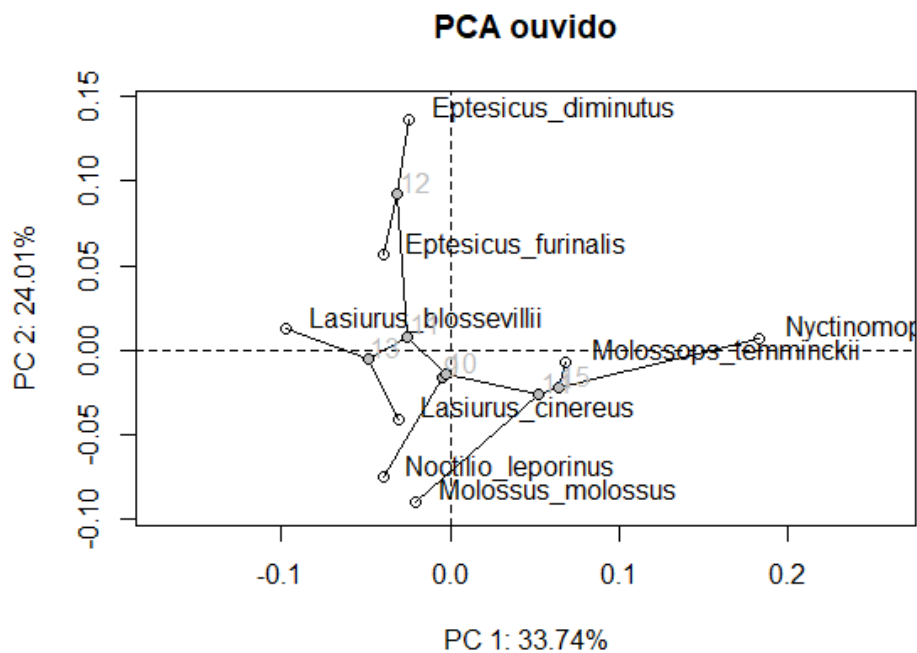


Figura 2: Gráfico comparando PC1 e PC2 da forma do ouvido, com filogenia.

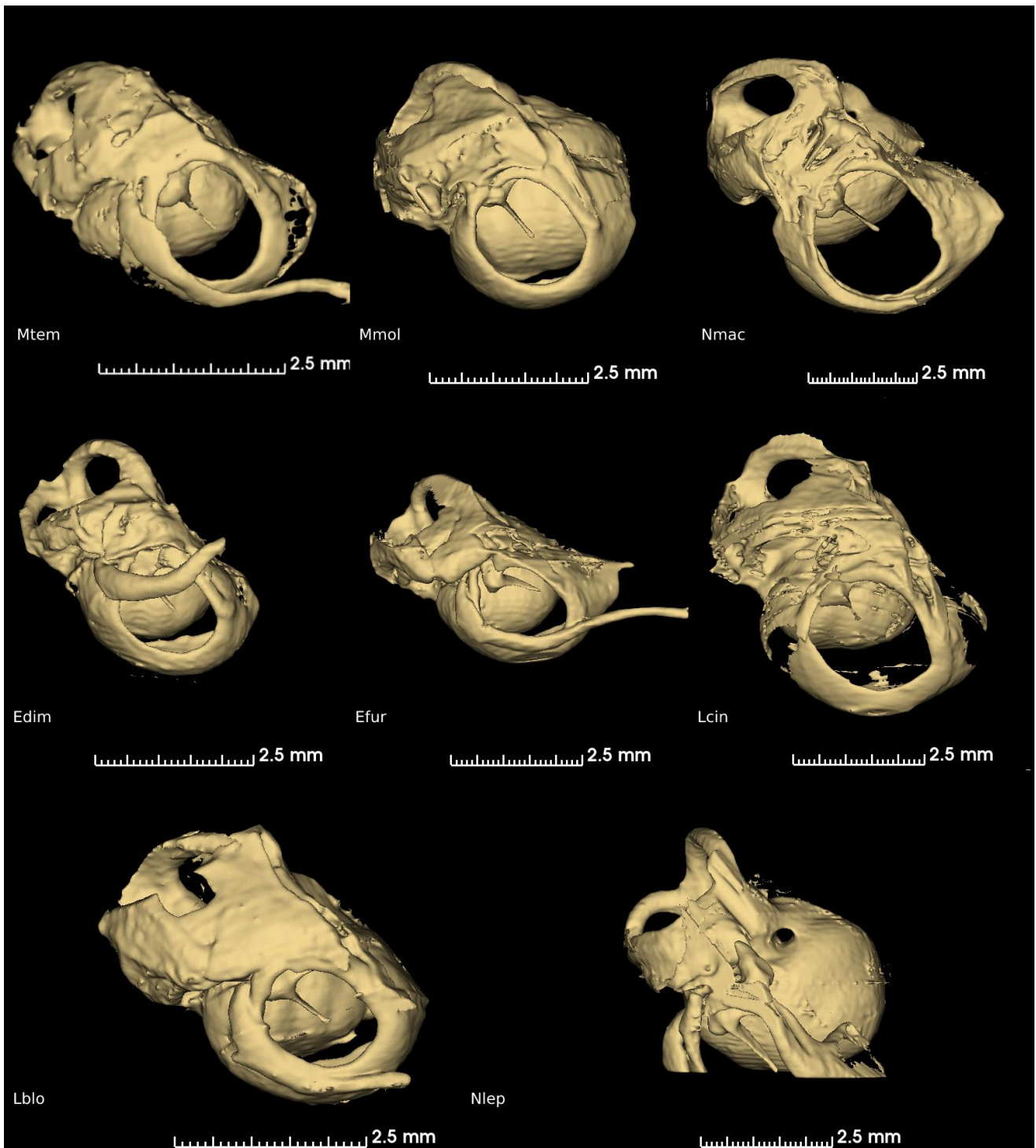


Imagem 20: Comparativo de vista lateral do ouvido de todas as espécies analisadas. Mtem= *Molossops temminckii*, Mmol= *Molossus molossus*, Nmac= *Nyctinomops macrotis*, Edim= *Eptesicus diminutus*, Efur= *Eptesicus furinalis*, Lcin= *Lasiurus cinereus*, Lblo= *Lasiurus blossevillii*, Nlep= *Noctilio leporinus*.

3.2.2 Sinal filogenético

O resultado do cálculo do sinal filogenético para a forma crânio revelou forte sinal filogenético, com resultado muito próximo ao esperado de acordo com *Brownian motion* ($k=0.9811$, $p=0.001^*$), enquanto o sinal filogenético para os dados de ouvido mostrou um sinal menos forte ($k= 0.4136$; $p=0.146$).

3.2.3 Análise Procrustes ANOVA filogenética

As ANOVAs revelaram que há relação da forma do crânio e do ouvido com o tipo e a duração chamado, mas não com frequência de máxima energia do chamado; bem como não há relação com o habitat (Tabela 4). Também foi realizada análise para comparar a forma com o tamanho do centroide, que não apresentou resultados significativos nem para o crânio ($p=0.408$) nem para o ouvido ($p=0.410$).

Tabela 4: Resultados Procrustes ANOVA

Forma	Parametro	SS	MS	Rsq	F	Z	p-value
Crânio	FME	0.002	0.002	0.123	0.844	0.400	0.365
	Tipo	0.006	0.006	0.517	6.418	2.089	0.015*
	Duração	0.008	0.008	0.658	11.54	2.422	0.003*
	Habitat	0.007	0.003	0.534	1.531	0.576	0.293
Ouvido	FME	0.004	0.004	0.208	1.577	0.897	0.204
	Tipo	0.010	0.010	0.542	7.092	1.956	0.014*
	Duração	0.011	0.011	0.600	8.992	2.205	0.005*
	Habitat	0.011	0.004	0.641	2.382	1.274	0.100

4. Discussão

As hipóteses iniciais deste trabalho eram que encontraríamos variação de forma tanto no crânio quanto no ouvido e que essa variação estaria associada com a história filogenética, no caso do crânio, e com os padrões de ecolocalização escolhidos, no caso do ouvido. Os resultados corroboraram a presença de variação e demonstraram que a variação presente na forma do crânio está correlacionada com a filogenia, o tipo de chamado de ecolocalização (frequência modulada ou frequência constante) e a duração dos pulsos do

chamado, enquanto que a variação da forma do ouvido está correlacionada apenas com o tipo de chamado e a duração os pulsos.

A análise acerca da forma do crânio está de acordo com trabalhos como o de Giacomini et al (2022) que também mostraram um alto sinal filogenético. Entretanto, nossos resultados diferem deste mesmo trabalho, que encontrou correlação entre outros parâmetros de ecolocalização exceto a duração do pulso, que em contraste foi o parâmetro que aqui apresentou correlação com a forma, não só do crânio, mas também do ouvido.

Quanto à forma do ouvido, um dos parâmetros utilizados atualmente para identificação de morcegos por meio de sonogramas, além do tipo de ecolocalização utilizado é a frequência máxima de energia, como na chave de identificação formulada por Arias-Aguilar et al., 2018. Nossos resultados divergiram do que já foi proposto, não mostrando correlação da forma com a FME, mas sim para o tipo e a duração dos pulsos. Entretanto, isso não necessariamente indica que nossos resultados são opostos aos existentes, já que nossas análises consideraram a variação de forma de diversas estruturas do ouvido médio e ouvido interno, enquanto outras pesquisas são mais focadas em análises de cóclea.

As análises desse trabalho foram realizadas com base em marcos de morfometria geométrica 3D, um campo inovador que ainda tem muito a ser desenvolvido, mas temos um número amostral muito pequeno, o que pode resultar em dados não congruentes com a literatura. Pesquisas futuras com metodologia semelhante, com aumento da amostragem são necessários para desenvolvimento de discussões mais elaboradas sobre o assunto e maior compreensão acerca da evolução de forma do ouvido dentro de Chiroptera.

5. Conclusão

Nossos resultados, ainda que com um número amostral escasso, mostram que ainda há muito o que se descobrir e analisar com relação à forma do ouvido como um todo. Pesquisas futuras com um número maior tanto de espécies quanto de espécimes são necessárias para melhor entendimento acerca dos mecanismos de evolução da forma dos morcegos e sua relação com ecolocalização.

6. Bibliografia

- Adams, D. C. (2016). Evaluating modularity in morphometric data: Challenges with the RV coefficient and a new test measure. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(5), 565–572. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12511>
- Adams, D. C., Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'revolution.' *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5–16. <https://doi.org/10.1080/11250000409356545>
- ADEs, H. W., Axelsson, A., Baird, I. L., v Békésy, G., Boord, R. L., Campbell, C. B. G., ... & Engström, H. (1974). Anatomy of the inner ear. *Auditory System: Anatomy Physiology (Ear)*, 125-158.
- Arbour, J. H., Curtis, A. A., & Santana, S. E. (2021). Sensory adaptations reshaped intrinsic factors underlying morphological diversification in bats. *BMC Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01022-3>
- Arias-Aguilar, A., Hintze, F., Aguiar, L. M. S., Ruf-ray, V., Bernard, E., & Pereira, M. J. R. (2018). Who's calling? Acoustic identification of Brazilian bats. In *Mammal Research* (Vol. 63, Issue 3, pp. 231–253). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/s13364-018-0367-z>
- Barataud, M., Giosa, S., Leblanc, F., Ruf-ray, V., Disca, T., Tillon, L., Delaval, M., Haquart, A., & Dewynter, M. (2013). Identification et écologie acoustique des chiroptères de Guyane française. *Le Rhinologue*, 19(1), 103–145.
- Barquez, R. M., Giannini, N. P., & Mares, M. A. (1993). *Guide to the Bats of Argentina*. Norman: Oklahoma Museum of Natural History.
- Brooke, A. P. (1994). Diet of the Fishing Bat, *Noctilio leporinus* (Chiroptera: Noctilionidae). In *Source: Journal of Mammalogy* (Vol. 75, Issue 1).
- Cox, P. G., Fagan, M. J., Rayfield, E. J., & Jeffery, N. (2011). Finite element modelling of squirrel, guinea pig and rat skulls: Using geometric morphometrics to assess sensitivity. *Journal of Anatomy*, 219(6), 696–709. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2011.01436.x>
- Davies, K. T. J., Bates, P. J. J., Maryanto, I., Cotton, J. A., & Rossiter, S. J. (2013). The Evolution of Bat Vestibular Systems in the Face of Potential Antagonistic Selection Pressures for Flight and Echolocation. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061998>
- Davies, K. T. J., Maryanto, I., & Rossiter, S. J. (2013). Evolutionary origins of ultrasonic hearing and laryngeal echolocation in bats inferred from morphological analyses of the inner ear. *Frontiers in Zoology*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-2>
- Denzinger, A., & Schnitzler, H. U. (2013). Bat guilds, a concept to classify the highly diverse foraging and echolocation behaviors of microchiropteran bats. *Frontiers in Physiology*, 4 JUL. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00164>
- Ekdale, E. G. (2016). Form and function of the mammalian inner ear. *Journal of Anatomy*, 228(2), 324–337. <https://doi.org/10.1111/joa.12308>
- Evin, A., Horáček, I., & Hulva, P. (2011). Phenotypic diversification and island evolution of pipistrelle bats (*Pipistrellus pipistrellus* group) in the Mediterranean region inferred from geometric morphometrics and molecular phylogenetics. *Journal of Biogeography*, 38(11), 2091–2105. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02556.x>

- Fenton, M. B., & Ratcliffe, J. M. (2017). Bats united by cochlear development. In *Nature Ecology and Evolution* (Vol. 1, Issue 2). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41559-016-0046>
- Fenton, M. B., & Simmons, N. B. (2015). *Bats*. University of Chicago Press. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226065267.001.0001>
- Freeman, P. W. (1981a). *A Multivariate Study of the Family Molossidae (Mammalia, Chiroptera) : Morphology, Ecology, Evolution* (Vol. 26). <https://digitalcommons.unl.edu/museummammalogyhttps://digitalcommons.unl.edu/museummammalogy/26>
- Freeman, P. W. (1981b). *Correspondence of Food Habits and Morphology in Insectivorous Bats* (Vol. 17). <https://digitalcommons.unl.edu/museummammalogyhttps://digitalcommons.unl.edu/museummammalogy/17>
- Garamszegi, L. Z. (2014). Uncertainties due to within-species variation in comparative studies: Measurement errors and statistical weights. In *Modern Phylogenetic Comparative Methods and their Application in Evolutionary Biology* (pp. 157–199). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43550-2_7
- Giacomini, G., Herrel, A., Chaverri, G., Brown, R. P., Russo, D., Scaravelli, D., & Meloro, C. (2022). Functional correlates of skull shape in Chiroptera: feeding and echolocation adaptations. *Integrative Zoology*, 17(3), 430–442. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12564>
- Girdlestone, C. D., Ng, J., Kössl, M., Caplot, A., Shadwick, R. E., & Morell, M. (2020). Correlating Cochlear Morphometrics from Parnell’s Mustached Bat (*Pteronotus parnellii*) with Hearing. *JARO - Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 21(5), 425–444. <https://doi.org/10.1007/s10162-020-00764-1>
- Guillén-Servent, A., & Ibáñez, C. (2007). Unusual echolocation behavior in a small molossid bat, *Molossops temminckii*, that forages near background clutter. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61(10), 1599–1613. <https://doi.org/10.1007/s00265-007-0392-4>
- Habersetzer, J., & Storch, G. (1992). Cochlea Size in Extant Chiroptera and Middle Eocene Microchiropterans from Messel. In *KURZE MITTEILUNGEN Naturwissenschaften* (Vol. 79). Springer-Verlag.
- Hood, C. S., & Pitocchelli, J. (1983). *Noctilio albiventris*. In *Mammalian Species* (Vol. 197, pp. 1–5).
- Kössl, M., & Vater, M. (1995). Cochlear Structure and Function in Bats. In *Hearing by Bats* (p. 191).
- Koyabu, D. (2017). 3D atlas and comparative osteology of the middle ear ossicles among Eulipotyphla (Mammalia, Placentalia). *MorphoMuseum*, 3(2), e3. <https://doi.org/10.18563/m3.3.2.e3>
- Lattenkamp, E. Z., Nagy, M., Drexler, M., Vernes, S. C., Wiegrebe, L., & Knörnschild, M. (2021). Hearing sensitivity and amplitude coding in bats are differentially shaped by echolocation calls and social calls. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 288(1942). <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.2600>
- Mora, E. C., Macías, S., Vater, M., Coro, F., & Kössl, M. (2004). Specializations for aerial hawking in the echolocation system of *Molossus molossus* (Molossidae, Chiroptera). *Journal of*

- Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 190(7), 561–574. <https://doi.org/10.1007/s00359-004-0519-2>
- Mora, E. C., & Torres, L. (2008). Echolocation in the large molossid bats *Eumops glaucinus* and *Nyctinomops macrotis*. *Zoological Science*, 25(1), 6–13. <https://doi.org/10.2108/zsj.25.6>
- Moss, C. F. (2018). Auditory Mechanisms of Echolocation in Bats. In *Oxford Research Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780190264086.013.102>
- Moss, C. F., Chiu, C., & Surlykke, A. (2011). Adaptive vocal behavior drives perception by echolocation in bats. In *Current Opinion in Neurobiology* (Vol. 21, Issue 4, pp. 645–652). <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.05.028>
- Nogueira, M. R., de Lima, I. P., Moratelli, R., Tavares, V. da C., Gregorin, R., & Peracchi, A. L. (2014). Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. *Check List*, 10(4), 808–821. <https://doi.org/10.15560/10.4.808>
- O'Farrell, M. J., Corben, C., & Gannon, W. I. (2000). Geographic variation in the echolocation calls of the hoary bat (*Lasiurus cinereus*). *Acta Chiropterologica*, 2(2), 185–196.
- Oliveira, T. F., Ramalho, D. F., Mora, E. C., & Aguiar, L. M. S. (2018). The acoustic gymnastics of the dwarf dog-faced bat (*Molossops temminckii*) in environments with different degrees of clutter. *Journal of Mammalogy*, 99(4), 965–973. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyy070>
- Pedersen, S. C. (1993). Cephalometric Correlates of Echolocation in the Chiroptera. In *JOURNAL OF MORPHOLOGY* (Vol. 218).
- Pedersen, S. C. (1998). Morphometric analysis of the Chiropteran skull with regard to mode of echolocation. *Journal of Mammalogy*, 79(1), 91–103.
- Peracchini, A. L., de Lima, I. P., dos Reis, N. R., Nogueira, M. R., & Filho, H. O. (2011). Ordem Chiroptera. In N. R. dos Reis, A. L. Peracchini, W. A. Pedro, & I. P. de Lima (Eds.), *Mamíferos do Brasil* (2 ed, pp. 155–215).
- Porto, A., de Oliveira, F. B., Shirai, L. T., de Conto, V., & Marroig, G. (2009). The evolution of modularity in the mammalian skull I: Morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*, 36(1), 118–135. <https://doi.org/10.1007/s11692-008-9038-3>
- Ratcliffe, J. M., Elemans, C. P. H., Jakobsen, L., & Surlykke, A. (2013). How the bat got its buzz. *Biology Letters*, 9(2). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.1031>
- Rivera-Parra, P., & Burneo, S. F. (2013). Primera biblioteca de llamadas de ecolocalización de murciélagos del Ecuador. *Therya*, 4(1), 79–88. <https://doi.org/10.12933/therya-13-104>
- Rydell, J., Arita, H. T., Santos, M., & Granados, J. (2002). Acoustic identification of insectivorous bats (order chiroptera) of yucatan, mexico. *Journal of Zoology*, 257(1), 27–36. <https://doi.org/10.1017/S0952836902000626>
- Santana, S. E., Arbour, J. H., Curtis, A. A., & Stanchak, K. E. (2019). 3D Digitization in Functional Morphology: Where is the Point of Diminishing Returns? *Integrative and Comparative Biology*, 59(3), 656–668. <https://doi.org/10.1093/icb/icz101>

- Santana, S. E., & Lofgren, S. E. (2013). Does nasal echolocation influence the modularity of the mammal skull? *Journal of Evolutionary Biology*, 26(11), 2520–2526. <https://doi.org/10.1111/jeb.12235>
- Santos, N. L. (2014). *CARACTERIZAÇÃO SONOGRÁFICA DAS EMISSÕES ULTRASSÔNICAS DE QUATRO ESPÉCIES DE MORCEGOS DA MATA ATLÂNTICA* [Monografia - Bacharel]. Universidade Federal do Paraná.
- Schnitzler, H.-U., Kalko, E. K. V., Kaipf, I., & Grinnell, A. D. (1994). *Noctilio leporinus*, in the field. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 35, 327–345.
- Schnitzler, H.-U., & Kalko, E. K. v. (2001). Echolocation by Insect-Eating Bats. *Source: BioScience*, 51(7), 557–569. <https://doi.org/10.1641/0006>
- Shi, J. J., & Rabosky, D. L. (2015). Speciation dynamics during the global radiation of extant bats. *Evolution*, 69(6), 1528–1545. <https://doi.org/10.1111/evo.12681>
- Shi, J. J., Westeen, E. P., & Rabosky, D. L. (2018). Digitizing extant bat diversity: An open-access repository of 3D μ CT-scanned skulls for research and education. *PLoS ONE*, 13(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203022>
- Simmons, N. B. (2005). Order Chiroptera. In D. E. Wilson & D. M. Reeder (Eds.), *Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference* (3rd ed., pp. 312–529). Smithsonian Institution Press.
- Soto, E., Vega, R., Chávez, H., & Ortega, A. (2003). *Fisiología de la audición: la cóclea*. Universidad Autónoma de Puebla.
- Teeling, E. C. (2009). Bats (Chiroptera). In *The timetree of life* (pp. 499–503).
- Thomas, G. A., Moss, C. F., & Vater, M. (2004). *Echolocation in Bats and Dolphins* (Vol. 30). University of Chicago Press. <https://doi.org/10.1578/AM.30.2.2004.339>
- Torres, M., & Giráldez, F. (1998). The development of the vertebrate inner ear. In *Mechanisms of Development* (Vol. 71).
- Tsagkogeorga, G., Parker, J., Stupka, E., Cotton, J. A., & Rossiter, S. J. (2013). Phylogenomic analyses elucidate the evolutionary relationships of bats. *Current Biology*, 23(22), 2262–2267. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.014>
- Wang, H., Zhao, H., Huang, X., Sun, K., & Feng, J. (2018). Comparative cochlear transcriptomics of echolocating bats provides new insights into different nervous activities of CF bat species. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34333-7>
- Wilson, D. E. (1973). BAT FAUNAS: A TROPHIC COMPARISON. In *Systematic Zoology* (Vol. 22, Issue 1, pp. 14–29).
- Yovel, Y., Geva-Sagiv, M., & Ulanovsky, N. (2011). Click-based echolocation in bats: Not so primitive after all. In *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* (Vol. 197, Issue 5, pp. 515–530). <https://doi.org/10.1007/s00359-011-0639-4>
- Zamora-Gutierrez, V., Lopez-Gonzalez, C., MacSwiney Gonzalez, M. C., Fenton, B., Jones, G., Kalko, E. K. V., Puechmaille, S. J., Stathopoulos, V., & Jones, K. E. (2016). Acoustic identification of

Mexican bats based on taxonomic and ecological constraints on call design. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(9), 1082–1091. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12556>

Zortea, M. (2001). Foraging behavior of the Fishing Bat *Noctilio leporinus* (Noctilionidae). In *Chiroptera Neotropical* (Vol. 7, Issue 2). <https://www.researchgate.net/publication/281409618>