

CARIOLOGÍA COMPARADA DE “*Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*”,
(Chiroptera: Phyllostomidae: Carollinae) EN LA PROVINCIA BIOGEOGRÁFICA
NOR ANDINA DE NARIÑO.

ELKIN ALEXI NOGUERA URBANO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SAN JUAN DE PASTO
2008

CARIOLOGÍA COMPARADA DE “*Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*”,
(Chiroptera: Phyllostomidae: Carollinae) EN LA PROVINCIA BIOGEOGRÁFICA
NOR ANDINA DE NARIÑO.

ELKIN ALEXI NOGUERA URBANO

Trabajo de grado presentado como
requisito para optar al título de Biólogo.

Directores:

M.Sc. RODRIGO PRIETO SANCHEZ
M.Sc. JHON JAIRO CALDERÓN LEYTON

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SAN JUAN DE PASTO
2008

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado, son responsabilidades exclusivas del autor”.

Artículo 1º del acuerdo No. 32 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

Director

Director

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, Septiembre de 2008

AGRADECIMIENTOS

Al Sistema de Investigaciones de la Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI) de la Universidad de Nariño por el financiamiento de dos proyectos en el concurso Alberto Quijano y ahora en la ejecución de mi tesis.

A mis amigos de la asociación Grupo de Amigos para la Investigación y Conservación de las Aves (GAICA) por la asesoría, amistad, compañía y logística suministrada.

A las colecciones teriológicas de la Universidad del Valle y Universidad de Antioquia, al grupo de mastozoología de la Universidad de Antioquia.

Al programa de Biología, pero en especial a las profesoras Jaqueline Mena, Luz Estela Lagos por su orientación y sugerencias.

A los docentes del programa de Biología quienes con su experiencia y conocimiento ayudaron a forjar mi camino como profesional.

A Mauricio Rodríguez y Guido Villota quienes siempre me ofrecieron amistad y las mejores garantías para el desarrollo de esta investigación.

Especialmente a mis asesores Jhon Jairo Calderón y Rodrigo Prieto por el apoyo constante como investigadores y amigos.

Especialmente a mi Padres María Jesús y Alfredo, a mis hermanos Cristina, Francis, Danny y Franklin por todo el apoyo, confianza, amistad, amor durante el desarrollo de mi carrera y mi vida entera.

A mi buen amigo Sergio Solari por su apoyo en esta investigación, a Liliana Dávalos del AMNH, a Dany Zurc UDEA, a Heather York y a todos aquellos que sin querer no he nombrado por todo el apoyo y buenos comentarios recibidos.

Y finalmente a Silvia Montenegro quien me ha acompañado en el día y en la noche desde que empecé a volar con los murciélagos, a Yuri Rosero, Julieth Castillo, María Mideros, Lucho Lasso, Daniel Bravo, Armando Paz, Lizeth Rosero, Robert Rodriguez, Alejandro Mendoza, Rubén Jurado, Víctor Solarte y Anita Estrada por todo aquello vivido y que falta por vivir.

DEDICATORIA

A la vida misma por permitirme descubrir su belleza con cada paso y regalarme una familia maravillosa.

A mis padres y hermanos, a quienes les debo todo lo que soy, son partícipes de mis triunfos y concedores de todos nuestros recuerdos. Siempre serán la guía en mi camino y la verdadera bendición en mi vida.

A mi novia, por su apoyo, cariño, respeto y colaboración durante aquellas jornadas de conocer la Biología.....y sobretodo aquel tiempo compartido conmigo.

CONTENIDO

	<i>Pag.</i>
INTRODUCCIÓN	21
1. OBJETIVOS	24
1.1 OBJETIVO GENERAL	24
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
2. HIPÓTESIS	25
3. ANTECEDENTES	26
4. MARCO REFERENCIAL	29
4.1 Murciélagos del genero <i>Carollia</i>	29
4.1.1 Características <i>Carollia brevicauda</i>	29
4.1.2 Características de <i>Carollia perspicillata</i>	30
4.2 CITOGENETICA	30
4.2.1 Conceptos cariológicos	30
4.2.2 Bandeos G y C	33
4.2.3 Evolución cromosómica	34
5. METODOLOGÍA	36
5.1 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ÁREA DE ESTUDIO	36
5.2 ESTUDIO DE CARACTERES MORFOLÓGICOS	36
5.3 ANALISIS MORFOMÉTRICO DE LAS POBLACIONES Y ESPECIES DE <i>Carollia</i>	40

5.4 ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE OBTENCIÓN DE CROMOSÓMAS	44
5.5 IDENTIFICACIÓN DE LOS CROMOSOMAS	47
5.6 ESTANDARIZACIÓN DE BANDEOS G Y C	48
5.6.1 Bandas G (GTG)	48
5.6.2 Bandas C (CBG).	49
5.7 ANÁLISIS DE BANDAS G Y C.	49
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
6.1 CAPITULO I. ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS Y MORFOMÉTRICOS DE <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia</i> especie	51
6.1.1 Estudio de caracteres morfológicos	52
6.1.2 Análisis morfométrico	53
6.1.3 Análisis discriminante	56
6. 1.4 <i>Carollia</i> especie	58
6.1.5 Diagnósis de <i>Carollia</i> especie	58
6.1.6 Descripción de <i>Carollia</i> especie	60
6.1.7 Comparaciones de <i>Carollia</i> especie con las otras especies de <i>Carollia</i>	64
6.1.8 Implicaciones taxonómica	66
6.2 CAPITULO II. ATRIBUTOS CITOGENÉTICOS DE <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia</i> especie	68
6.2.1 Estandarización del protocolo de obtención de cromosomas	69
6.2.2 Estandarización del protocolo de obtención de bandas en cromosomas de <i>Carollia</i>	72
6.2.3 Características cariológicas de <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia</i>	74

<i>perspicillata</i> y <i>Carollia</i> especie	
6.2.4 Formula cariotípica	82
6.2.5 Regiones heterocromáticas	87
6.2.6 Regiones eucromáticas	90
CONCLUSIONES	95
PERSPECTIVAS	96
BIBLIOGRAFÍA	97
ANEXOS	106

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Clasificación de los cromosomas, según Levan y colaboradores	33
Tabla 2. Sitios de colecta de individuos de <i>Carollia brevicauda</i> y <i>Carollia perspicillata</i> con sus correspondientes datos geográficos	39
Tabla 3. Variables tenidas en cuenta para la estandarización de la técnica para la obtención de metafases	45
Tabla 4. Tiempo y nivel de calidad de coloración tenido en cuenta optimizar Obtención de bandas G	50
Tabla 5. Tiempo y nivel de calidad de coloración tenido en cuenta optimizar Obtención de bandas C	50
Tabla 6. Resultados del análisis de componentes principales de 18 caracteres de <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia</i> especie	54
Tabla 7. Comparaciones morfológicas entre cinco taxa de <i>Carollia</i> presentes en Colombia	65
Tabla 8. Valores de Índice de Estimulación, obtenidas luego de las inyecciones con el agente mitógeno	69
Tabla 9. Grado de separación de los cromosomas en las metafases observadas para cada número de lavados, después de la incubación con solución hipotónica	70
Tabla 10. Aspecto morfológico de los cromosomas observados en las metafases, durante la prueba en el número de fijaciones	71
Tabla 11. Índice metafísico obtenido a partir de la variación en la cantidad Carnoy para la resuspensión pre-goteo	72
Tabla 12. Datos de los ejemplares empleados para el análisis citogenético de las especie <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia</i> especie	76
Tabla 13. Número cromosómico determinado en los ejemplare	81
Tabla 14. Distribución de cromosomas y formula cariotípica para <i>Carollia</i>	81

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Cromosomas con Bandas G de <i>Carollia brevicauda</i> y <i>Carollia perspicillata</i>	27
Figura 2. Esquema de los cráneos de <i>Carollia brevicauda</i> y <i>Carollia perspicillata</i>	31
Figura 3. Fotografías de los tipos de Bosque en los cuales se registraron individuos de los complejos <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia brevicauda</i>	37
Figura 4. Fotografía satelital del Norte de Nariño indicando en círculos rojos las zonas de muestreo de poblaciones de <i>Carollia</i>	38
Figura 5. Medidas craneales, mandibulares y dentales usadas en el análisis morfométrico	43
Figura 6. Morfología de los linfocitos de las especies del genero <i>Carollia</i> estudiadas	45
Figura 7. Grado de separación de cromosomas de las especies del genero <i>Carollia</i> estudiadas	46
Figura 8. Cromosomas encerrados en la membrana celular	47
Figura 9. Posición espacial de los individuos de <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia</i> especie del análisis de componentes principales en poblaciones de Nariño	55
Figura 10. Análisis discriminante de las 18 variables para individuos de <i>Carollia</i> en Nariño	57
Figura 11. Vistas superior y ventral del cráneo del holotipo de <i>Carollia</i> especie (EK053)	59
Figura 12. Morfología craneal. A: cráneo. B: apófisis lacrimales. C: Maxilar. a. <i>Carollia</i> especie. b. <i>Carollia perspicillata</i> . c. <i>Carollia brevicauda</i>	61
Figura 13. Morfología dental. A: Caninos. B: Parte posterior del paladar. C: Protocóno M2. a. <i>Carollia</i> especie. b. <i>Carollia perspicillata</i> . c. <i>Carollia brevicauda</i>	62
Figura 14. Morfología dental. D: Cúspides molares. E: PM1 y C1. F: Cúspide posterior del M3. a. <i>Carollia</i> especie. b. <i>Carollia perspicillata</i> . c. <i>Carollia brevicauda</i>	63
Figura 15. Cariotipo de un individuo macho de <i>Carollia</i> especie	77
Figura 16. Cariotipo de individuo hembra de <i>Carollia</i> especie	78
Figura 17. Cariotipo de individuo macho de <i>Carollia perspicillata</i>	85
Figura 18. Cromosomas metafásicos de hembra <i>Carollia brevicauda</i>	89
Figura 19. Cromosomas metafásicos de hembra <i>Carollia perspicillata</i> : (a) Bando C; b Bando G.	91

LISTA DE ANEXOS

	Pag.
Anexo A. Fotografías de las tres especies de <i>Carollia</i> muestreadas en Nariño y tenidas en cuentas para este estudio	106
Anexo B. Especímenes examinados en el presente estudio, aquéllos usados en el análisis morfométrico están marcados por un asterisco	107
Anexo C. Medidas de ejemplares de <i>Carollia</i> de Nariño, para las especies <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Carollia perspicillata</i> y <i>Carollia</i> sp con el total de muestras usadas en el análisis morfométrico	108
Anexo D. Protocolo resultado del complemento Baker <i>et al.</i> (2003) y Keung OH (1975)	109
Anexo E. Protocolo base utilizado para la obtención de bandas G propuesto por Howell y Black (1978)	110
Anexo F. Protocolo base utilizado para la obtención de bandas C propuesto por Summer (1972)	111
Anexo G. Protocolo obtenido de la estandarización para la obtención de células metafásicas con cromosomas óptimos	112
Anexo H. Datos de relación de longitud de los brazos, índice centromérico e índice braquial de las especies <i>Carollia perspicillata</i> , <i>Carollia brevicauda</i> y <i>Carollia</i> especie	113

GLOSARIO

CITOGENÉTICA: ciencia que estudia las características y comportamiento de los cromosomas vistos durante la división celular.

CROMOSOMA: máximo nivel de empaquetamiento de DNA, en el que participan histonas y otras proteínas, ARN y polisacáridos. Los cromosomas se encuentran en el núcleo de la célula.

EUCROMATINA: tipo de DNA genéticamente activa desarrollada en interfase y durante la mitosis adquiere un estado condensado en forma de hélice.

HETEROCROMATINA: tipo de DNA compuesto por presentar secuencias latamente repetitivas, un máximo grado de empaquetamiento, es transcripcionalmente inactiva y se replica tardíamente en la fase S del ciclo celular.

CARIOTIPO: conjunto de cromosomas de un individuo observables durante la meiosis, igualmente es la representación gráfica del conjunto cromosómico ordenado en pares homólogos y presentando características como la posición del centrómero.

PREFIJADO: exposición del material celular aun con solución hipotónica al Carnoy.

FIJADO: exposición del material celular sin solución hipotónica al Carnoy.

CÉLULA VIABLE ESTIMULADA: en este caso se utiliza la palabra viable como adjetivo para describir viabilidad de la célula a la hora de realizar la observación de los cromosomas, y no para describir la capacidad de la célula para dividirse.

BANDEO CROMOSÓMICO: tratamiento y tinción de los cromosomas que permiten obtener una secuencia característica de bandas e interbandas transversales en los cromosomas.

RESUMEN

Los estudios cariológicos realizados en murciélagos han concluido que a nivel cromosómico, este grupo es altamente conservado, sin embargo los datos obtenidos en el género *Carollia* demuestran que algunas especies presentan variaciones en el número cromosómico y en rearrreglos estructurales de algunos cromosomas particularmente de los cromosomas sexuales. El estudio cromosómico, morfológico y morfométrico de las especies *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* es importante, tanto para contribuir a definir su estado taxonómico de especies, como para indagar en los procesos evolutivos de los cuales hacen parte las dos especies. Los resultados obtenidos en este estudio señalan que la diversidad del género *Carollia* en el Suroccidente Colombiano está compuesta por cuatro entidades taxonómicas, de las cuales tres han sido reportados en estudios previos *Carollia castanea*, *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*, y una que se da a conocer por primera vez en este estudio denominada *Carollia* especie. A partir de los análisis realizados se determinó que las poblaciones muestreadas de *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia* especie pueden ser caracterizadas por atributos morfológicos estrictos y morfométricos como el tamaño del cráneo y el tamaño de las piezas dentales.

Las tres entidades se estudiaron citogenéticamente obteniendo muestras de machos y de hembras, en los ejemplares de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* se encontró que con un $2n=20-21$ existe normalidad en el número cromosómico de las dos especies. Para la especie *Carollia* especie se describe por primera vez el número cromosómico y la morfología básica del cariotipo, esta población tiene atributos como la presencia de dos constricciones secundarias en los cromosomas sexuales de las hembras, en el caso de los machos se caracterizan por la ausencia de un cromosoma sexual y la ausencia de una constricción secundaria propia de los individuos machos de las especies del género. Muchos de los caracteres cromosómicos, como el tipo de cromosomas sexuales y las fórmulas cariotípicas, así como los patrones de Bandas G y C son compartidos por los tres grupos estudiados, esto demuestra la estrecha relación filogenética que existe entre ellas, pero otros caracteres como la disminución en el número de cromosomas o de estructuras como las constricciones secundarias son la base para argumentar la acción de mecanismos evolutivos presentes en las tres especies, mecanismos que han dado origen a una población desconocida y aislada genéticamente.

ABSTRACT

Cytogenetic studies made about the bats have concluding that to chromosomal level, that group is very conserved, nevertheless the dates obtains for the *Carollia* genus show that in some species exist variations in the chromosomal number and structural rearrangements of some chromosomes in particular the sexual chromosomes. The chromosomal, morphological and morphometric study for the *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* is very important, because this contribute to the definition of his taxonomic state, and to for search the evolutive process that is influencing to the two species. The results obtained in this investigation show that the diversity of the *Carollia* genus on the Suroccidente Colombiano is compound for four entities, of that three have been reported in other studies *Carollia castanea*, *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*, and one that for first time is record for the scientific world named *Carollia* specie. Of the analysis made was possible determination that the *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia* specie, populations that can be separated for strict morphologics and morphmetrics attributes like the great length of skull and the differentiation in the dental pieces.

Three taxonomic entities was cytogenetical studied obtaining samples of males and females from three locations in Nariño, in the specimens of *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* found that with a $2n=20-21$ there was normality in the chromosomal number of the two species. For *Carollia* sp for first time is describe the chromosomal number and the basic morphology of the karyotype, that specie has characteristics like the presence of two seconds constrictions on the sexuals chromosomes form the females, by the case of the males the absence of one normal sexual chromosome and the absence of one second constriction is a characteristic of this males. Much of the chromosomal characters, like the type of chromosomals sexuals and the caryotypics formules, as soon as the bands G and C patterns are shared for the three species analyzed, this probe the narrow phylogenethic relationship of the three populations. Others characters like the lessen of the chromosomal number or the absence of seconds constrictions are the background for argument the action of evolutive mechanisms presents in the three populations, mechanisms that have given origin to one unknown population genetically insolate.

INTRODUCCIÓN.

Los estudios tradicionales de taxonomía, sistemática y evolución han utilizado los caracteres morfológicos y morfométricos de las especies para su identificación, categorización y clasificación en los taxa, dentro de los cuales se comparten características comunes para el grupo.

Sin embargo se ha determinado que dichas características (en algunos casos diagnósticas) están influidas entre otros por las condiciones del ambiente y fenómenos de plasticidad fenotípica; estas condiciones, sumado a que variados grupos animales presentan atributos morfológicos similares, o con vagas diferencias e inclusive la existencia de caracteres diagnósticos confusos, ha hecho que el avance en el desarrollo de herramientas que complementen la clasificación y explicación de fenómenos evolutivos de las especies sea continuo, una de ellas ha sido el empleo de las técnicas citogenéticas.

Se ha registrado que los murciélagos presentan una alta variabilidad morfológica y cromosómica entre géneros e incluso entre familias (Baker *et al*, 1979) siendo *Carollia* uno de los géneros de mayor interés por su alta variabilidad fenotípica y genotípica, sin embargo es escaso el conocimiento de las características cromosómicas de algunas de las diez especies reportadas actualmente (Baker & Bradley, 2006).

En muchos casos poblaciones de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* han sido categorizadas a través de caracteres morfológicos y morfométricos que necesitan ser complementados con caracteres genéticos en el proceso de determinación taxonómica. Algunos autores (Solari & Baker, 2006; Baker *et al*, 2002) consideran que dentro de las especies *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*, y en otras especies de *Carollia*, algunas poblaciones ya categorizadas corresponden a especies distintas (Pacheco *et al*, 2004) encriptadas en algunos “*sensu lato*”, de ahí que exista la necesidad de proveer diferentes tipos de datos que contribuyan a esclarecer la diversidad del género.

De las especies *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* se conocen registros cariológicos $2n=20-21-22$, un $2n=20$ para las hembras y un $2n=21$ en los machos, siendo la excepción la ahora conocida *Carollia benkeithi* para la cual tanto hembras como machos muestran un $2n=22$ (Solari & Baker, 2006). Las diferencias en los conjuntos cromosómicos de las especies del género *Carollia* es un indicador de la diversidad cromosómica que presentan, sin embargo, de las poblaciones colombianas pertenecientes a estas especies, así como de otras especies del género encriptadas en ellas, no se han establecido sus registros cariológicos (Stock, 1975; Solari & Baker, 2006), siendo los datos que proporciona

este estudio los primeros registros que aportan en la evaluación de la diversidad cromosómica de las dos especies para el suroccidente colombiano.

El establecer las características cariológicas y morfológicas, y la definición del estatus taxonómico de las especies *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*, permitió la determinación de la jerarquía sistemática de las dos especies nombradas y una aun sin categorizar, denominada en este trabajo como *Carollia* especie, la existencia de la posible nueva especie demuestra el importante rol de los ecosistemas de Nariño dentro del proceso evolutivo que esté afectando a estas poblaciones. Además se contribuyó a disminuir errores en la estimación de riqueza del genero *Carollia*, taxa que para Nariño queda representado por cuatro especies, tres especies reconocidas *Carollia castanea*, *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y una indeterminada aun por validar (*Carollia* especie).

A partir de los resultados se reporta la normalidad en el número cromosómico de dos especies de *Carollia* de Nariño estudiadas, siendo $2n=20 - 21$ para individuos de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*, todos los ejemplares conservan el número fundamental (NF: 36). Para *Carollia* especie el conjunto cromosómico estaría representado por igual, para hembras y machos por un $2n=20$ (NF: 36), la ausencia de la constricción secundaria en uno de los cromosomas sexuales identificaría a los machos de la especie y la presencia de dos constricciones secundarias, una en cada cromosoma sexual, caracterizaría a las hembras de *Carollia* especie.

Sumado a los caracteres cromosómicos, características como el tamaño del cráneo, el tamaño de las piezas dentales, la ubicación y forma del premolar uno (PM1), la forma y posición de la cúspide posterior del molar tres (M3), así como otras características cráneo-dentales permitieron diferenciar a poblaciones de las especies de *Carollia* encontradas en Nariño, en particular a *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie.

Finalmente, el objetivo fundamental de este trabajo fue realizar la comparación cariológica y morfológica de las especies complejo "*Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*" y aclarar su situación taxonómica en Nariño; en desarrollo de este objetivo fue necesario la revisión de material de colección para proveer descripciones que faciliten su identificación y diferenciación; estandarizar la técnica de obtención de cromosomas óptimos a partir de cultivo in vivo de medula ósea y estandarizar las técnicas de obtención de patrones de bandeamiento cromosómico G y C.

Por lo tanto, con esta investigación se generaron datos citogenéticos útiles en la caracterización de tres especies de *Carollia*, además se obtuvo conclusiones que aportan en el entendimiento de la relación cromosómica entre las especies del genero *Carollia* en Nariño, y se analizaron datos morfológicos y morfométricos que permiten discriminar a las especies *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y

Carollia especie, todos los datos en conjunto pueden ser útiles en futuros análisis de fenómenos evolutivos que hayan provocado la variabilidad genética del grupo (Zima, 2000; Hoffman & Baker, 2003).

1. OBJETIVOS

1.1 GENERAL

Realizar la comparación cariológica y morfológica de las especies complejo "*Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* (Chiroptera: Phyllostomidae: Carollinae)", que habitan en la provincia biogeográfica Nor-Andina Nariñense, con el fin de generar conocimiento con relación al estatus sistemático de las dos especies complejo.

1.2 ESPECÍFICOS

- Aclarar la situación taxonómica de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* en Nariño proveyendo caracteres morfológicos y morfométricos que faciliten su identificación y diferenciación entre sí.
- Describir la morfología y número cromosómico de las poblaciones correspondientes a las especies complejo de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*.
- Determinar la variabilidad cromosómica intra e inter específica de las poblaciones correspondientes a las especies complejo *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* a través de patrones de bandas C y G.
- Analizar las características cromosómicas presentes en el cariotipo de las poblaciones correspondientes a las especies complejo de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*.

2. HIPÓTESIS

H1: En las poblaciones de las especies complejo *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* se presentan diferencias y similitudes cariológicas en el número, morfología, y patrones de bandeo, que evidencian polimorfismos, divergencias u homogeneidad en los cromosomas originados por procesos de evolución del cariotipo.

H2: Caracteres cromosómicos como el número, morfología, y bandas C y G de las poblaciones de las especies complejo *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* no evidencian polimorfismos y divergencias entre ellas y sus poblaciones.

3. ANTECEDENTES

Dentro de las propiedades básicas de cada organismo las características morfológicas y numéricas del conjunto cromosómico (cariotipo) presentes en las células constituyen herramientas importantes en la citotaxonomía y estudios de evolución. La citogenética en murciélagos toma fuerza solo hasta mediados del siglo XIX (Bovey, 1949; Matthey & Bovey, 1948). Pero a partir de la década de los cincuenta con el uso de tinciones cromosómicas, se fortaleció la utilidad para la determinación de especies (Baker & Bradley, 2006; Santos *et al*, 2001; McFeely, 2000); o de acuerdo a la interpretación de los datos, para análisis en el área de la sistemática y el esclarecimiento de fenómenos evolutivos (Lejeune *et al*, 1959, citado en Dresd, 2002).

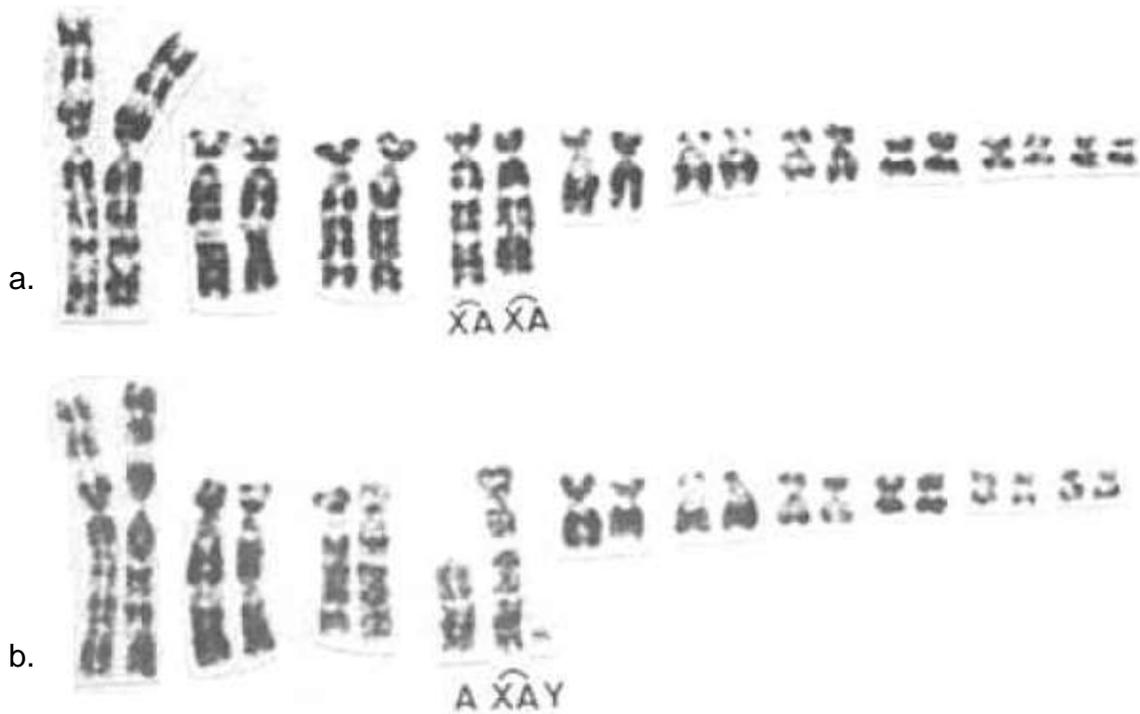
De la utilización de estas técnicas se origina el perfeccionamiento y desarrollo de otras como son la obtención de cromosomas a partir de medula ósea, método muy utilizado por proveer material trabajado en campo, y con resultados de calidad (Baker & Qumsiyeh, 1988; Brown, 1972; Dresd, 2002). Como personalidad en la investigación citogenética en mamíferos el profesor R. Matthey sentó los fundamentos de la cariología descriptiva y comparada, la información de este periodo se ha recogido en textos necesarios para la fundamentación cariológica (Matthey, 1973). Desde entonces estudios cromosómicos en murciélagos han sido muchos y con distintas finalidades de análisis.

En un estudio comparativo entre géneros pertenecientes a la familia *Carollinae*, encontraron que *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* presentan un número cromosómico $2n=20$ y 21 como se muestra en la figura 1, y sin alguna variación entre ellos (Stock, 1975; Cloutier & Thomas, 1992; Patton & Garder, 1971). A partir de una revisión de reportes científicos se demuestra que poblaciones de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* pueden poseer un $2n = 22$, evidenciado que es posible la existencia de variaciones en los cariotipos de estas especies (Baker *et al*, 1982).

Con datos moleculares, y morfométricos convencionales, se describe a la nueva especie *Carollia sowelli* reportando que el holotipo es indistinguible de los datos reportados para *Carollia brevicauda*, que se encontraba en el complejo *C. brevicauda*, con un $2n=21(NF=36)$, el X es Subtelocéntrico y 2Y son acrocéntricos, sin embargo no se hace referencia a datos de algún tipo de bandas por lo cual no hay punto de comparación entre esta especie y otras; demostrando que dentro de las morfométricamente denominadas *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*, pueden estar presentes otras especies aun si catalogar, por ser crípticas (Baker *et al*, 2002).

La especie *Carollia perspicillata* tras una revisión bibliográfica realizada en 1992, fue definida cromosómicamente como poseedora de un FN= 36 y 2n=20-21, con un cromosoma Y producto de un autosómico traslocado al elemento X (Cloutier & Thomas, 1992).

Figura 1. Cromosomas con Bandas G de *Carollia*. (a) *C. brevicauda*. (b) *C. perspicillata*. Tomado de Stock 1975.



A partir de un análisis filogenético y biogeográfico concluyen que las especies de *Carollia* poseen una gran distribución en el ámbito de Sudamérica y Centroamérica, y que posiblemente su lugar de irradiación inicial es Centroamérica, sin embargo se hace referencia a, que a pesar de poseer múltiples datos, el estudio de los cromosomas de este género podrá apoyar explicaciones con respecto de la especiación y diferenciación morfológica dentro de grupos monofiléticos similares en el género *Carollia* (Hoffman & Baker, 2003).

Para *Carollia brevicauda* se concluye que presenta la relación cromosómica X-Y¹Y²; la cual se produjo hace aproximadamente siete (7) millones de años mostrando hoy un 2n=20-21, sin embargo concluyen que hay grupos polimórficos en otras especies del género (Parish *et al*, 2002).

En un estudio realizado a partir de datos moleculares en los cuales se hace referencia a datos cromosómicos de las especies *Carollia perspicillata* y *Carollia*

brevicauda, se argumenta que las dos especies poseen un número cromosómico semejante lo cual las hace considerar como especies hermanas, pero a pesar de ser simpátricas poseen características morfológicas distintas que han generado aislamiento reproductivo no evidente y poco definido en los cromosomas (Baker & Bradley, 2006).

Para el 2006, se describe una nueva especie de *Carollia* encriptada en otra especie del mismo género, apoyando sus conclusiones en datos cromosómicos, catalogan a la nueva especie *Carollia benkeithi* con un $2n=22$, y hacen referencia que algunas poblaciones de *Carollia* de Colombia presentan $2n=20-21$ (FN=38) como ejemplo claro de una traslocación autosómica X de las cuales difiere la nueva especie descrita (Solari & Baker).

Por las características cromosómicas asumidas a partir de especímenes de México y el Perú, se sabe que tanto machos como hembras poseen 19 pares de cromosomas autosómicos, pero para las hembras el par de cromosomas sexuales se ha determinado como XX; para el caso de los machos se describen como individuos portadores de tres cromosomas sexuales (XY1Y2), siendo este un carácter diagnóstico en la determinación sexual de individuos pertenecientes a estas especies (Stock, 1975).

De los especímenes colombianos se desconoce el estado cromosómico, y más aun si presentan el conjunto cromosómico reportado en otros estudios. En cuanto a la distribución de las dos especies en Colombia, se sabe según reportes sin publicar, y pieles y/o cráneos alojados en el Instituto de Ciencias Naturales (ICN) que habitan en el Meta, Huila, Boyacá, Casanare, Meta, Tolima, Valle, en la Macarena, Nariño y en otras regiones del país (Alberico *et al*, 2000).

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 MURCIÉLAGOS DEL GENERO *Carollia*

El genero *Carollia* fue reconocido en un inicio por Linnaeus (1758) con el nombre de *Vespertilio*, y tras pasar por distintas nominaciones fue discriminado por Saussure en 1860 como *Carollia* (Pine, 1972). Se encuentran dentro del orden Chiroptera (Blumenbach, 1779), suborden Microchiroptera (Dobson, 1875), *Carollia perspicillata* (Linnaeus, 1758) y *Carollia brevicauda* (Schinz, 1821), se clasifican taxonómicamente en la Familia Phyllostomidae (Gray, 1825), Subfamilia Carolliinae (Miller, 1924), género *Carollia* (Gray, 1838), las cuales tienen su hábitat en los bosques tropicales del nuevo mundo, desde México hasta el Norte de Argentina (Hoffman & Baker, 2003), coexistiendo en algunas zonas.

Los murciélagos pertenecientes al género *Carollia* están comúnmente distribuidos en Centro y Sur América (Simmons, 2005; Hoffman & Baker, 2003; Muñoz, 1995; Pine, 1972), encontrándose en tierras bajas y altas en bosques lluviosos y secos, hábitats abiertos tales como pastizales, riveras, y plantaciones (Cuartas *et al*, 2001; Cloutier & Thomas, 1992; McLellan, 1984). Para Colombia se tiene reconocidas cinco especies de las 10 especies existentes en el neotrópico (Muñoz *et al*, 2004), siendo *Carollia colombiana* y *Carollia monohernandezii* endémicas para el país (Rodríguez *et al*, 2006), mientras que *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia castanea*, tienen un rango más amplio de distribución en el país y el continente americano.

Las poblaciones de *Carollia colombiana* son poco conocidas y los reportes son muy escasos, por lo cual se las ha restringido a la parte norte de los Andes Colombianos en Antioquia (Simmons, 2005; Muñoz *et al*, 2004; Pacheco *et al*, 2004) y el Choco; por otra parte las poblaciones de *Carollia monohernandezii* presentan una distribución mas amplia encontrándolas en departamentos como el Caquetá (Marín & Aguilar, 2005), Choco, Bolívar y Antioquia entre los 30 y 2660 msnm (Muñoz *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001). Para especies de *Carollia* como *C. brevicauda*, *C. perspicillata* y *C. castanea* que son más comunes, se han reportado casos en que la simpatria de sus poblaciones existe (Numa *et al*, 2005; Castaño *et al*, 2004; Estrada & Coates, 2001; Soriano, 2000; Muñoz *et al*, 1999), lo cual permite encontrarlas compartiendo nicho en la mayoría de ecosistemas colombianos.

4.1.1 Características *Carollia brevicauda*. Esta especie se diferencia de las otras por presentar un pelaje largo, suave y fino, color grisáceo o blanquecino, antebrazo usualmente cubierto de pelo, pelaje sobre la nuca y cuello con una banda basal oscura contrastando fuertemente con una grande y marcada banda blanquecina (Pine, 1972) (Ver Anexo A). Contorno labial de los dientes superiores

uniformemente curvado sin distinguir muescas o pasos, segundo premolar inferior en menor altura casi dos veces del primer molar, superficie del primer molar inferior con discreta cúspide o cúspides (Figura 2). Además, la especie de *Carollia brevicauda* tiene una longitud del antebrazo entre 36 y 41 mm; pelaje largo, y denso; pies muy peludos; longitud de la tibia entre 13.5 y 15.2 mm; serie dental superior 6.5 y 7.3 mm; serie dental inferior 7 y 8 mm.

4.1.2 Características de *Carollia perspicillata*. Cuando la mandíbula es vista directamente desde la parte anterior se observa los incisivos exteriores ocultos por la singular de los caninos y/o la línea superior dental fuera sin muescas (Figura 2), la mandíbula generalmente tiene forma de “V” el ramo no arqueado hacia fuera (Pine, 1972). Esta especie tiene una longitud del antebrazo entre 40 y 45 mm; es de pelaje corto y poco denso; marcadamente tricolor; color generalmente pardo grisáceo, gris o rojizo; la longitud de la oreja entre 11 y 18 mm; longitud de la tibia entre 14.3 y 20.1 mm; serie dental inferior desde 7.7 a 9.1 mm (Ver Anexo B).

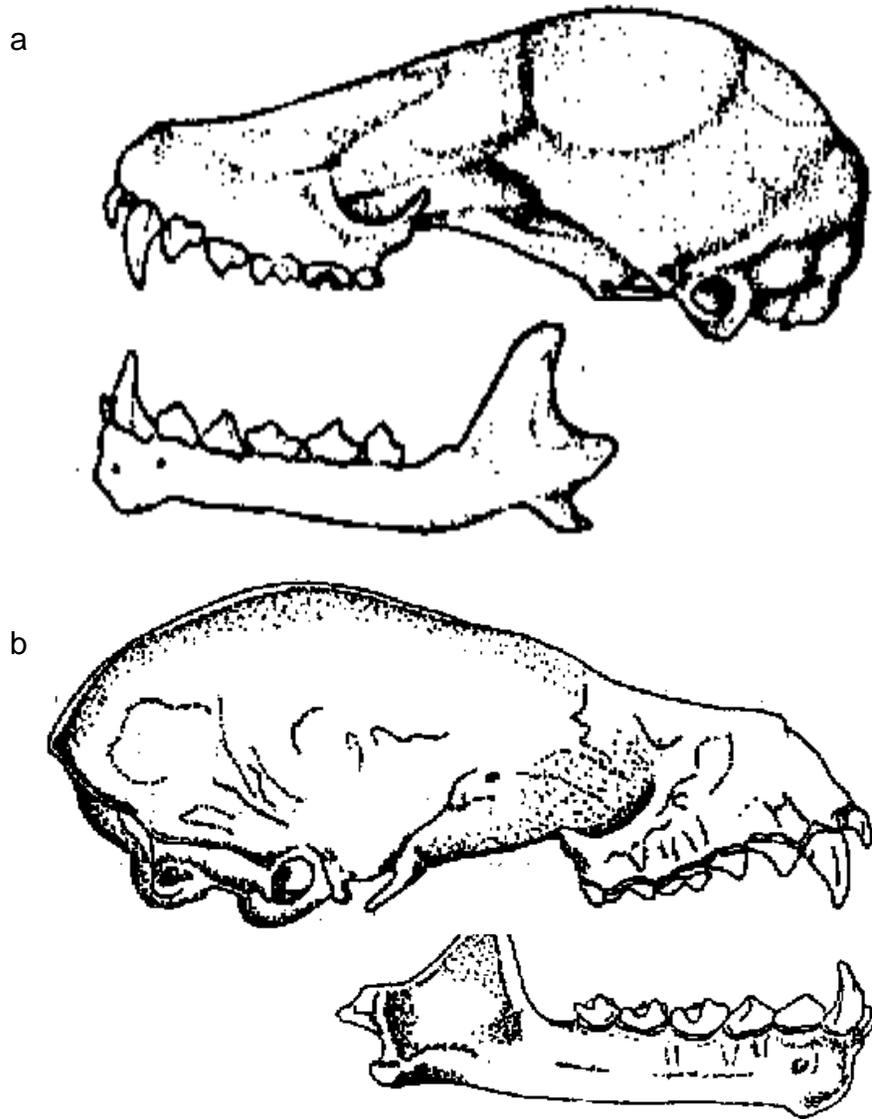
Las dos especies se caracterizan por poseer similares formulas dentales (2/21/12/23/3), longitud de la cola mayor de 7 mm; número cromosómico $2n= 20$ hembras-21 machos), y número fundamental 36. Dentro de esta especie se trató para Colombia por muchos años a la especie hoy reconocida *Carollia monohernandezii* que presenta características similares a *Carollia perspicillata*, pero se diferencian en tamaño y por la presencia de una tercera cúspide en el tercer molar superior, además presenta un cráneo más robusto y corto.

4.2 CITOGENETICA

4.2.1 Conceptos cariológicos. Actualmente, existe una controversia en la biología comparada en cuanto al valor de los distintos tipos de caracteres que se tiene en cuenta para la clasificación taxonómica, existiendo la necesidad de enriquecer los estudios y descripciones tradicionales con otras técnicas que permitan diferenciar especies, ó identificarlas mejor (Crisci & Morrone, 1995).

Los cromosomas encontrados dentro del núcleo de la célula se pueden observar en un estado de máxima condensación durante la fase de división celular conocida como metafase; partiendo de estas observaciones se puede realizar un mapa cromosómico o cariotipo a través del apareamiento de los cromosomas homólogos vía computador ó fotografías de acuerdo con el tamaño de las bandas ó patrón de bandas, la estructura, la forma y el número de cromosomas, todos estos aspectos que permiten el estudio dichas características cromosómicas es lo que se conoce como citogenética (Santos *et al*, 2001).

Figura 2. Esquema de los cráneos de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*. a. Cráneo de *Carollia brevicauda*. Tomado de Cuartas *et al.* 2001. Una nueva especie de *Carollia* Gray. b. Cráneo de *Carollia perspicillata*. Tomado de Albuja 1995. Murciélagos del Ecuador.



El estudio de los cromosomas se puede realizar a partir de una fuente de células en mitosis, el objetivo principal de las técnicas es obtener un gran número de células susceptibles de detenerse durante la división celular en metafase, cuando los cromosomas se encuentran contraídos para poder realizar su caracterización en cada especie mediante la utilización del microscopio óptico.

A pesar de que las características morfológicas de los mamíferos Euterianos han sido por mucho tiempo usadas para estudios genéticos y filogenéticos, las técnicas cariológicas son de las más importantes herramientas y medios utilizados por taxónomos para analizar e identificar varias especies, incluyendo murciélagos; así como también para detectar enfermedades cromosómicas en los organismos (Keung Oh, 1975).

Uno de los primeros pasos en la caracterización de los cromosomas de un organismo es determinar la morfología en función de la relación de los brazos p y q. Los cromosomas son clasificados en tres tipos: Telocéntrico, cuando el centrómero se halla en uno de los extremos. Acrocéntrico, Subtelocéntrico o Submetacéntrico, cuando el centrómero está considerablemente más próximo a un extremo que al otro, originando brazos de diferente longitud.

Metacéntrico, si el centrómero está aproximadamente en el medio, observándose los brazos p y q casi iguales. Algunos cromosomas metafásicos muestran muy pocas diferencias morfológicas en las preparaciones con tinción convencional de Giemsa, siendo el tamaño, la posición del centrómero (constricción primaria), y ocasionalmente las constricciones secundarias y bandeos, los únicos criterios (marcas guía) empleados para reconocerlos (Jiménez, 2000).

Una vez medidos los cromosomas, la clasificación se realiza basándose en la propuesta de Levan y colaboradores (Levan *et al*, 1964), de la Tabla N. 1

En *Carollia* se habla de tres grupos de cromosomas autosómicos, el primero es una gran par de submetacéntricos, el segundo grupo (dos pares de tamaño medio) son subtelocéntricos y el tercer grupo (seis pares de pequeños) son submetacéntricos y subtelocéntricos. Además, en machos se presenta un Subtelocéntrico X más grande que cualquier autosómico similar con una distintiva constricción secundaria en el brazo largo, los dos cromosomas Y son acrocéntricos un muy pequeño y un mediano. En las hembras los cromosomas XX son definidos como pequeños submetacéntricos (Stock, 1975).

Entre las técnicas utilizadas se mencionan, las técnicas de obtención de cromosomas a partir de cultivos *in vivo* de células de médula ósea, método que consiste en extraer la médula sacrificando el animal, previa inducción de la activación del sistema inmunológico, luego se inyecta el inhibidor mitótico. El método directo a partir de la médula ósea a pesar de ser un proceso rápido

requiere del sacrificio del animal, especialmente en animales pequeños (Tolliver & Robbins, 1991).

Tabla 1. Clasificación de los cromosomas, según Levan y colaboradores.

Posición Centromérica	Relación de Brazos	Índice Centromérico	Clasificación
Medio Estricto(M)	1	50	Metacéntrico
Región Mediana (m)	1-1,7	37,5-50	Metacéntrico
Región Submedia (sm)	1,7-3	25-37,5	Submetacéntrico
Región Subterminal (st)	3-7	12,5-25	Subtelocéntrico
Región Terminal (t)	mayor de 7	menor de 12,5	Acrocéntrico
Terminal Estricto (T)	N/A	0	Telocéntrico

Como ventaja este método, tiene los bajos costos de los reactivos ya que no se utiliza ningún medio de cultivo nutritivo comercial, además cuando los organismos son muy sensibles al estrés y no pueden ser llevados al laboratorio, lo cual es característico de animales como los murciélagos, este tipo de métodos aplicados en campo generan buenos resultados (Tolliver & Robbins, 1991).

Otros métodos como la obtención de cromosomas a partir de cultivos de células, es el cultivo de linfocitos de sangre periférica, el cual no involucra el sacrificio de los ejemplares y su beneficio consiste en que es un cultivo de corta duración (48-72 horas) que provee de una frecuencia relativa de buenas metafases logradas mediante la estimulación de un agente mitógeno, esta técnica es la más frecuentemente utilizada desde 1960 (Jiménez, 2000).

4.2.2 Bandeos G y C. Las técnicas de bandedo dan precisión en la individualización de los cromosomas, facilitando su agrupamiento y clasificación morfológica, la determinación de aberraciones cromosómicas tiene importante incidencia en animales con problemas de reducción de la fertilidad y la localización de genes que confluyen al mapeo genético (Dreds, 2000).

Los bandeos cromosómicos hacen posible que se tenga un mayor conocimiento acerca de la estructura cromosómica y de los reordenamientos que se producen en las distintas alteraciones tales como: fusiones y fisiones céntricas, translocaciones recíprocas y en tandem; inversiones peri y paracéntricas; deleciones; duplicaciones; constricciones secundarias, fracturas cromosómicas, etc. Por otro lado permiten realizar estudios evolutivos de especies relacionadas entre sí (Jiménez, 2000).

Se tiene varios tipos de bandedo, siendo las bandas G y C en muchas ocasiones utilizadas por su alta significancia y representatividad de las estructuras del ADN.

El bandeo G ocurre debido a que los cromosomas metafásicos contienen una estructura cromomérica básica que es resaltada por el colorante de Giemsa, además las proteínas histónicas ricas en arginina, adenina y timina también están involucradas en el bandeo GTG, lo cual hipotetiza las diferencias entre las regiones de las bandas G positivas y negativas.

Los patrones de bandeo cromosómico obtenidos con esta técnica son ideales para dilucidar la composición de los cromosomas (Jiménez, 2000). Esta es una de las técnicas más útiles para la identificación de los pares cromosómicos, ya que no requiere de equipos complejos y costosos como el microscopio de fluorescencia (Dreds, 2000).

En otro lugar se tiene las bandas C, las cuales posibilitan detectar las regiones heterocromáticas tratando los cromosomas simplemente con hidróxido de sodio, incubación en una solución salina y tinción por el Giemsa. Como estos segmentos heterocromáticos (denominados “bloques” en la época) se hallan principalmente en las regiones centroméricas, se denominaron bandas C; a través de esta técnica se pueden evidenciar variaciones en los tamaños entre cromosomas homólogos de un individuo y entre individuos, denominadas polimorfismos de Bandas C, y también traslocaciones (Jiménez, 2000).

La producción de estas bandas se debe a que en las zonas negativas se pierde el ADN por desnaturalización ocasionada por el ácido y álcalis, seguida de fragmentación y remoción cuando se adiciona una solución salina citratada (Comings, 1978).

4.2.3 Evolución cromosómica. A partir de estas técnicas se han planteado hipótesis, leyes y teorías evolutivas, que tratan de explicar los fenómenos evolutivos evidenciados a través de estas. De un gran número de conclusiones generadas por el análisis de los cromosomas surgió la citogenética evolutiva. Esta rama de la citogenética estudia las formas cromosómicas de las especies actuales y, mediante la comparación de sus cariotipos, hace inferencias sobre los cambios cromosómicos (reorganizaciones), que se han podido producir a lo largo del proceso evolutivo de los diferentes grupos taxonómicos, sean o no la causa del proceso de divergencia de las especies (García, 2001).

Los cambios genotípicos son los eventos básicos que proporcionan el material para el proceso evolutivo, ya que puede producir nuevos fenotipos que mediante interacciones con los factores ambientales, y a través de varias generaciones, pueden originar nuevas especies. Los cambios en el genoma pueden ser génicos o cromosómicos; sin embargo, las reorganizaciones cromosómicas no son la única causa de especiación y generación de polimorfismos, pero sí una explicación (García, 2001).

Sin embargo en la mayoría de mamíferos y en la especies en general, estos se caracterizan por tener un cariotipo propio, lo cual indica que se han causado cambios cromosómicos causantes de su divergencia, o posteriores a la misma, que se ha fijado en las diferentes especies; numerosas hipótesis han sido creadas para explicar como la selección quizá opera sobre el juego cromosómico de las especies, y como este mecanismo puede estar relacionado con la divergencia morfológica y especiación (Qumsiyeh, 1994).

Un rearrreglo en tan solo uno de los cromosomas también puede afectar la estructura nuclear o recombinación en otros cromosomas y en algunos linajes, puede dirigir la adquisición o adición de rearrreglos; eso sugiere que cambios en el nivel de recombinación y en la estabilidad nuclear juegan un role importante en la evolución de los cromosomas en mamíferos (Qumsiyeh, 1994).

Los cambios cromosómicos son una importante fuente de variabilidad en las estrategias adaptativas de un organismo; cambios en este pueden afectar características fenotípicas y la regulación de genes, que según lo mencionan en distintas hipótesis pueden ser ocasionados por evolución morfológica (Carvalho & Morielle, 2004).

La variación en la morfología de los cromosomas puede ser detectada a través de la técnica de Bando G, en algunos casos los rearrreglos de los cromosomas pueden afectar el número de cromosomas, el número de brazos de los cromosomas o ambos (Gibson, 1984). Los cambios en los cromosomas se pueden deber a mutaciones originadas durante procesos de adaptación a los diferentes condiciones ambientales (Laurie *et al*, 2000), teniendo mayor incidencia como fenómeno de especiación cromosómica en especies que se encuentran subdivididas en poblaciones pequeñas (Baker & Bickman, 1986).

Según la teoría de los cambios cromosómicos los distintos tipos de rearrreglos se pueden clasificar en dos categorías: a) Reorganizaciones cromosómicas (inversiones, traslocaciones recíprocas, activaciones/ inactivaciones centroméricas, fusiones y fisiones, y otros.) b) Cambios cromosómicos propiamente dichos (variaciones cuantitativas y de localización de la heterocromatina constitutiva) (Gibson, 1984).

5. METODOLOGÍA

5.1 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ÁREA DE ESTUDIO

Nariño esta constituido por tres unidades o provincias biogeográficas, la Amazónica, la Pacífica y la Nor- Andina, en las cuales se pueden encontrar variedad de ecosistemas que reflejan la riqueza biológica del país. La provincia biogeográfica Nor-Andina se extiende desde Antioquia hasta Nariño en Colombia, en la cual se encuentran distintos pisos térmicos que han sido el foco de especiación para muchos organismos (Halffter, 1992), y que actualmente presenta elevados porcentajes de especies de mamíferos con algún riesgo de extinción.

Teniendo en cuenta que la provincia biogeográfica Nor Andina cubre un alto porcentaje de Nariño y en la cual se encuentran variedad de pisos térmicos que van desde cálido hasta nieves perpetuas, y estructurando diferentes tipos de bosque. Fueron seleccionados 5 sitios de muestreo que representan las distintas zonas de vida, pero solamente en tres de ellas se registraron especies del genero *Carollia*, San Lorenzo se encuentra en la zona de vida Bosque muy húmedo montano mientras que los otros dos lugares (Ancuya y Chachagüi) pertenecen a la zona de vida bosque seco premontano como se indica en la tabla 2.

Los sitios de muestreo se encuentran separadas geográficamente uno del otro y presentan características particulares como la vocación del suelo para cultivos de café y ganadería (Figura 3). De las otras dos zonas se tenían registros previos de la presencia de especies del genero *Carollia* pero durante el desarrollo de este estudio no se registro ninguna especie del genero pero si otras especies de murciélagos, las dos son zonas altas ubicados en El Encano (Bosque muy húmedo-montano bajo) y los bosques de el Alto de Daza (Bosque muy húmedo montano) (Figura 4).

5.2 ESTUDIO DE CARACTERES MORFOLOGICOS

La correcta determinación morfológica de las especies se realizó teniendo en cuenta caracteres morfológicos y morfométricos (Baker & Bradley, 2006), que suelen usarse para la identificación de murciélagos del genero *Carollia* (Solari & Baker, 2006; Muñoz *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001; Muñoz, 1995; Albuja, 1999; Owen *et al*, 1984; McLellan, 1984; Pine, 1972), así como otros usados en descripciones originales o revisiones de *Carollia* (Comunicación personal Solari y Zurc, 2008).

Con el fin de descartar que los individuos colectados pertenecieran a las otras especies de *Carollia* se revisaron los reportes de Pacheco *et al* (2004), Baker *et al* (2002), Cloutier y Thomas (1992) y material de los Museo de Historia Natural de la

Universidad de Nariño (PSO-CZ), Universidad del Valle (UV) y Universidad de Antioquia. Además, en la identificación y revisión de ejemplares se contó con la colaboración del especialista en Sistemática y Evolución Ph.D. Sergio Solari y de la Bióloga Dany Zurc de la Universidad de Antioquia.

Figura 3. Fotografías de los tipos de Bosque en los cuales se registraron individuos de los complejos *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda*.



Cimarrones. Municipio de Chachagüi (bs-PM). Fotografía Noguera E. 2006.



San Lorenzo. (bmh-M). Fotografía López J.1997.



Ancuya. Finca La Quinoa (bs-PM). Fotografía Noguera E. 2007.

Figura 4. Fotografía satelital del Norte de Nariño indicando en círculos rojos las zonas de muestreo de poblaciones de *Carollia*; tomada de la web page zipcodezoo.com/Animals.asp. Visitado Junio 8 de 2007.

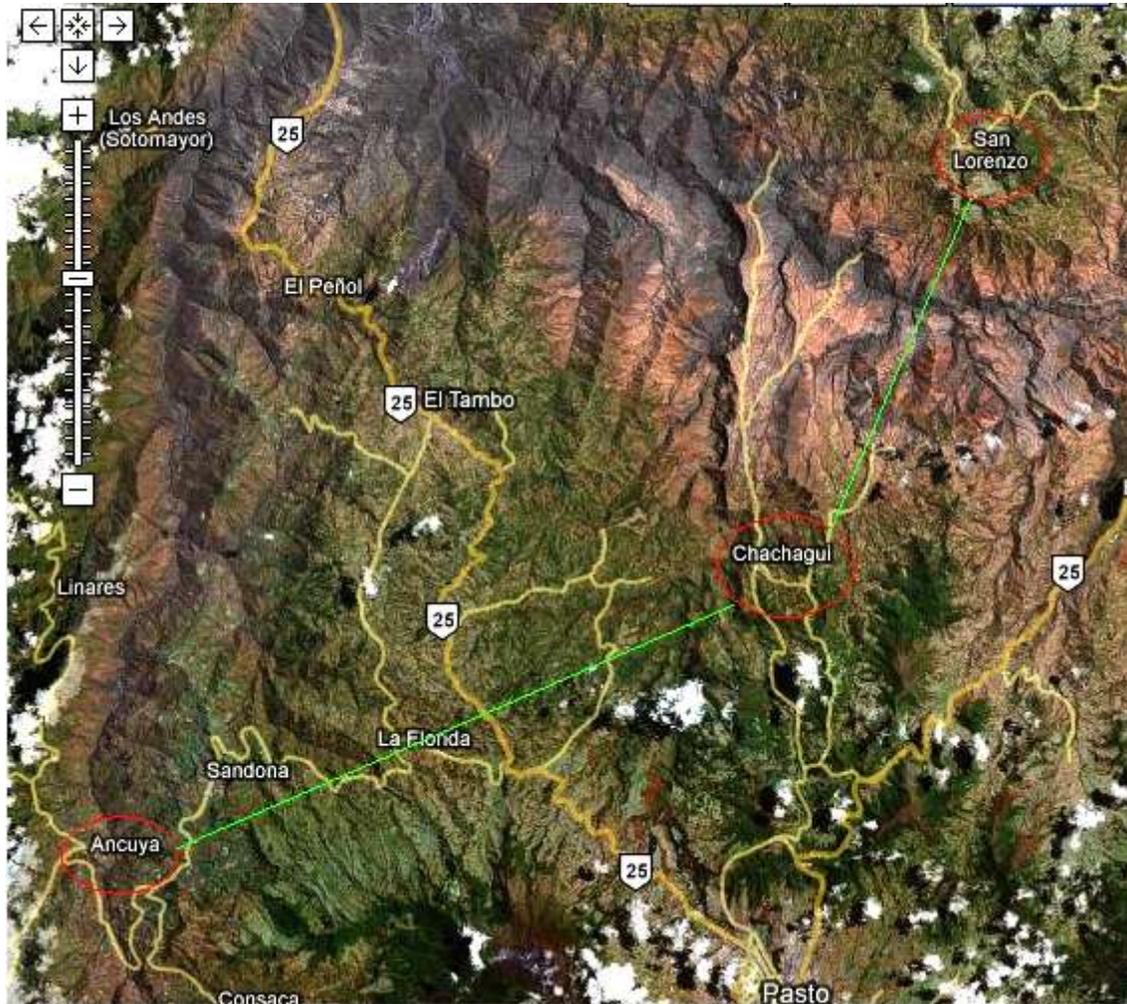


Tabla 2. Sitios de colecta de individuos de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* con sus correspondientes datos geográficos.

MUNICIPIO	SITIO DE COLECTA	ZONA DE VIDA	COORDENADAS SITIO DE MUESTREO Y ALTITUD.	OBSERVACIONES
Chachagüi	Cimarrones, 20 m desde el puente sobre la quebrada Cimarrones.	Bosque Seco-premontano bs-PM	1° 25´ N y 77° 16´ W- 1647m	Altas temperaturas (20-28°C), precipitación en temporada seca de 1.2 mm (Meses junio, julio y agosto) y época lluviosa 279.8 mm (Meses marzo, octubre y Noviembre) topografía quebrada con pendientes del 50%, áreas semidesérticas, fértiles y zonas de vocación ganadera.
San Lorenzo	Vereda La pradera, Finca la Granja.	Bosque muy húmedo montano bmh-M	1° 30´ 40.3" N y 77° 13´ 42.1" W- 1994 m	Las temperaturas oscilan entre los 14° y 25° C, con un promedio de 17° C a 18° C, pendientes desde leves hasta fuertes. Tierras vocación agricultura. (Alcaldía Municipal de San Lorenzo, 1997).
Ancuya.	Vereda "La Quinoa".	Bosque seco premontano bs-PM	1° 17´N- 77° 32´ W- 1760 m	Presenta características físico-bióticas representadas por un piso térmico medio seco y condiciones sub-húmedas a secas, con relieve de escarpado a quebrado Temperatura entre 16-25°C. El suelo brinda una capacidad ecológica que es utilizada por un tipo de demanda socio-ambiental centrada en la agricultura.

El estudio de los caracteres morfológicos se llevó a cabo con material representativo de cinco taxa de *Carollia*. Se revisó un total de 91 individuos, (codificación en Anexo B), incluyendo ambos sexos, juveniles y adultos de cinco especies de *Carollia* (*Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata*, *Carollia castanea*, e individuos tipo de *Carollia monohernandezii* y *Carollia colombiana*).

De los 91 ejemplares 63 correspondieron a muestras colectadas en Nariño (35 ejemplares colectados en este estudio y el resto del museo PSO-CZ), 22 provienen del Valle del Cauca (Colección Universidad del Valle), 4 de Risaralda (Colección Universidad del Valle), 1 de Antioquia (Colección Universidad de Antioquia) y 1 del Caquetá (Colección Universidad de Antioquia).

Se incluyó material tipo de *Carollia monohernandezii* y material holotipo de *Carollia colombiana*, para el resto de especies se utilizaron series categorizadas en la determinada taxa dentro de los respectivos museos. Esta revisión sirvió para detectar características detalladas de cada uno de los taxa, para luego compararlos e identificar aquellos presentes en Nariño, cuando fue posible se estableció la validez de los caracteres morfológicos sobre los cuales cada taxa es definido y se evaluó la variación dentro de cada uno.

5.3 ANALISIS MORFOMETRICO DE LAS POBLACIONES Y ESPECIES DE *Carollia*

Los análisis morfométricos se llevaron a cabo con 55 individuos adultos de cuatro localidades Nariñenses (Ancuya, San Lorenzo, Chachagüi y Ricaurte) (codificación en Anexo B) preparados por el método de piel-cráneo.

Durante el desarrollo de este estudio en las localidades de muestreo Ancuya, San Lorenzo y Chachagüi se colectaron 35 individuos de los cuales 29 se tuvieron en cuenta para el análisis morfométrico, los restantes 6 ejemplares fueron descartados del análisis por presentar deterioros en las piezas dentales y cráneo o por corresponder a ejemplares juveniles.

Debido a las pocas capturas de *Carollia brevicauda* en los Andes de Nariño, 26 ejemplares de Ricaurte (Piedemonte- Pacifico) fueron incluidos en los análisis morfométricos como punto de comparación con los individuos de *Carollia brevicauda* capturados en el interior de Nariño, los ejemplares hacen parte de la Colección de Mamíferos del Museo de Historia Natural PSO-CZ Universidad de Nariño.

Tras una revisión de la carga de las variables en los análisis de los distintos trabajos morfométricos de *Carollia* (Muñoz *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001; Owen *et al*, 1984; McLellan, 1984; Pine, 1972), algunas medidas generales usadas en otros trabajos no fueron tenidas en cuenta en este estudio debido a la poca

significancia y variabilidad de los caracteres en la discriminación de las especies de *Carollia*.

Se tomaron dieciocho medidas craneales (Figura 5) de gran valor estadístico, biológico y de gran variabilidad entre OTUS, las cuales pueden encontrarse en trabajos similares para individuos del género *Carollia* (Muñoz *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001; Owen *et al*, 1984; McLellan, 1984; Pine, 1972), además se tuvieron en cuenta algunas recomendadas por Solari y Zurc (Comunicación personal, 2008) y cuatro determinadas durante la revisión morfológica: distancia externa PM1-PM1, longitud línea de molares mas PM2, palatino PM2-PM2 y ancho exterior M3-M3 (DEPM1-PM1; DM3PM2; PAPM2-PM2; EXM3-M3).

Las cuatro medidas producto de la revisión morfológica cumplen con características como similitud del carácter, sentido biológico y no presentan correlación lógica (Gallego, 2005; Hernández, 2001; Crisci & López, 1983; Czier & Bacon, 1949), reglas necesarias para la selección de caracteres, todas las medidas representan atributos craneales y dentales.

Las medidas fueron tomadas con un calibrador digital graduado a centésimas de milímetro (0.01mm). Por la inclusión de cuatro variables no utilizadas en estudios previos a continuación se realizan algunas consideraciones de la forma en que fueron tomadas todas las medidas.

1. Longitud maxima del cráneo (LMC): La mayor longitud obtenida en el cráneo, desde la cresta lambdaidea hasta la parte distal de los premaxilares.
2. Longitud de la hilera dental superior (LHMAX): Distancia lineal entre la proyección distal de la base del canino superior, hasta la proyección distal posterior del premolar tres sobre el mismo lado del cráneo.
3. Longitud hilera superior antes canino (LHDS): Distancia lineal entre la proyección distal del primer premolar superior, hasta la proyección distal posterior del molar tres sobre el mismo lado del cráneo.
4. Ancho de los caninos (CC): Es la mayor distancia entre los puntos más externos de los caninos.
5. Ancho exterior M1-M1 (EXM1M1): Es la mayor distancia entre los puntos más externos de los primeros molares.
6. Ancho exterior M2-M2 (EXM2-M2): Es la mayor distancia entre los puntos más externos de los segundos molares.
7. Ancho exterior M3-M3 (EXM3-M3): Es la mayor distancia entre los puntos más externos de los terceros molares.

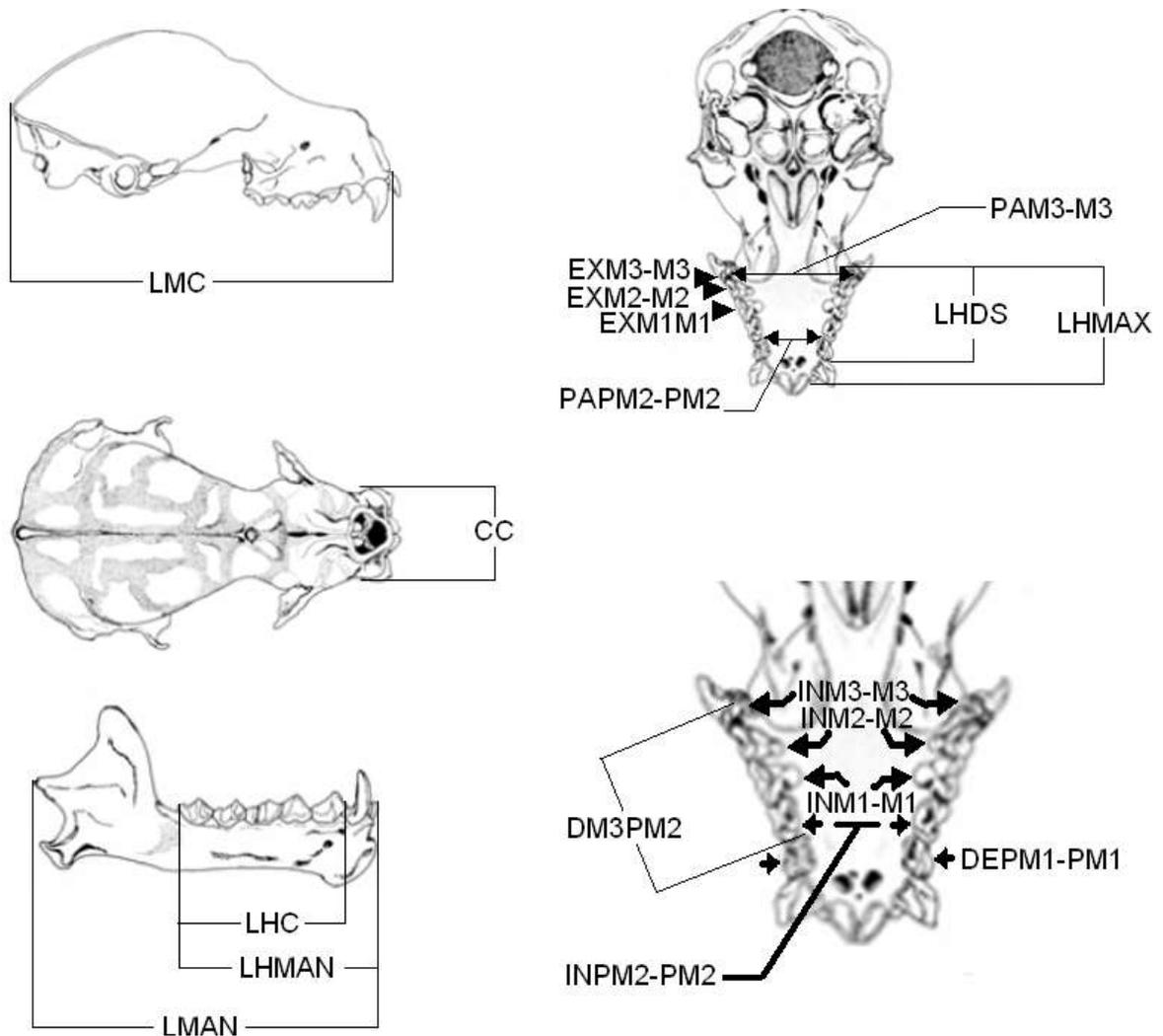
8. Distancia interna M1-M1 (INM1-M1): Es la distancia entre los puntos más internos de los primeros molares.
9. Distancia interna M2-M2 (INM2-M2): Es la distancia entre los puntos más internos de los segundos molares.
10. Distancia interna M3-M3 (INM3-M3): Es la distancia entre los puntos más internos de los terceros molares.
11. Distancia interna PM2-PM2 (INPM2-PM2): Es la distancia entre los puntos más internos de los segundos premolares.
12. Distancia externa PM1-PM1 (DEPM1-PM1): Es la distancia entre los puntos más externos de los primeros premolares.
13. Longitud línea de molares más PM2 (DM3PM2): Es la mayor distancia entre los puntos más externos del tercer molar hasta el extremo distal del premolar dos sobre el mismo lado del cráneo.
14. Palatino PM2-PM2 (PAPM2-PM2): Es la distancia máxima interna entre los puntos de oclusión PM2-PM1.
15. Palatino M3-M3 (PAM3-M3): Es la distancia máxima interna entre los puntos de oclusión M3-PM2.
16. Longitud de la mandíbula (LMAN): Desde la mayor proyección del incisivo inferior mandibular hasta la parte distal del ramus mandibular del mismo lado.
17. Longitud hilera dental mandíbula (LHMAN): Distancia lineal entre la proyección distal del canino inferior, hasta la proyección distal posterior del molar tres sobre el mismo lado del cráneo.
18. Longitud hilera dental de la mandíbula antes canino (LHC): Distancia lineal entre la proyección distal del primer premolar inferior, hasta la proyección distal posterior del molar tres sobre el mismo lado del cráneo.

Con los datos obtenidos en la medición de las anteriores variables correctamente estandarizados (divide=STD, subts=YBAR), se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para evaluar la posible separación de los individuos en grupos morfométricos o sexuales. Para efectos de este análisis, las poblaciones de *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie fueron codificadas de acuerdo a su caracterización morfológica y distribución geográfica (ver en Anexo B).

Los tres primeros componentes fueron retenidos y se evaluaron las cargas de

cada variable como una medida de importancia en la separación de los grupos morfométricos. Para probar la hipótesis de diferenciación en distintos grupos morfométricos o especie, con las variables previas usadas se realizó un análisis discriminante (DA) que evaluó la correcta asignación de los individuos a cada uno de los grupos previamente determinados en el análisis morfológico y en el ACP, y se identificó las variables que mejor describieron la asignación a los grupos.

Figura. 5. Medidas craneales, mandibulares y dentales usadas en el análisis morfométrico. Modificado de Muñoz J. *et al*, 2004. Se describe una nueva especie de murciélago del género *Carollia* Gray, 1838 (Chiroptera: Phyllostomidae) de Colombia.



Para caracterizar a cada uno de los grupos morfométricos se usaron estadísticos univariados como la media, desviación estándar, coeficiente de variación y el rango (Anexo C).

Los análisis estadísticos fueron realizados usando el programa estadístico NTSYSpc versión 2.0 (Rolfh, 2007) para Windows y SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) para Windows versión 13.0 (Norusis, 2000).

Una vez definidos los grupos morfométricos fueron comparados con los grupos morfológicos, para ello se revisó y describió caracteres relevantes que pudieran presentar variación intrapoblacional: externos, morfología craneal, dental y de post cráneo, teniendo en cuenta principalmente caracteres estrictos descritos en otros estudios (Solari & Baker, 2006; Muñoz *et al*, 2004; Pacheco *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001; Baker *et al*, 2002; Muñoz, 1995; Albuja, 1995; Cloutier y Thomas, 1992; Owen *et al*, 1984; McLellan, 1984; Pine, 1972).

5.4 ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE OBTENCIÓN DE CROMOSOMAS

Los individuos colectados luego de la estimulación con cultivo de levadura, se llevaron a los laboratorios de la Universidad de Nariño. Teniendo como base la técnica propuesta por Keung Oh (1975) empleada en un estudio cariológico de Murciélagos en Korea, complementada con la de Baker *et al* (2003) utilizada para la obtención de cariotipos a partir de cultivo de médula *in vivo*, se realizaron las modificaciones necesarias (Anexo D).

De acuerdo a estos dos autores se determinaron las condiciones iniciales de trabajo, las cuales fueron:

Estimulación celular o Mitógeno:	Cultivo de levadura.
Inhibidor mitótico:	Colchicina.
Concentración de colchicina:	0.025 %
Tiempo de colchicina <i>in vivo</i> :	2 horas.
Hipotónica:	Cloruro de Potasio 0.075 M.
Tiempo de hipotónica:	15 minutos, 37°C.
Fijador de Carnoy:	3 metanol: 1 Ácido acético glacial.
Tinción:	Giemsa- Buffer fosfato.
Tiempo de tinción:	8 minutos.

Sé hicieron las modificaciones teniendo en cuenta las variables mencionadas en la tabla 3, las cuales no tiene punto de coincidencia entre los dos protocolos (Anexo D). En la tabla 3 se especifican los tiempos y parámetros de evaluación de cada variable.

Cada variable se analizó de forma independiente y cada vez que se obtenían resultados se realizó la variación correspondiente y se prosiguió a evaluar las otras variables. De cada individuo se obtuvo dos muestras, una por cada húmero.

De cada unidad experimental se gotearon dos láminas, y en cada una de ellas se contabilizaron los leucocitos observando en 40x seis líneas horizontales que sumaban 150 campos aproximadamente.

Tabla 3. Variables tenidas en cuenta para la estandarización de la técnica para la obtención de metafases.

VARIABLES		PARÁMETROS DE EVALUACIÓN.
Periodo de estimulación.	0 horas- 24 horas- 48 horas.	Índice de estimulación (IE).
Lavados de la suspensión celular.	Sin lavado-1 lavado- 2 lavados	Grado de separación de cromosomas.
Número de fijaciones	2 fij.- 3 fij.-4 fij.	Morfología de los cromosomas.
Cantidad de Carnoy para resuspensión.	0.5 ml-1 ml-1.5 ml	Índice mitótico (IM).
Altura de goteo.	1 m- 2 m- 2.7 m	Índice de Células con cromosomas encerrados en la membrana celular (IEMC).

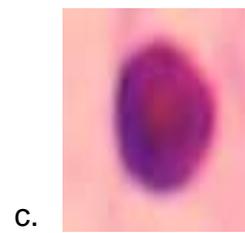
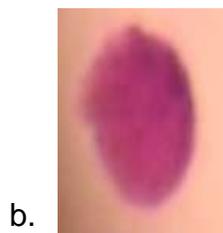
Los parámetros evaluados fueron los siguientes:

Las células estimuladas y tenidas en cuenta para el índice de estimulación, fueron aquellas de mayor tamaño (Mahecha, 1998), y presentan puntos de color intenso (Figura 6. a.), se define como:

$$E.I.= (\text{Número de células estimuladas}/ \text{Número total de células blancas}) * 100$$

Figura 6. Morfología de los linfocitos de las especies del genero *Carollia* estudiadas.

- a. Célula estimulada b. Célula viable no estimulada c. Célula no viable



El grado de separación de cromosomas, evalúa la acción solución hipotónica durante los lavados del botón celular (Mahecha, 1998) (Figura 7), y se definió así:

Separación 1: Metafases con cromosomas claramente visibles, completos y separados.

Separación 2: Metafases imperfectas con cromosomas superpuestos.

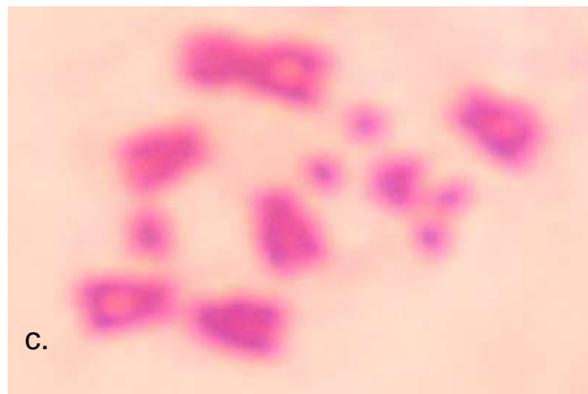
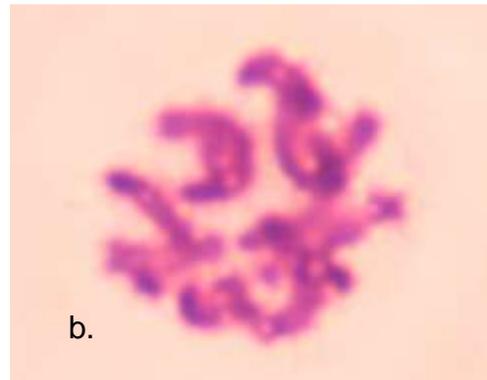
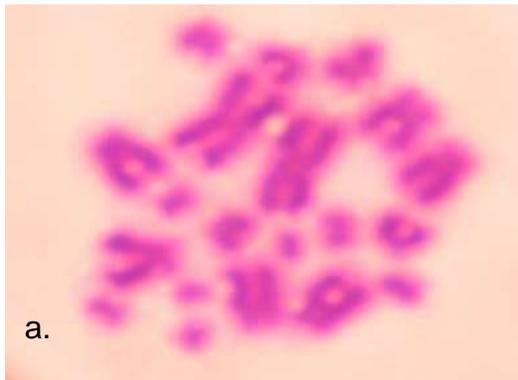
Separación 3: Metafases con cromosomas perdidos.

Figura 7. Grado de separación de cromosomas de las especies del genero *Carollia* estudiadas.

a. Separación 1

b. Separación 2

c. Separación 3



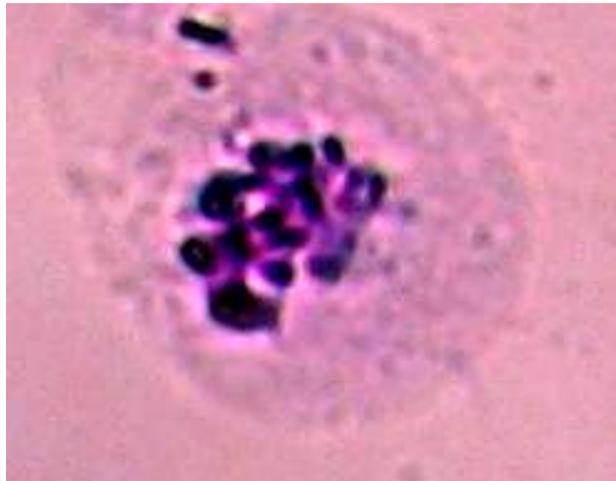
Índice mitótico (I.M.) es (Jiménez, 2000; Mahecha, 1998):

$I.M. = (\text{Número de metafases obtenidas} / \text{Número total de células blancas}) * 100$

Índice de Células con cromosomas encerrados en la membrana celular (I.E.), son aquellos presentes y poco diferenciables como las observadas en la figura 8, en los cuales no ha hecho efecto el impacto con la placa, lo cual permite la dispersión de los cromosomas (Fuente este estudio).

$I. E. = (\text{Número de células con cromosomas encerrados} / \text{Número total de células blancas}) * 100$

Figura 8. Cromosomas encerrados en la membrana celular.



5.5 IDENTIFICACIÓN DE LOS CROMOSOMAS

De acuerdo con los parámetros de evaluación se analizaron las láminas para el análisis de metafases y las células en el microscopio de luz AXIOSTAR plus en 10x y 100x de aumento.

De cada individuo se digitalizaron 50 metafases de coloración de Giemsa y preparaciones con bandeamiento G y C. El equipo utilizado fue el microscopio AXIOSTAR plus y una cámara digital KODAK EASHYSHARE C633 ZOOM DIGITAL de 6.1 Mp.

Para la determinación del número cromosómico y la morfología se seleccionaron 50 metafases que cumplieran con los requisitos de mínimo grado de condensación (grado 1) y el mínimo grado de separación de cromosomas (grado 1).

Para las medidas de longitudes totales, brazos cortos y largos se empleo el software de distribución libre MicroMeasure versión 3.3. Las medidas obtenidas para cada metafase se exportaron y procesaron desde el programa en la hoja de Excel 2000, para obtener el índice centromérico, la relación de brazos y la longitud relativa, cuyas formulas se presentan a continuación:

Relación de brazos RB, que indica el número de veces que está contenido p en q:

$$RB = p/q$$

Índice centromérico IC, indica el porcentaje de la longitud total del cromosoma (p+q] que está representada por p:

$$IC: (p/p+q)*100$$

Longitud Relativa (L.R.):

L.R.= (Longitud total del cromosoma/ Σ longitud de los cromosomas del conjunto haploide) x 100

Donde p corresponde al brazo corto y q al brazo largo del cromosoma.

Los datos de índice centromérico, relación de la longitud de los brazos y longitud relativa, se promediaron, se calculó la desviación estándar, el coeficiente de variación, el valor máximo y el valor mínimo.

El número fundamental (FN) fue identificado con el número total de brazos de los autosomas (Liang-Kong *et al*, 2002).

En los cálculos fueron tenidos en cuenta una pareja por cada especie y en los machos por la complejidad en el número impar de cromosomas que poseen, se seleccionaron las imágenes más definidas para obtener el modelo cromosómico.

5.6 ESTANDARIZACIÓN DE BANDEOS G Y C

5.6.1 Bandas G (GTG). El bandeo de cromosomas se obtuvo siguiendo el protocolo de Howell y Black (1978) (Anexo E), variando el tiempo de tratamiento con tripsina, entre 1 minuto y 5 minutos. Evaluando la presencia de “ghost cells” en la placa. El tiempo de envejecimiento fue de 4 semanas, tiempo necesario para liberar de humedad las placas (Jiménez, 2000), cada una de las placas fue correctamente etiquetada y almacenada.

Los ensayos para la obtención de bandas G iniciaron modificando la variable tiempo a la exposición de tripsina, ya que es esta enzima la que determina la calidad de el bandeamiento, la evaluación del protocolo se realizó de manera

cualitativa determinando 4 niveles calidad en la coloración como se muestra en la tabla 4, de acuerdo al tiempo de exposición a la tripsina.

5.6.2 Bandas C (CBG). Para la obtención de este tipo de bandas se empleo la técnica de Summer (1972) (Anexo F), variando los tiempos de exposición a solución citratada de Sodio (2XSSC) entre 20 y 60 minutos, y el tiempo de exposición a Ba(OH)₂ a 56 grados centígrados de temperatura entre 20 segundos y 8 minutos evaluando el color de los cromosomas y la deformación (hinchamiento). El tiempo de envejecimiento fue de 5 semanas, tiempo necesario para liberar de humedad las placas (Jiménez, 2000), cada una de las placas fue correctamente etiquetada y almacenada.

En este caso se utilizó un procedimiento similar al de las bandas G a través de prueba y error, buscando un optimo de cromosomas de forma regular y con patrones de bandas diferenciables (Gauthier *et al*, 2004), de acuerdo a la transparencia de los cromosomas y nivel de tinción (Tabla 5), se realizaron las evaluaciones correspondientes.

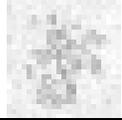
5.7 ANÁLISIS DE BANDAS G Y C

De cada uno de los individuos se prepararon 6 placas por cada tipo de banda, en cada lamina se realizaron tres recorridos en forma horizontal en un aumento de 100x buscando metafases con número de cromosomas completo y bandas observables. En el análisis de bandas se utilizó solamente cariotipos de hembras, ya que estas en sus grupos autosómico y sexual no presentan complejidad, pero si representan la homogeneidad en la especie respecto a los dos géneros sexuales (macho y hembra) (Bautista y Márquez, 2002).

Tabla 4. Tiempo y nivel de calidad de coloración tenido en cuenta optimizar Obtención de bandas G.

TIEMPO	NIVEL DE CALIDAD DE COLORACIÓN	OBSERVADO
5 minutos	Nivel 4	
2.5 minutos	Nivel 3	
2 minuto	Nivel 2	
1 minuto	Nivel 1	

Tabla 5. Tiempo y nivel de calidad de coloración tenido en cuenta optimizar Obtención de bandas C.

TIEMPO Hidróxido de Bario/ Solución citratada de Sodio (2XSSC)	NIVEL DE CALIDAD DE COLORACIÓN	OBSERVADO
8 minutos/1 hora 8 minutos/50 minutos	Nivel 5	
4 minutos/50 minutos 4 minutos/40 minutos	Nivel 4	
2 minutos/40 minutos 2 minutos/30 minutos	Nivel 3	
1 minuto/30 minutos 1 minuto/20 minutos	Nivel 2	
20 seg/ 30 minutos 20 seg/ 20 minutos	Nivel 1	

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1 CAPITULO I. ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS Y MORFOMÉTRICOS DE *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie

6.1.1 Estudio de caracteres morfológicos. Los 91 individuos de las especies *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata*, *Carollia castanea*, *Carollia monohernandezii* y *Carollia colombiana* fueron revisados, de estos 28 pertenecían a material correctamente catalogado, mientras que 63 ejemplares que correspondían a muestras colectadas en Nariño presentaron algún nivel de ambigüedad en la catalogación taxonómica y fueron determinados como *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*. Para este estudio no se tuvo en cuenta a *Carollia castanea* por ser la especie que presenta caracteres mas fáciles de diferenciar.

El genero *Carollia* presenta una alta complejidad en su taxonomía, en muchos casos cuando se carece o no se han observados algunos paratipos las caracterizaciones no son definitivas, la complejidad se debe a que la morfología de las especies que integran a este taxa dependen del role ecológico, la dieta y las preferencias de hábitat, así como también la coexistencia entre especies del mismo genero (York y Papes, 2007) , por lo tanto fue necesario comparar los 63 individuos Nariñenses con material que no tuviera dudas taxonómicas para realizar una correcta categorización taxonómica de los ejemplares.

Con la revisión de material tipo de *Carollia monohernandezii* y *Carollia colombiana* se descartó la presencia de las dos especies endémicas en las localidades de Nariño muestreadas, a partir de los datos suministrados en los trabajos de Solari y Baker (2006), Pacheco *et al* (2004), Baker *et al* (2002), Pine (1972) se descarto la presencia de *Carollia benkeithi*, *Carollia manu*, *Carollia sowellii* y *Carollia subrufa* restringida a Centro América.

Se determinó dentro de los 63 ejemplares analizados morfológicamente y de estos los cincuenta y cinco (55) ejemplares Nariñenses analizados morfométricamente tres morfotipos distintos, dos de los cuales tienen características que posibilita categorizarlos como poblaciones de *Carollia brevicauda* (35 individuos) y *Carollia perspicillata* (16 individuos) , sin embargo el otro morfotipo presenta una alta variabilidad en las piezas dentales y tiene un tamaño medio a *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*, por lo cual no fue categorizado como pertenecientes a alguna de las especies de *Carollia* reconocida hasta ahora y se denominó *Carollia* especie (12 individuos).

La definición de un tercer morfotipo indicaría la posible presencia de una tercera especie dentro de las que actualmente se reconocen como *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* en Nariño, la cual fue catalogada en principio como *Carollia perspicillata*, especie con la cual es mas afín morfológicamente.

Características como la presencia de un diastema entre las piezas Premolar 1 y Premolar 2 y la forma recta de la maxila permitieron separar a *Carollia brevicauda*. Para los individuos de *Carollia perspicillata* atributos como el color grisáceo a pardo claro, la no presencia del diastema mencionado para *Carollia brevicauda*, un

palatino largo, la última pieza molar inferior sin eclipsar al palatino, además de tamaño mayor a *Carollia brevicauda* permitieron diferenciarla. En los individuos de cada especie se presenta uniformidad en las medidas morfológicas craneales y externas tomadas para cada uno.

6.1.2 Análisis morfométrico. El ACP sugiere el reconocimiento de tres formas dentro de las poblaciones de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* de Nariño. El componente principal 1 (CP1) explica 48.21% del total de la variación en la muestra (Tabla 6). El componente principal 2 (CP2) explicó el 22.34% del total de la variación, por lo tanto el porcentaje acumulado entre los dos primeros componentes están representando el 70.55% del total de la variación. La separación de los tres grupos en el diagrama CP1 y CP2 (Figura 9) es evidente, excepto por dos individuos de Chachagüi, que fueron ligeramente más grandes que los individuos analizados de la misma localidad y del mismo grupo.

En general los individuos de *Carollia brevicauda* son más pequeños que las otras dos especies, mientras que las poblaciones de *Carollia perspicillata* son más grandes que las otras dos especies, *Carollia* especie en el diagrama (Fig. 8) se define como una especie de tamaño medio entre *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*. El CP3 explicó solamente el 5.02% del total de la variación en la muestra (Tabla 6); debido a los bajos porcentajes el gráfico del CP2 versus CP3 no sustenta la agrupación sugerida por el gráfico CP1 versus CP2 (Fig. 8) y por lo tanto no se presenta en este estudio. Los tres grupos formados en las especies estudiadas del género *Carollia* no corresponden a diferencias geográficas ya que en ellos se comparten individuos de las tres localidades muestreadas más los ejemplares del Piedemonte Pacífico que pertenecen solamente a la especie de *Carollia brevicauda*.

No se evidenció algún tipo de agrupamiento con respecto a sexo, esto se ha corroborado en otros casos (York y Papes, 2007) en donde se determinaron variaciones en medidas craneales entre machos y hembras que no son estadísticamente significativas, sin embargo pueden existir variaciones en la longitud del cráneo y la medida del antebrazo.

La medida del antebrazo, no fue tomada en cuenta en el análisis morfométrico de este estudio por ser una medida subjetiva cuando se trabaja con poblaciones simpátricas y mostrar bajo peso en análisis morfométricos anteriores (Muñoz *et al*, 2004).

La taxonomía del género *Carollia* (Grey, 1838) ha sido confusa desde las primeras descripciones y revisiones del género (Hahn, 1907; Pine, 1972; McLellan, 1984). Sin embargo, autores como Solari y Baker (2006), Pacheco *et al* (2004), Baker *et al* (2002), indicaron la presencia de diferentes formas en las comúnmente denominadas especie complejos *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia castanea*. A partir del análisis morfológico y morfométrico se confirma la

existencia de tres diferentes taxa en lo que se considera *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* en Nariño.

Tabla 6. Resultados del análisis de componentes principales de 18 caracteres de *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie; la primera fila es el porcentaje de la varianza explicada por cada componente; acrónimos definidos en el texto. CP, componente principal.

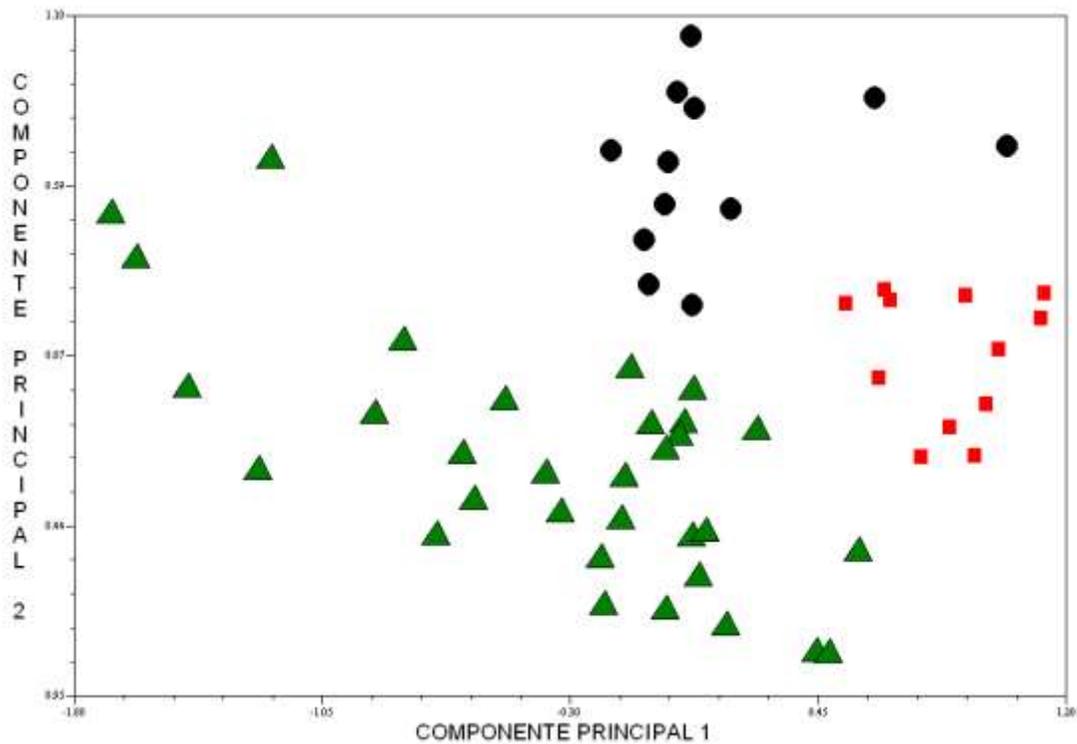
Carácter	CP1	CP2	CP3
% Explicado	48.21	22.34	5.02
LMC	0.7471	0.3967	0.0370
LHMAX	0.5882	0.7081	0.1243
EXM1M1	0.5689	-0.3915	0.2936
EXM2-M2	0.6863	-0.4015	-0.1907
CC	0.7318	-0.2884	0.3225
INM1-M1	0.4536	-0.7583	0.0370
INM2-M2	0.5271	-0.7107	-0.0951
INM3-M3	0.7111	-0.2794	-0.4047
EXM3-M3	0.8544	-0.0882	-0.3828
INPM2-PM2	0.7463	-0.2991	0.2786
DEPM1-PM1	0.7626	-0.1711	0.3166
DM3PM2	0.7196	0.6277	-0.1140
PAPM2-PM2	0.7137	-0.3631	0.0662
PAM3-M3	0.7658	-0.3004	-0.2841
LHDS	0.6851	0.6482	-0.0487
LMAN	0.7775	0.3002	0.2286
LHMAN	0.6888	0.5864	-0.0029
LHC	0.6517	0.4590	-0.0985

Un grupo corresponde a *Carollia brevicauda* (Schinz, 1921), especie presente en el piedemonte Pacífico y la parte Nor-occidental de los Andes nariñenses (San Lorenzo y Chachagüi). De los otros dos taxa una de ellas es una especie indeterminada. La primera especie o grupo de *Carollia perspicillata* (Linnaeus, 1758) puede ser encontrada en las localidades de Chachagüi y Ancuya, mientras que la especie indeterminada puede ser encontrada en Ancuya, San Lorenzo y Chachagüi, en simpatria con *Carollia brevicauda* en San Lorenzo y Chachagüi y en simpatria con *Carollia perspicillata* en Chachagüi y Ancuya.

Las tres especies son simpátricas en Chachagüi y San Lorenzo, además ocupan un rango altitudinal entre 1.647 y 1.994 m demostrando por ahora una distribución limitada a las zonas de vida bosque seco premontano y bosque muy húmedo montano en los Andes Colombianos. Para Ancuya solo se reporta la presencia de *Carollia perspicillata* y la especie indeterminada de *Carollia*, esto posiblemente se

deba al aislamiento geográfico que existe de esta zona con respecto a las otras dos zonas o a la falta de muestreo.

Figura 9. Posición espacial de los individuos de *Carollia brevicauda* (triángulos), *Carollia perspicillata* (Círculos) y *Carollia especie* (Cuadrados) del análisis de componentes principales en poblaciones de Nariño.



El análisis morfométrico y morfológico estaría indicando la presencia de tres diferentes grupos morfométricos dentro de las reconocidas actualmente como *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* en Nariño, de este modo caracteres estrictos y métricos se complementaron para definir los grupos obtenidos.

Las poblaciones asignadas a *Carollia brevicauda* en Nariño se mantienen como un grupo homogéneo, no se observó variación sexual en los caracteres morfométricos para ninguna de las tres especies.

Carollia perspicillata y *Carollia brevicauda* comprenden grupos morfológica y morfométricamente homogéneos. Al realizar comparaciones morfológicas con las poblaciones del valle del Cauca y Cauca, no se encontró ninguna variación. Se propone de aquí en adelante que las poblaciones de *Carollia especie* en Nariño sean llamadas con un epíteto específico distinto a los conocidos.

La posibilidad de una variación clinal como explicación a la diferenciación de los tres grupos (taxa) se descarta ya que la nueva especie de *Carollia* es simpátrica con las otras dos especies de *Carollia* e integran grupos morfológicos discretos y morfométricos definidos. Muchos de los estudios realizados para analizar la variación morfométrica intra e inter-poblacional se basan en individuos de otras zonas del país (Muñoz *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001).

Este es el primer análisis de variaciones cromosómicas y morfológicas del genero *Carollia* en el suroccidente Colombiano, el cual por ser un complejo volcánico es un escenario particular para el estudio de variación geográfica y especiación (Terry, 2000), dicha particularidad se debe al aislamiento geográfico ocurrido durante la mayor parte del Cenozoico, y a la gran variación en su relieve (Orejuela 1987), visible esto en los notorios endemismos (Tirira, 1998) y el elevado número de especies propias del país.

Las variaciones cromosómicas y morfológicas encontradas y las condiciones geográficas de las zonas de colecta, hacen considerar que las características encontradas entre *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia especie* permiten definir al tercer taxón como una especie posiblemente valida y diferente de las actualmente conocidas y reconocidas.

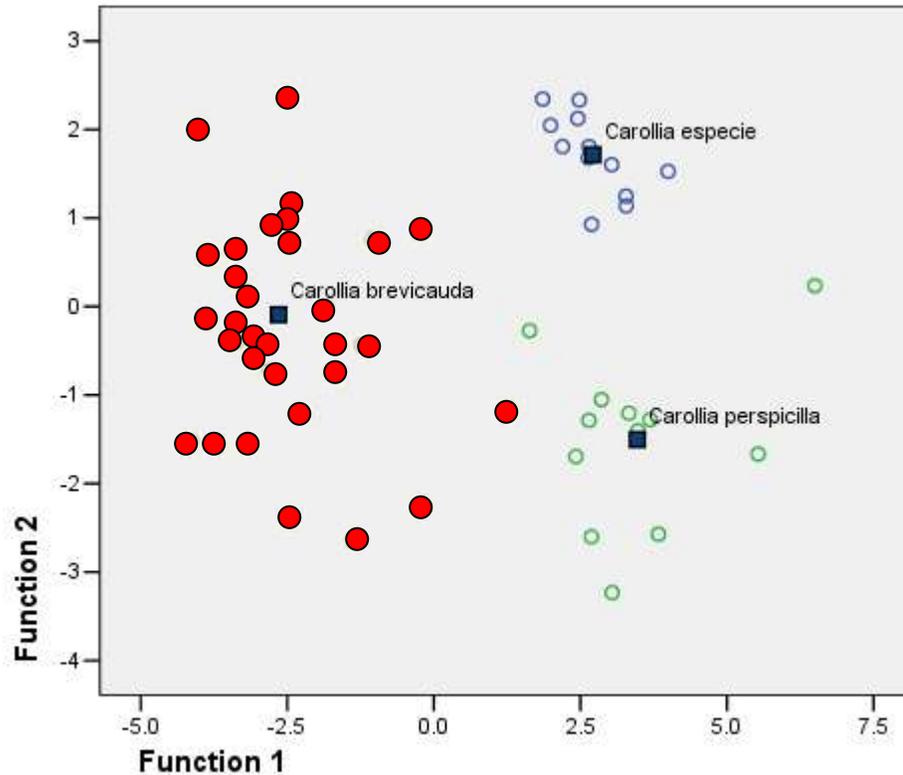
6.1.3 Análisis discriminante. El análisis discriminante (Figura 10), realizado con el objetivo de evaluar la correcta determinación morfométrica de las tres especies de *Carollia*, confirmó los resultados de la agrupación resultante del ACP separando tres grupos, a *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y manteniendo como un solo grupo a todos los especímenes de *Carollia especie*.

El análisis indica que el 100% de los individuos clasificados como *Carollia perspicillata* y el 100% de los individuos clasificados como *Carollia especie* están correctamente asignados, mientras que el porcentaje de *Carollia brevicauda* es menor, el 96.8% (30 Individuos de 31) están correctamente asignados.

El resultado indica que la primera función discriminante explica una alta proporción de la variación total (87.3%) entre los tres grupos morfométricos (eigenvalue=8.76; correlación canónica=0.95).

En la primera función discriminante la mayor variación la aporta las medidas LMC, LHMAX, DEPM1-PM1, DM3PM2 y PAM3-M3. Para la segunda función discriminante, que explica el 12.7% (eigenvalue=1.27; correlación canónica=0.75), la mayor variación esta determinada por EXM1M1, CC, INM1-M1, EXM3-M3, PAM3-M3 y LHDS.

Figura 10. Análisis discriminante de las 18 variables para individuos de *Carollia* en Nariño (Cuadrado = Centroide, círculos rojos= *Carollia brevicauda*, círculos azules= *Carollia perspicillata* y círculos verdes= *Carollia especie*).



Los centroides para los tres grupos determinados sobre las dos funciones son:

	Función 1	Función 2
Centroide <i>Carollia especie</i>	2,71	1,71
Centroide <i>Carollia perspicillata</i>	3,47	-1,5
Centroide <i>Carollia brevicauda</i>	-2,64	-0.91

Estos centroides determinan una clara separación de los grupos morfométricos respecto a las funciones discriminantes 1 y 2 (Figura 10) lo cual se puede observar también el alto porcentaje de individuos “correctamente” catalogados dentro de cada taxón (98.2%; 54 individuos). Solamente un individuo de *Carollia brevicauda* (3.2%) fue erróneamente clasificado en el análisis discriminante, sin embargo por tener características morfológicas típicas de la especie considerada siguió siendo considerado como *Carollia brevicauda*.

El análisis discriminante y el análisis de componentes principales fueron consistentes en alto porcentaje con la asignación de individuos Nariñenses de

Carollia a *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie. Además, como se muestra en el Anexo C, hay quince (15) variables morfométricas indicando un mayor tamaño de la nueva especie de *Carollia*, con relación a las otras dos especies estudiadas, estas variables puede ser utilizadas para caracterizarla.

6.1.4 *Carollia* especie.

Holotipo: Macho adulto. Preparado en piel cráneo, colectado por E. Noguera, número de campo EK053 (Elkin Noguera). Colectado el 15 de Agosto de 2007. Localidad tipo: República de Colombia, departamento de Nariño, Municipio de Chachagüi, Quebrada de Cimarrones; Bosque Seco-premontano bs-PM, 1647msnm, N 1° 25' 6.8" y W 77° 16' 37.9".

Paratipos: 11 individuos, 5 hembras y 6 machos. NARIÑO: Ancuya, Vereda "La Quinoa" (071♀). Chachagüi, Puente de Cimarrones, 10m Quebrada Cimarrones (EK006♂, EK 008♂, EK 009♀, EK015♀, EK017♀, EK051♂, EK070♂). San Lorenzo, Vereda La Pradera, Finca "La Granja" (EK011♀, EK060♂, EK061♂).

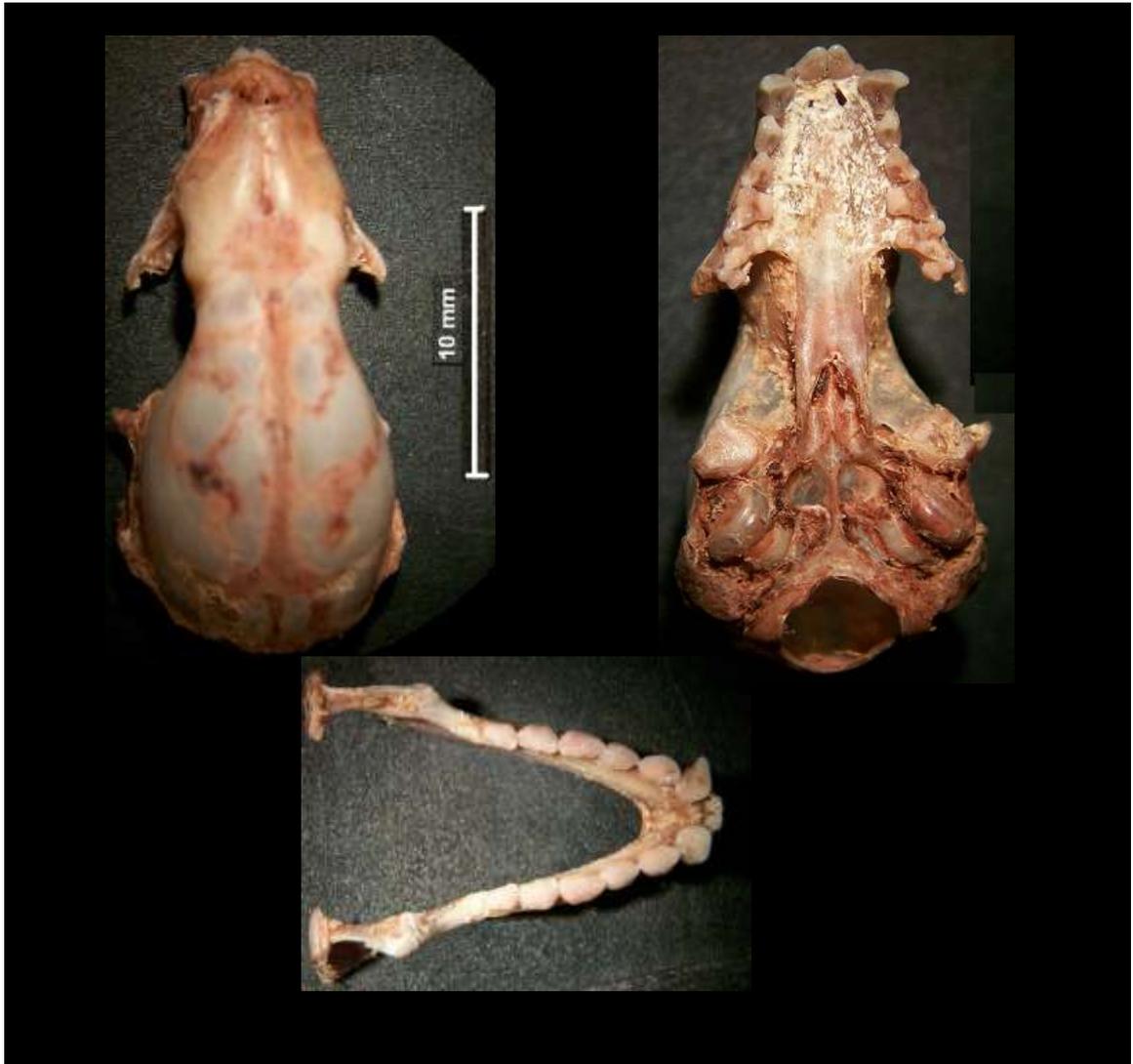
6.1.5 Diagnósis de *Carollia* especie. Presenta todas las características diagnósticas para la determinación del género *Carollia* Grey, 1838. *Carollia* especie se reconoce por las siguientes características específicas: tamaño grande, longitud mayor del cráneo entre 22.81 y 24,13 mm, longitud de la mandíbula entre 15.09 mm y 16.15 mm. El pelaje es largo y opaco, de color pardo claro a pardo oscuro con cuatro bandas bien definidas. El uropatagio es grande y totalmente desnudo, una pequeña cola que varía en número de vertebras (2 a 3) es evidente.

La caja craneana es alargada, robusta y levemente abombada, rostro largo y ancho, región anterorbital abombada, región interorbital robusta. Apófisis lacrimales grandes, maxilar robusto, nasales elevados. Cresta sagital alta, escotadura del pterigoides en forma de V no muy entrante. Cresta lambdoidea forma una T cuando se une con la cresta sagital, vestigios de arco zigomático gruesos, basisfenoides alto. Cóndilo occipital ancho, foramen magnum alto y grande. Incisivos centrales superiores largos y robustos, proyectados hacia adelante. Caninos superiores largos levemente proyectados hacia afuera de la línea dental, singula anterior de PM1 delgada sobrepuesta levemente sobre la cúspide posterior del C1 en la parte bucal. Cúspide posterior de M3 robusta, en vista dorsal sobresale y se observa localizada en la parte posterior del maxilar formando un ángulo aproximadamente recto con la cúspide anterior del mismo molar.

Sin diastema entre PM1 y PM2. Singula anterior de PM2 muy pronunciada y sobrepuesta sobre parte posterior de PM1. Cúspide posterior de PM2 dirigido hacia la parte bucal y desalineado del resto de dientes topando con la parte basal de M1. Molares anchos y gruesos, con las cúspides dirigidas hacia la parte lingual,

protocóno de M2 redondeado. Piezas dentales inferiores grandes y robustas, con las cúspides paralelas entre sí, incisivos centrales inferiores gruesos y mas grandes que los laterales, sin diastemas entre premolares inferiores muy cerrados, cúspides linguales de molares inferiores robustas y pronunciadas hacia la parte medial-lingual (Figura 11).

Figura 11. Vistas superior y ventral del cráneo del holotipo de *Carollia* especie (EK053).



6.1.6 Descripción de *Carollia* especie. Es de tamaño grande, antebrazo entre 38.0 y 43.6 mm. El pelaje es largo y opaco, de color pardo claro a pardo oscuro con cuatro bandas bien definidas, banda basal delgada de color blanco, banda pardo oscura más gruesa que la basal, tercera banda ancha de color blanco y puntas del pelo de color pardo claro u oscuro. Pelaje ventral con tres bandas, banda basal pardo grisácea, banda media pardo blancuzca y puntas del pelo pardo oscuro a pardo claro. Antebrazo cubierto de pelos pardo claro en la parte basal. El uropatagio es grande y totalmente desnudo, sin orla de pelos en el borde. Cola pequeña compuesta de dos a tres vértebras (Anexo A). Pinnas largas y anchas. Parte dorsal inferior desprovista de pelos entre 4 y 6 mm.

La caja craneana es alargada, robusta y levemente abombada, rostro largo y ancho (Figura 12 Aa). Rostro largo y ancho, región anterorbital abombada, región interorbital robusta. Apófisis lacrimales grandes, maxilar robusto (Figura 12 Ba, Ca). Cresta sagital alta, escotadura del pterigoides en forma de V no muy entrante. Vestigios de arco zigomático gruesos, basisfenoides alto. Cóndilo occipital ancho, foramen magnum alto y grande. Piezas molares robustas y largas, Incisivos centrales superiores largos y robustos, proyectados hacia adelante. Caninos superiores largos levemente proyectados hacia afuera de la línea dental (Figura 13 Aa), singula anterior de PM1 delgada sobrepuesta levemente sobre la cúspide posterior del C1 en la parte bucal (Figura 14 Ea).

Sin diastema entre PM1 y PM2 (Figura 11). Cúspide del PM2 casi simétrica y triangular (Figuras 14 Aa y 15 Ea). Cúspide posterior de M3 robusta, en vista dorsal sobresale y se observa situada en la parte posterior del maxilar formando casi un ángulo recto con la cúspide anterior del mismo molar (Figura 14 Fa). Molares superiores anchos y gruesos, con las cúspides dirigidas hacia la parte lingual (Figura 14 Da), protocóno de M2 redondeado (Figura 13 Ca), parte posterior del paladar es ancho y corto (Figura 13 Ba). Piezas dentales inferiores grandes y robustas, con las cúspides paralelas entre sí, incisivos centrales inferiores gruesos y más grandes que los laterales, sin diastemas entre premolares inferiores muy cerrados, cúspides linguales de molares inferiores robustas y pronunciadas hacia la parte medial-lingual. Mandíbula en forma de U, ramos gruesos, proceso coronoide alto y de forma triangular de lados casi simétricos, en vista oclusal paralelos (Figura 11).

Figura 12. Morfología craneal. A: cráneo. B: apófisis lacrimales. C: Maxilar. a. *Carollia* especie. b. *Carollia perspicillata*. c. *Carollia brevicauda*. En *Carollia* especie el cráneo es alargado, robusto y levemente abombado, en vista dorsal las apófisis lacrimales son grandes y el maxilar robusto.

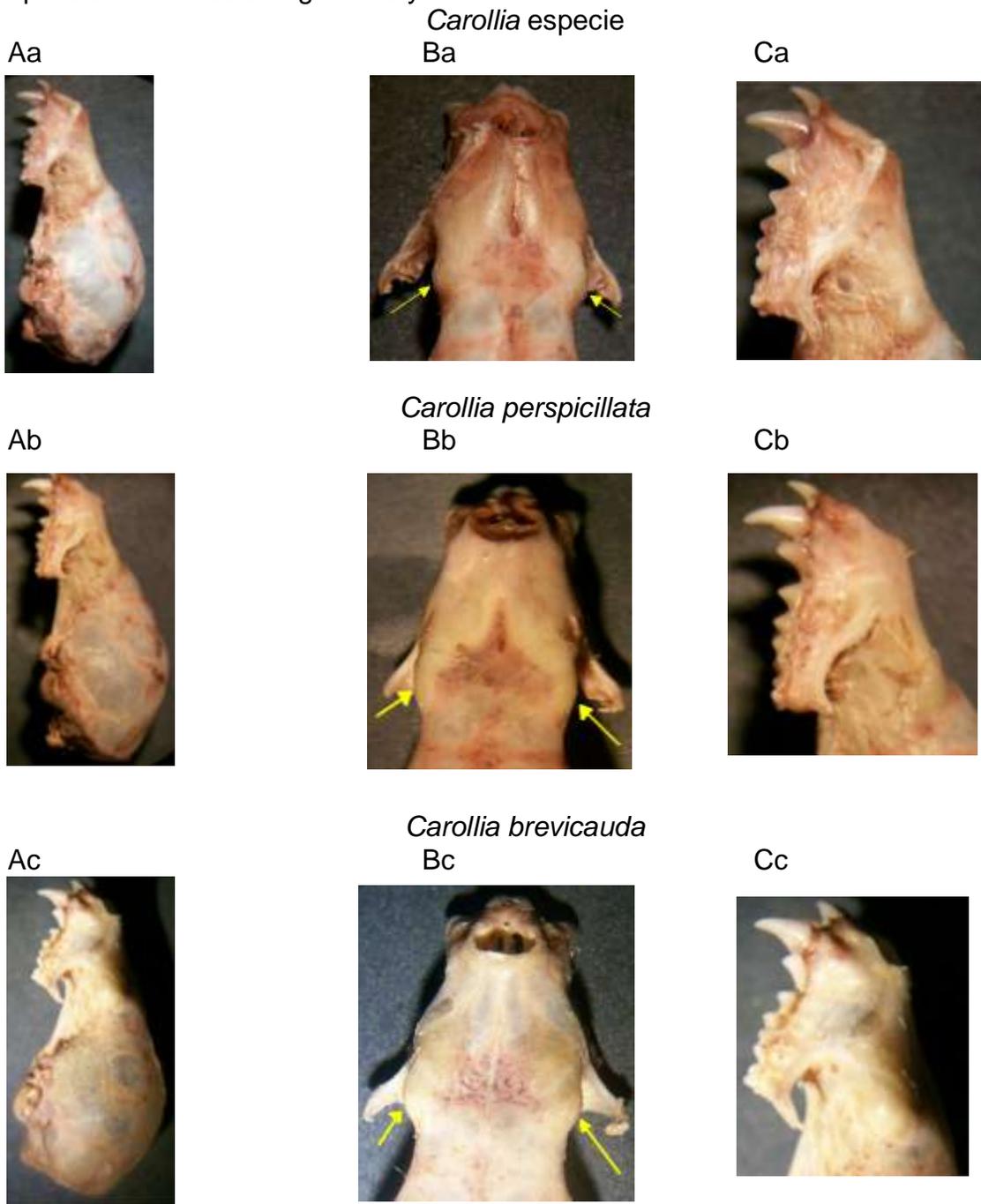


Figura 13. Morfología dental. A: Caninos. B: Parte posterior del paladar. C: Protocóno M2. a. *Carollia* especie. b. *Carollia perspicillata*. c. *Carollia brevicauda*. En *Carollia* especie los caninos son largos y robustos, la parte posterior del paladar es ancho y corto, en vista dorsal el protocono de M2 redondo y prominente.

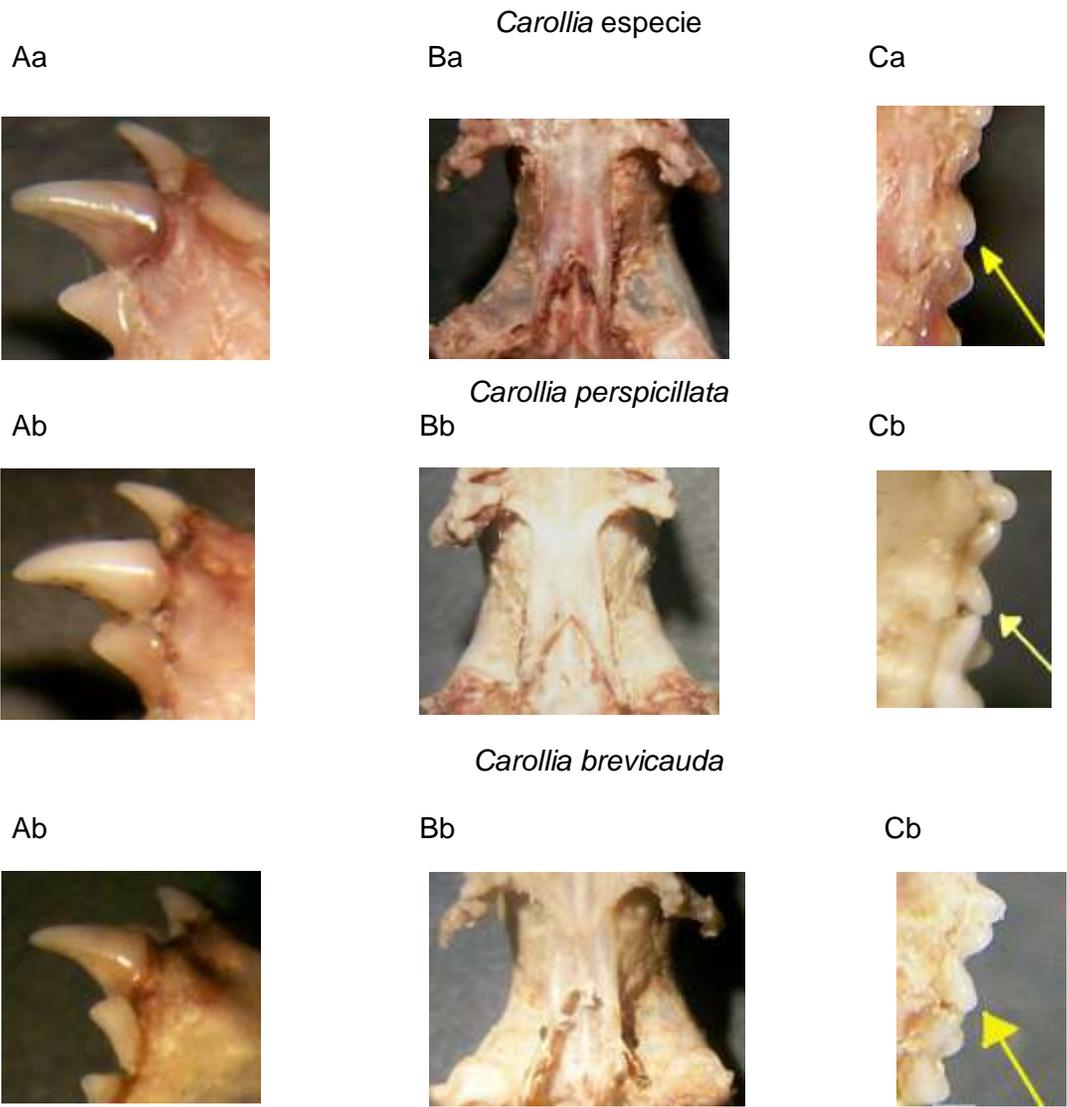
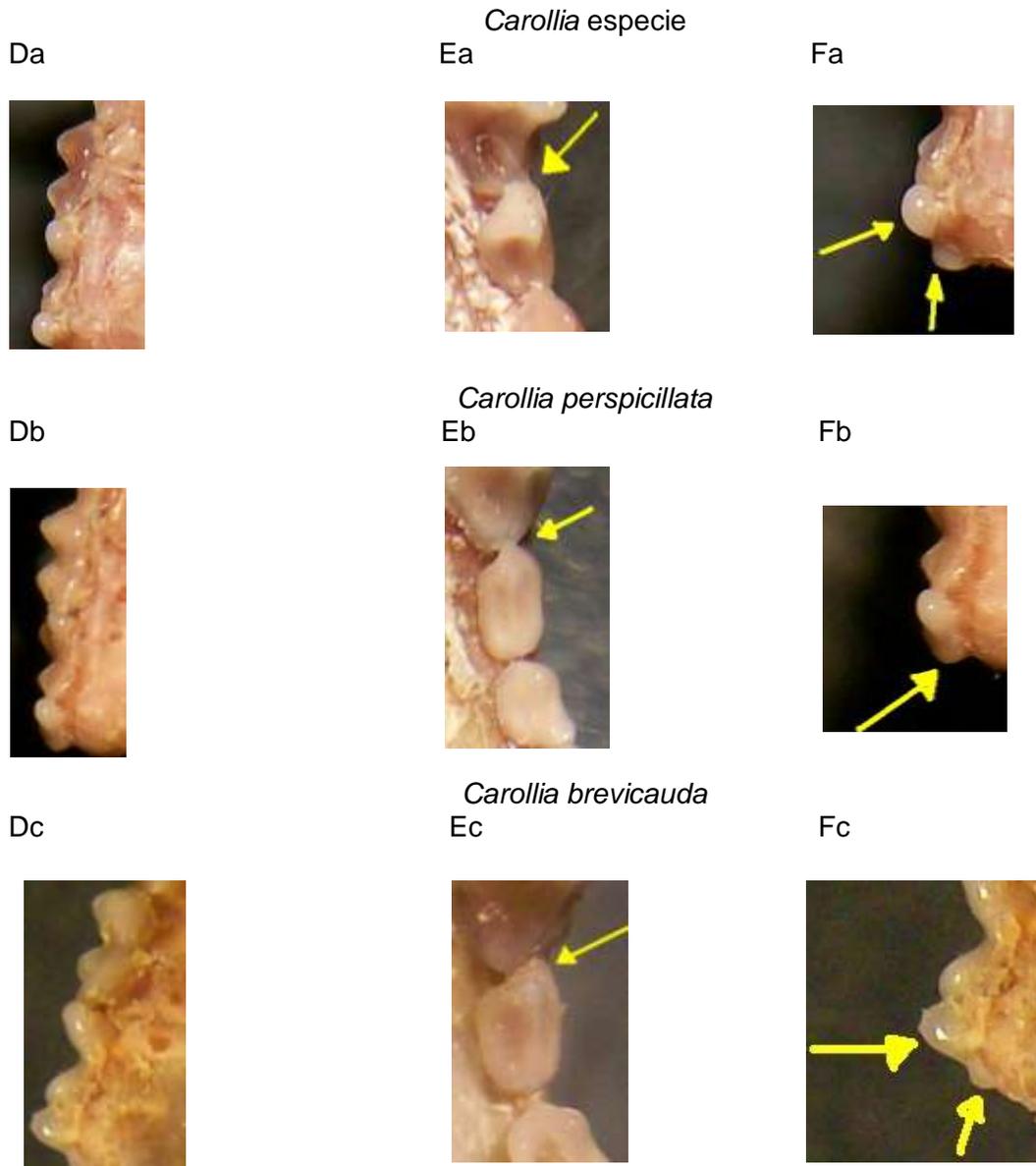


Figura 14. Morfología dental. D: Cúspides molares. E: PM1 y C1. F: Cúspide posterior del M3. a. *Carollia* especie. b. *Carollia perspicillata*. c. *Carollia brevicauda*. En *Carollia* especie, en vista dorsal las cúspides de los molares superiores son bajas y robustas. En vista oclusal la singular anterior del PM1 es delgada y sobrepuesta en la cúspide posterior del C1 en la parte bucal, y la cúspide posterior del M3 es robusta - en vista dorsal sobresale y forma casi un ángulo recto con cúspide anterior del mismo molar.



6.1.7 Comparaciones de *Carollia* especie con las otras especies de *Carollia*. *Carollia* especie presenta muchas diferencias con las especies de *Carollia* reportadas en Colombia. La menos disímil es *Carollia perspicillata* (Anexo C). Se provee la comparación de *Carollia* especie con muestras de poblaciones donde son simpátricas, asumiendo que esas poblaciones son adecuados representantes de las especies, intentando diferenciarlas de otras poblaciones conespecíficas, en la tabla 7 se muestra un resumen comparativo de aquellas características.

Usando solamente el tamaño y el color, *Carollia* especie es fácilmente diferenciable de pequeñas especies como *Carollia castanea* y *Carollia benkeithi*, *Carollia subrufa* y *Carollia sowellii* son restringidas a Centro América, estas son separables por características morfológicas y morfométricas cráneo-dentales y de pelaje (Solarí & Baker, 2006; Baker *et al*, 2002; Cloutier & Thomas, 1992; McLellan, 1984; Owen *et al*, 1984; Pine, 1972).

Comparada con *Carollia perspicillata*, *Carollia* especie puede ser distinguida externamente por que es de mayor tamaño, el pelaje compuesto de cuatro bandas, color pardo claro, antebrazo con pelaje abundante en la base, uropatagio más largo y con una leve entrada. *Carollia* especie es también diferenciada de *Carollia perspicillata*, por características cráneo dentales, por tener un cráneo de mayor tamaño, alto, robusto y largo.

En *Carollia* especie el PM1 en vista dorsal es casi simétrico y triangular, con la cúspide no proyectada hacia adelante. En *Carollia perspicillata* el PM1 no es simétrico y la cúspide esta levemente proyectada hacia adelante. Por tener una región interorbital ancha y unos procesos lacrimales muy pronunciados, maxilar ancho y oculta totalmente los molares en vista superior (Figuras 13 Ab, Bb, Cb).

Las piezas dentales son más robustas y largas, todos los incisivos superiores proyectados hacia adelante, incisivos centrales superiores redondeados, incisivos superiores laterales de menor tamaño que la base del canino. PM1 delgado en su vista oclusal, protocóno de M2 redondeada. Caninos inferiores más delgados y alargados, incisivos centrales largos y anchos, cúspides linguales se proyectan hacia la parte medial-lingual. Parte dorsal inferior desprovista de pelos entre 4 y 6 mm (Figuras 14 Ab, Bb, Cb; 15 Db, Eb, Fb).

Carollia especie se diferencia de *Carollia monohernandezii* por la ausencia de la tercera cúspide en M3. La presencia de las cuatro bandas en el pelaje las hace similares pero el orden no, banda basal delgada de color blanco, banda pardo oscura más gruesa que la basal, tercera banda ancha de color blanco y puntas del pelo de color pardo claro u oscuro, pero mas claro que *Carollia monohernandezii* (Muñoz *et al*, 2004).

Tabla 7. Comparaciones morfológicas entre cinco taxa de *Carollia* presentes en Colombia. El asterisco (*), indica aquellas especies presentes en Nariño.

Caracteres	<i>Carollia</i> sp.*	<i>Carollia brevicauda*</i>	<i>Carollia perspicillata*</i>	<i>Carollia castanea*</i>	<i>Carollia colombiana</i>	<i>Carollia monohernandezii</i>
Patrón de coloración	Castaño claro a castaño oscuro	Pardo claro, oscuro a negro	Pardo claro	Castaño chocolate a rufo	Pardo claro, oscuro a negro	Castaño claro
Número de bandas en el pelaje	4	3	3	3	Poco diferenciable	Poco diferenciable
Tamaño del uropatagio	Largo	Corto	Largo	Corto	Corto	Largo
Antebrazo con abundante pelaje	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
Tamaño de la cola	Corto (3-8 mm)	Largo (8-12 mm)	Largo (8-14 mm)	Largo (9-12 mm)	Largo (10 mm)	Largo (11 mm)
Parte dorsal inferior	Sin pelaje (4 y 6 mm)	Con pelaje				
Cráneo	Alto, largo y robusto	Bajo y corto	Alto, largo y robusto	Alto y corto	Bajo y corto	Alto, corto y robusto
Forma del cráneo	Levemente abombado	Abombado	No abombado	Abombado	Abombado	No abombado
Diastema PM1-PM2	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
Caninos	Largos y robustos	Cortos y delgados	Largos y delgados	Cortos y robustos	Cortos y delgados	Largos y delgados
Escotadura del pterogiodes	Forma "V"	Forma "U"	Forma "V"	Forma "U"	Forma "U"	Forma "V"
Cúspide M3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Protocono M2	Redondeada y pronunciada	No redonda, ni tampoco pronunciada	No redonda, ni tampoco pronunciada	No redonda, ni tampoco pronunciada	No redonda, ni tampoco pronunciada	No redonda, ni tampoco pronunciada
Parte posterior del paladar	Ancho y corto	Ancho y corto	Largo y delgado	Ancho y corto	Ancho y corto	Largo y delgado
Cuspides de molares	Bajas	Bajas	Altas	Medianamente altas	Altas	Bajas

Cola corta y compuesta generalmente de 2 o 3 vertebras. *Carollia* especie es también diferenciada de *Carollia monohernandezii*, por presentar la parte posterior del paladar ancho y corto, línea mandibular dientes dirigidos hacia adentro y ninguno de los dientes están desviados de la línea dental. Parte dorsal inferior desprovista de pelos entre 4 y 6 mm.

Con *Carollia brevicauda* y *Carollia colombiana*, el tamaño de *Carollia* especie es mucho mayor, el pelaje dorsal es pardo claro u oscuro, antebrazo con muchas vellosidades en la base. Cola corta y compuesta generalmente de 2 o 3 vertebras. Parte dorsal inferior desprovista de pelos entre 4 y 6 mm. Craneo largo, abombado y robusto, maxilar robusto, nasales elevados, escotadura del pterigoides en forma de V. Piezas dentales gruesas y grandes, sin diastema entre PM1 y PM2 (Muñoz *et al*, 2004; Cuartas *et al*, 2001; Albuja, 1999), lateralmente la singular del canino eclipsa a los incisivos laterales. Mandíbula larga y gruesa, con las cúspides altas, proceso condilar ancho y recto (Figuras 13 Ac, Bc, Cc; 14 Ac, Bc, Cc; 15 Dc, Ec, Fc). En *Carollia* sp el PM1 en vista dorsal es casi simétrico y triangular, con la cúspide no proyectada hacia adelante. En *Carollia brevicauda* el PM1 no es simétrico y la cúspide esta muy proyectada hacia adelante.

No se logró examinar especímenes de *Carollia manu*, sin embargo varias características permiten diferenciar (Pacheco *et al*, 2004) a *Carollia* especie de *Carollia manu*, el tamaño del antebrazo es menor, el pelaje es tricoloreado en *Carollia manu*, mientras que es tetracoloreado en *Carollia* especie, rostro largo y ancho, incisivos superiores largos y robustos proyectados hacia adelante, protocóno de M2 redondeado son caracteres determinantes en *Carollia* sp.

6.1.8 Implicaciones taxonómicas. El reconocimiento de *Carollia perspicillata* como una especie que agrupa a varios taxa y la identificación de una especie innominada dentro de este complejo, sugiere considerar la existencia de un nombre aplicable a la nueva especie. Luego de comparar los especímenes con otros de poblaciones de *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata*, *Carollia castanea*, *Carollia colombiana* y *Carollia monohernandezii* se pudo determinar que los ejemplares colectados en Nariño pertenecen a los dos primeros taxa y se determinó uno indefinido.

De acuerdo a la revisión de literatura, las poblaciones de *Carollia* de Nariño no representan a ninguna de las otras especies descritas. *Carollia benkeithi* es mas afín a *Carollia castanea*, son especies de pequeño tamaño y el color castaño característico las diferencia de todas las demás especies del genero. *Carollia sowersi* y *Carollia subrufa* muy afines a *Carollia brevicauda* presentan un mediano tamaño dentro del genero y están restringidas a Centro América. Las medidas de especímenes de *Carollia* especie de Nariño presentan diferencias en LMC ($23,29 \pm 0,37$), EXM1-M1 (6,97), EXM2-M2 ($7,77 \pm 0,24$), CC ($5,27 \pm 0,16$), INM1-M1 ($3,92 \pm 0,1$), INM2-M2 ($4,49 \pm 0,1$), INM3-M3 ($6,32 \pm 0,09$), EXM3-M3 ($8,41 \pm 0,15$), INPM2-PM2 ($4,03 \pm 0,15$), DEPM1-PM1 ($5,3 \pm 0,1$), PPM2-PM2 ($4,62 \pm 0,17$), PAM3-M3 ($6,49 \pm 0,15$), LHDS ($6,33 \pm 0,09$), LMAN ($15,52 \pm 0,27$), LHC ($7,11 \pm 0,13$).

Mientras que los ejemplares de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* de Nariño concuerdan morfométrica y morfológicamente con otros del Valle del Cauca, Risaralda y Piedemonte Pacífico de Nariño, los especímenes de *Carollia* especie son de mayor tamaño, lo cual los separa de cualquiera de los otros nombres disponibles. En medidas estándar como lo son antebrazo (AB) y longitud del pie (Lpie) no se notaron diferencias que caractericen a *Carollia* especie (Anexo C). Ningún nombre previamente descrito se refiere a una especie con estas características, por lo que se considera a las poblaciones de la especie indeterminada como representativas de una posible nueva especie.

Con los resultados obtenidos en este reporte, la diversidad de *Carollia* se incrementaría a 11 especies y estaría compuesta por: *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata*, *Carollia castanea*, *Carollia subrufa*, *Carollia benkeithi*, *Carollia sowellii*, *Carollia manu*, *Carollia* especie del lado occidente de los Andes y en la Amazonia Peruana (*Sensu Carollia castanea*; Solari & Baker, 2006), de Colombia *Carollia monohernandezii*, *Carollia colombiana* y finalmente *Carollia* especie indeterminada del suroccidente Colombiano (Nariño).

La distribución del género *Carollia* en los Andes posiblemente sea un indicio del importante rol que ha cumplido en la evolución de las distintas especies del género, esto ha sido estudiado y reportado para otros género como *Sturnira* (Pacheco & Patterson, 1992), *Anoura* (Mantilla & Baker, 2006) y *Artibeus* (Patterson *et al*,---). Los tres géneros de murciélagos nombrados (*Sturnira*, *Anoura* y *Artibeus*) son objeto de continuo estudio al igual que el género *Carollia*, en ellos los efectos del levantamiento de los Andes provocaron poblaciones aisladas y con ello la aparición de poblaciones endémicas, dicho fenómeno puede ser también contemplado en la notable variación morfológica que presentan sus poblaciones, es decir algunas especies de estos géneros presentan patrones claros de variación geográfica lo cual ha dificultado la resolución final de los problemas taxonómicos.

Al presentarse fenómenos pleiotrópicos en las especies de *Carollia* y los otros géneros de murciélagos tropicales, es la revisión continua de los ejemplares y exploración de sitios, de donde no cuenta con ningún ejemplar, lo que permitirá aclarar la taxonomía alfa de muchos grupos y aproximarse al conocimiento de la diversidad real de un sitio.

6.2 CAPITULO II. ATRIBUTOS CITOGENETICOS DE
Carollia brevicauda, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie

6.2.1 Estandarización del protocolo de obtención de cromosomas. Según los artículos base se debe inyectar el mitógeno en dos dosis, la primera en el tiempo cero, y otra a las 24 horas, para sacrificar el espécimen luego de 48 horas; de acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 8), los individuos pertenecientes al Genero *Carollia* de las poblaciones de donde se obtuvo las muestras no soportan una segunda inyección del estimulador mitótico, debido posiblemente a que el sistema inmunológico del murciélago no puede dar una respuesta efectiva a la infección generada, produciéndose un aumento del índice de estimulación, pero ocasionando la muerte del individuo (Santos, 2001).

Para el caso del experimento sin mitógeno, los valores del índice de estimulación (I.E.) fueron bajos con respecto a los obtenidos luego de 24 horas de la inyección, ya que sin el estimulador de crecimiento celular (el cultivo de levadura inyectado) o con un bajo tiempo de sacrificio después de la estimulación, no se genera la respuesta del sistema inmunológico del animal por la ausencia de infección (Baker *et al.* 2003), manteniéndose las condiciones metabólicas normales de los ejemplares.

Tabla 8. Valores de Índice de Estimulación, obtenidas luego de las inyecciones con el agente mitógeno.

PERIODO DE ESTIMULACIÓN (Horas)	ÍNDICE DE ESTIMULACIÓN (%)
0	7.3
24	52.3
48	67.2

Se resalta como punto importante, que durante el tiempo de exposición de los murciélagos a la levadura, a estos se les administro alimento (Fruta), el cual lo tomaron de manera normal. Fue necesario que los especímenes continúen alimentándose, con el fin de suministrarles fuentes bioquímicas básicas para que sintetizen los factores de mantenimiento, tales como proteínas transportadoras de lípidos y otras biomoléculas; y a la vez que estas continúen en su equilibrio normal.

Por el contrario si las fuentes de alimento pierden su equilibrio la cantidad de nutrientes en las células disminuye provocando inanición, inactivando la fase de síntesis en el ciclo celular y con ello disminuyendo el índice de estimulación celular (Mahecha, 1998), que dificulta la observación de cromosomas óptimos para la cariotipificación.

Después de evaluar la anterior variable y haber elegido estimular durante 24 horas a los murciélagos con el cultivo de levadura, se procedió a experimentar el número de lavados de la suspensión celular, teniendo en cuenta que este paso inicia luego de haber incubado el botón celular con solución hipotónica (KCl 0.075M) a 37°C durante 15 minutos y centrifugar; de este paso se concluyo que solamente es necesario 1 lavado para la obtención de metafases con cromosomas separados.

Dentro de los resultados mostrados en la tabla 9, los mayores valores para la primera y segunda categoría de separación de cromosomas están con 1 lavado y 2 respectivamente, pero teniendo en cuenta, que en la observación de metafases para la determinación correcta de cariotipos, según criterios de Descailleaux *et al* (1979) es necesario valorar solamente aquellas metafases que presenten cromosomas bien dispersos, completos y definidos morfológicamente, es decir de tipo 1, según observaciones realizadas en laboratorio un solo lavado mostró ser suficiente para generar células metafásicas completas y con un correcto conjunto cromosómico.

Tabla 9. Grado de separación de los cromosomas en las metafases observadas para cada número de lavados, después de la incubación con solución hipotónica.

NUMERO DE LAVADOS	GRADO DE SEPARACIÓN (%)		
	1	2	3
0	0	26.3	73.7
1	69.8	21.7	8.5
2	34.1	59.7	6.2

La baja cantidad de células que con 0 y 2 lavados pudieran ser catalogadas como tipo 1, posiblemente se debe a que las células tienen un punto óptimo de equilibrio osmótico (Jiménez, 2000); al no realizar el lavado, el tiempo de incubación no es suficiente para romper este equilibrio y hacer que las células se hidraten; por otra parte cuando se realizó dos lavados las células se lisaron, lo cual se evidenció con una alta cantidad de membranas celulares y cromosomas envueltos en residuos celulares.

Otra variable importante tomada en cuenta fue el número de fijaciones que se deben realizar al trabajar con muestras de médula ósea de murciélagos del género *Carollia*. Como se muestra en la tabla 10, es necesario realizar 1 prefijado y 2 fijaciones (tenido en cuenta en la tabla como 3 fijaciones), con el fin de obtener cromosomas bien definidos morfológicamente, es decir cromosomas de Grado 1.

La morfología de los cromosomas se tiene en cuenta en el momento de realizar el apareamiento de los cromosomas en el ideograma, de ahí que sea necesario buscar un número adecuado en las fijaciones.

Según, los resultados el porcentaje más alto para el Grado 1 se obtiene con tres fijaciones (1 prefijación más 2 fijaciones), se logró esto posiblemente porque se encontró el tiempo de exposición al Carnoy que no genera la pérdida de proteínas histónicas y no histónicas las cuales están relacionadas con la estructura del cromosoma, la generación de bordes irregulares se ha visto en

técnicas de bandeado cuando el cambio de pH (muy ácido o alcalino) y el tiempo de exposición, disminuye el porcentaje de las proteínas que empaquetan el DNA (Burkholder & Duezek, 1982).

Tabla 10. Aspecto morfológico de los cromosomas observados en las metafases, durante la prueba en el número de fijaciones.

NÚMERO DE FIJACIONES	MORFOLOGÍA DE LOS CROMOSOMAS (Porcentaje de metafases)		
	Grado 1	Grado 2	Grado 3
2	22.1	61.2	16.7
3	65.1	27.4	7.5
4	19.7	73.2	7.1

Las dos variables finales se ajustaron conforme se corrieron las pruebas para las otras variables, ya que las recomendaciones hechas por los autores de los protocolos base, no especifican valores en cuanto a la cantidad de Carnoy para la resuspensión y la altura de goteo. Aunque la resuspensión del botón celular depende en cierta medida de la cantidad de medula extraída.

Con respecto a la medula ósea de los húmeros de las especies estudiadas se recomienda usar 1 ml (Baker *et al*, 2003), con el fin de no obtener células juntas con cromosomas traslapados, lo cual ocurre generalmente cuando hay una alta concentración celular que facilita el choque de células vecinas, para minimizar errores en la determinación del número cromosómico real.

Luego de evaluar tres niveles de cantidad de Carnoy (Tabla 11) se determinó que un valor intermedio del índice metafásico (I.M.), es decir una nivel intermedio en la presencia de células metafásicas en la suspensión goteada, puede proveer material celular suficiente para definir cariotipos.

En la resuspensión con 0.5 ml se observó células juntas con cromosomas que exceden el número normal del género; para 1.5 ml la concentración celular en la placa fue baja y no permitió encontrar un buen número de células con cromosomas de características óptimas para la organización del cariotipo. Sin embargo, la cantidad de Carnoy utilizado para la resuspensión puede estar determinado por la cantidad de medula ósea obtenida.

La variable de altura de goteo se determinó al inicio de la experimentación de este estudio, ya que influye en la dispersión de los cromosomas (Baker, 1988), luego de ser fijada la altura se prosiguió con las demás variables. El Índice de Células con cromosomas encerrados en la membrana celular (IEMC) fue determinado contando el número de células con cromosomas encerrados después de cada altura de goteo, siendo necesaria una altura que involucre muchas células estalladas pero sin generar cromosomas traslapados.

Para el goteo se probaron tres alturas, siendo 2.7 m (IEMC 77.4%) la mas apropiada para la obtención de cromosomas dispersos y libres (fuera de la membrana celular), la altura que se comprobó, genera la fuerza suficiente para estallar las células y dispersar en la placa a los cromosomas, de ahí esta variable sea importante junto a la anterior variable analizada (resuspensión del botón celular). Con las otras dos alturas (1m: 28.3%IEMC; 2m: IEMC 54.2%), se obtuvo valores de IEMC bajos, lo cual no garantiza cromosomas limpios, es decir sin traslaparse o en el interior celular mal definidos.

Tabla 11. Índice metafísico obtenido a partir de la variación en la cantidad Carnoy para la resuspensión pre-goteo.

CANTIDAD DE CARNOY PARA RESUSPENSIÓN	ÍNDICE MITÓTICO (%)
0.5 ml	54.87
1 ml	49.52
1.5 ml	34.41

Los mejores resultados para realizar la caracterización de los cromosomas de las especies *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia* especie, se obtuvo estimulando el sistema inmunológico de los murciélagos con cultivo fresco de levadura durante 24 horas, empleando colchicina como inhibidor mitótico o de la polimerización de la tubulina (0.025 %, 0.01 ml por g de peso del individuo).

Empleando solución hipotónica de KCl 0.075 M durante la incubación de la suspensión celular (15 min a 37°C) y centrifugado a 1500 rpm por 5 minutos y luego en un lavado con centrifugado a 1500 rpm por 5 minutos, tres fijaciones es decir un prefijado y dos fijaciones puras con Carnoy fresco mantenido a baja temperatura (4°C), la resuspensión antes del goteo en 1 ml de Carnoy, el goteo a una altura de 2.7 m, y la tinción en Giemsa-Buffer Fosfato durante 8 minutos (Anexo G).

6.2.2 Estandarización del protocolo de obtención de bandas en cromosomas de *Carollia*.

- Bandas G (GTG). Este tipo de bandas es una herramienta usada para identificar y organizar cromosomas homólogos, al inicio de los ensayos en 5 minutos de exposición del extendido a la tripsina según el protocolo base de Howell y Black (1978), se obtuvo placas sin color que al ser revisadas con el aumento de 100x evidenciaba la presencia de células fantasmas o “ghost cells” denominas en materiales y métodos como nivel 4 (Tabla 4).

Con la disminución gradual del tiempo de exposición a tripsina y comparando los niveles obtenidos (nivel 4, nivel 3, nivel 2 y nivel 1) se pudo determinar que el nivel en el cual los cromosomas tienen mejores características fue células en nivel 2 con dos minutos de acción de la tripsina, para los niveles mayores la digestión con la enzima proteolítica a la cual se sometió el material celular tuvo una acción elevada destruyendo el material cromosómico, con esto la tinción

de Giemsa no pudo reaccionar y generar coloración por la ausencia de material cromosómico.

La elevada acción de la tripsina es una variable que debe ser controlada y determina para obtener correctos bandeamientos, los resultados obtenidos concuerdan con observaciones realizadas por Seabright (1972), quien recomienda que el sometimiento de los extendidos cromosómicos a tripsina debe ser muy bien controlado y el tiempo de exposición debe disminuirse si se quieren obtener cromosomas con bandas claras.

El menor tiempo de acción de tripsina tenido en cuenta fue 1 minuto, en el cual se obtuvo células de nivel 1 caracterizadas por estar oscuras y sin bandas identificables. De acuerdo a Howell y Black (1978), un tiempo bajo de exposición a la tripsina ocasiona una coloración homogénea similar a la convencional sin tratamiento, razón por la cual se determinó no disminuir el tiempo de acción de la tripsina y utilizar el protocolo aplicado en la obtención de células en nivel 2, ya que se logró obtener bandas distinguibles y analizables en comparación con los otros niveles.

La presencia de este tipo de bandas se debe a la presencia de regiones ricas en arginina y a la distribución de los distintos tipos de proteínas en los cromosomas las cuales por las características bioquímicas no son digeridas por la proteasa tripsina. Además, el bandeo también ocurre debido a que los cromosomas metafásicos contienen una estructura cromomérica básica que es resaltada con la exposición a la tripsina y los buffers de Hank's (Howell y Black, 1978).

El tiempo de finalización exacto de exposición a la tripsina, fue controlado con el lavado de agua desionizada, que además de quitar la tripsina, ajusta el pH evitando la continuidad en su acción. Con las modificaciones realizadas, el protocolo utilizado en la obtención de bandas G para placas de 4 semanas de envejecimiento consiste en exponer las placas a solución de Tripsina mas buffer de Hank's (20 °C) durante 2 minutos, controlando la constancia de la temperatura. Se debe lavar con agua desionizada durante 5 segundos y luego sumergir las placas en solución de Hank's mas calcio-magnesio rojo de fenol durante 30 segundos a 20°C. Luego se tiñe con solución de Giemsa y buffer fosfato al 3%.

- Bandas C (CBG). Este tipo de bandas es útil para identificar regiones compuestas por heterocromatina, en el ensayo se controló dos variables, la intensidad de la tinción como medida de la exposición al Ba(OH)₂ y la forma o generación de hinchamiento en los cromosomas para evaluar tiempo de exposición a la solución citrada de Sodio (2XSSC) . El protocolo de Howell y Black (1978), recomienda exponer las placas al Hidróxido de Bario entre 7 a 8 minutos y luego revisar para determinar el tiempo de acción del reactivo, para la solución de 2XSSC en el protocolo se recomienda exponer las placas durante 1 hora.

De acuerdo con las experimentaciones realizadas en este estudio, en cambios de tiempos y nivel en la calidad de coloración de los cromosomas (Tabla 5) durante la exposición de las placas a los dos reactivos se determinó que los mejores tiempos, cualificados como nivel 2, son 30 segundos para Ba(OH)₂ y 30 minutos en 2XSSC.

La acción del hidróxido de bario consiste en teñir la heterocromatina de los cromosomas, la producción de bandas de este tipo se debe a que en las zonas negativas se pierde DNA por desnaturalización ocasionada por el ácido y el álcalis, seguida de fragmentación y remoción cuando se le adiciona la solución de salina citratada (Comings, 1978), las consecuencias de las acciones prolongadas de cualquiera de los dos reactivos generan cromosomas como los niveles 3, 4 y 5 (Tabla 5), es decir cromosomas hinchados y casi imperceptibles sobre la lamina tratada.

El bandeado C es una herramienta útil para la investigación de rearrreglos cromosómicos cercanos al centrómero y útil en la investigación de polimorfismos, por lo tanto la falta de ensayos en la estandarización de tiempos de exposición a los distintos reactivos genera resultados de difícil interpretación, o la pérdida de material por la desaparición total de los extendidos cromosómicos sobre las placas. La dificultad en la realización de este protocolo radica en el control de temperatura de reactivos como el Hidróxido de Bario, ya que al ser de difícil solubilidad en el agua es necesario incrementar la temperatura del medio de solución de este para garantizar un mayor efecto sobre las placas a tratar (Baker, 1988).

De acuerdo a los protocolos revisados la concentración y tiempo de la tinción de Giemsa es mayor que la convencional y que la utilizada para las bandas G, esto se explica en la necesidad de incrementar la acción del colorante de Giemsa sobre los cromosomas con segmentos desnaturalizados y removidos.

El protocolo utilizado y obtenido con las modificaciones necesarias para placas de 5 semanas de envejecimiento consiste en sumergir la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente en HCl, luego lavar con agua desionizada, e incubar durante 30 segundos a una temperatura de 56°C en Ba(OH)₂, lavar rápidamente y sumergir durante 30 minutos a 53°C en SXSSC, inmediatamente pasa el tiempo lavar y finalmente dejar secar al aire para teñir con solución de Giemsa y Buffer fosfato-agua destilada al 5%.

6.2.3 Características cariológicas de *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie

Número cromosómico. Por las dificultades en el transporte de ejemplares vivos desde los sitios de muestreo y las inestables condiciones de cautiverio de los murciélagos del genero *Carollia*, de un total de 63 individuos, doce fueron los tenidos en cuenta para el análisis cromosómico. Para el manejo y cuidado de los individuos se tuvo en cuenta los procedimientos del "Animal Care and Use Committee" (1998). Los doce individuos fueron colectados en municipios de

Nariño, Suroccidente de Colombia. Las localidades fueron Ancuya y Chachagüi. En campo se les asignaba el código, un nombre científico acercado a la definición morfológica y el sexo morfológico (Tabla 12).

Según los resultados del análisis morfológico y morfométrico en la muestra de 12 individuos se presentan *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie, la cual tiene una alta variabilidad en las piezas dentales y no pertenece a ninguna de las especies de *Carollia* reconocida hasta ahora.

Para la determinación de los números cromosómicos se contaron un total de 487 células pertenecientes a 12 individuos, nueve (9) de ellos presentaron un conjunto cromosómico $2n=20$ (Tabla 12), de estos nueve (9) individuos uno (1) es morfológicamente macho el cual debería tener un conjunto $2n=21$ propio de los machos en el género *Carollia*, mas adelante se discute este resultado.

Los otros tres (3) ejemplares mostraron caracteres morfológicos típicos de individuos machos, lo cual estuvo de acuerdo con el conjunto cromosómico $2n=21$ evaluado en ellos. En este estudio se contó con ocho (8) hembras representantes de las tres especies y cuatro (4) machos. Los cuatro machos pertenecen, tres (3) a muestras de poblaciones de *Carollia perspicillata* y un (1) ejemplar macho de *Carollia* especie (Tabla 12).

En el género *Carollia* el número cromosómico se encuentra entre un $2n=20$ y $2n=22$ dependiendo de la especie y el sexo al que pertenezca el individuo, para las especies *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* el número cromosómico ha sido reportado como $2n=20$ para hembras y $2n=21$ para machos. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que las poblaciones de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* conservan normalidad en cuanto al número cromosómico reportado por otros investigadores (Stock, 1975; Cloutier & Thomas, 1992; Patton & Garder, 1971).

La ejemplares indeterminados de *Carollia* (*Carollia* especie) de Nariño, comparte el número cromosómico de las hembras ($2n=20$) con las otras dos especies de *Carollia*, sin embargo para el individuo macho el número cromosómico es $2n=20$, lo cual implica la inexistencia de dimorfismo sexual en el número cromosómico (Figura 15 y 16).

El individuo macho de *Carollia* especie no comparte el número cromosómico con sus congéneres, número cromosómico que podría identificar a toda la población. La variación inter-específica del número cromosómico ha sido reportado y utilizado para la caracterización de especies de murciélagos (Hood *et al*, 1988) e inclusive de una especie en el género *Carollia* (Baker *et al*, 2002), por lo cual este carácter podría ser tenido en cuenta dentro de la caracterización de la especie, aunque necesita ser confrontado con los de otros ejemplares de la misma especie para ser validado. Cabe aclarar que el número cromosómico fue obtenido a partir de 10 células mitóticas (Tabla 12), número mínimo para la identificación de números cromosómicos (Descailleaux *et al*, 1979; Haynie *et al*, 2006).

Tabla 12. Datos de los ejemplares empleados para el análisis citogenético de las especie *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie. (Convenciones EK: define el código del colector, los números indican la serie de colecta. H: hembra y M: macho).

Código	Especie	Localidad	Sexo Morfológico
EK009	<i>Carollia</i> especie	Chachagüi	H
EK050	<i>Carollia perspicillata</i>	Chachagüi	H
EK051	<i>Carollia</i> especie	Chachagüi	H
EK052	<i>Carollia perspicillata</i>	Chachagüi	H
EK053	<i>Carollia</i> especie	Chachagüi	M
EK054	<i>Carollia perspicillata</i>	Chachagüi	M
EK056	<i>Carollia perspicillata</i>	Chachagüi	H
EK057	<i>Carollia perspicillata</i>	Chachagüi	M
EK058	<i>Carollia brevicauda</i>	Chachagüi	H
EK070	<i>Carollia</i> especie	Chachagüi	H
EK071	<i>Carollia</i> especie	Ancuya	H
EK072	<i>Carollia perspicillata</i>	Ancuya	M

Figura 15. Cariotipo de un individuo macho de *Carollia* especie de Cimarrones, Cachagüi, Nariño, Colombia (EK053). Arriba: Cariotipo. Tinción convencional. Abajo: Cariotipo 2. Tinción bandas G, digestión con tripsina.

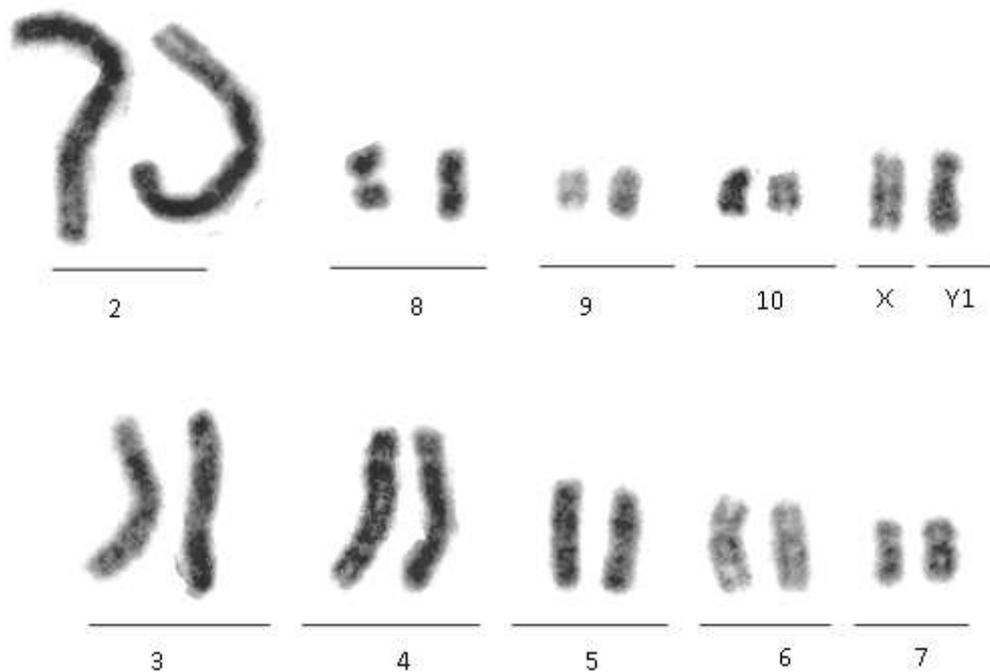
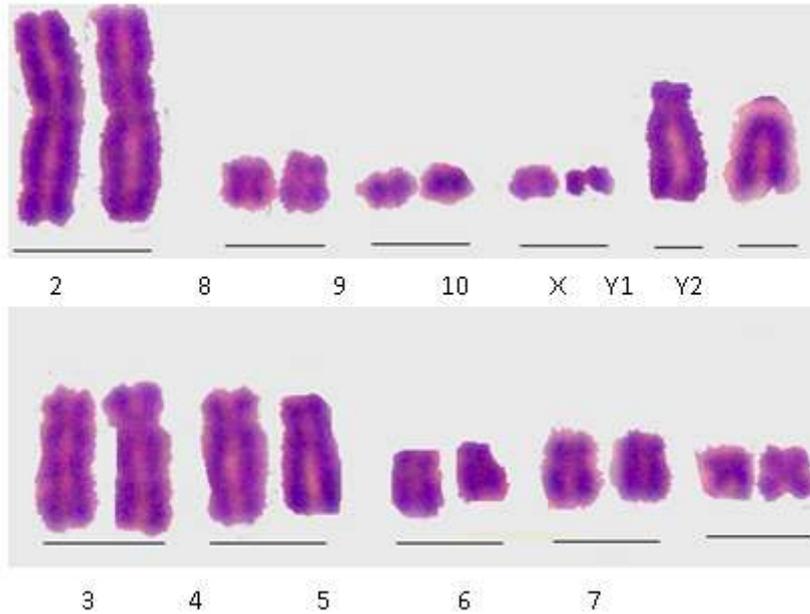
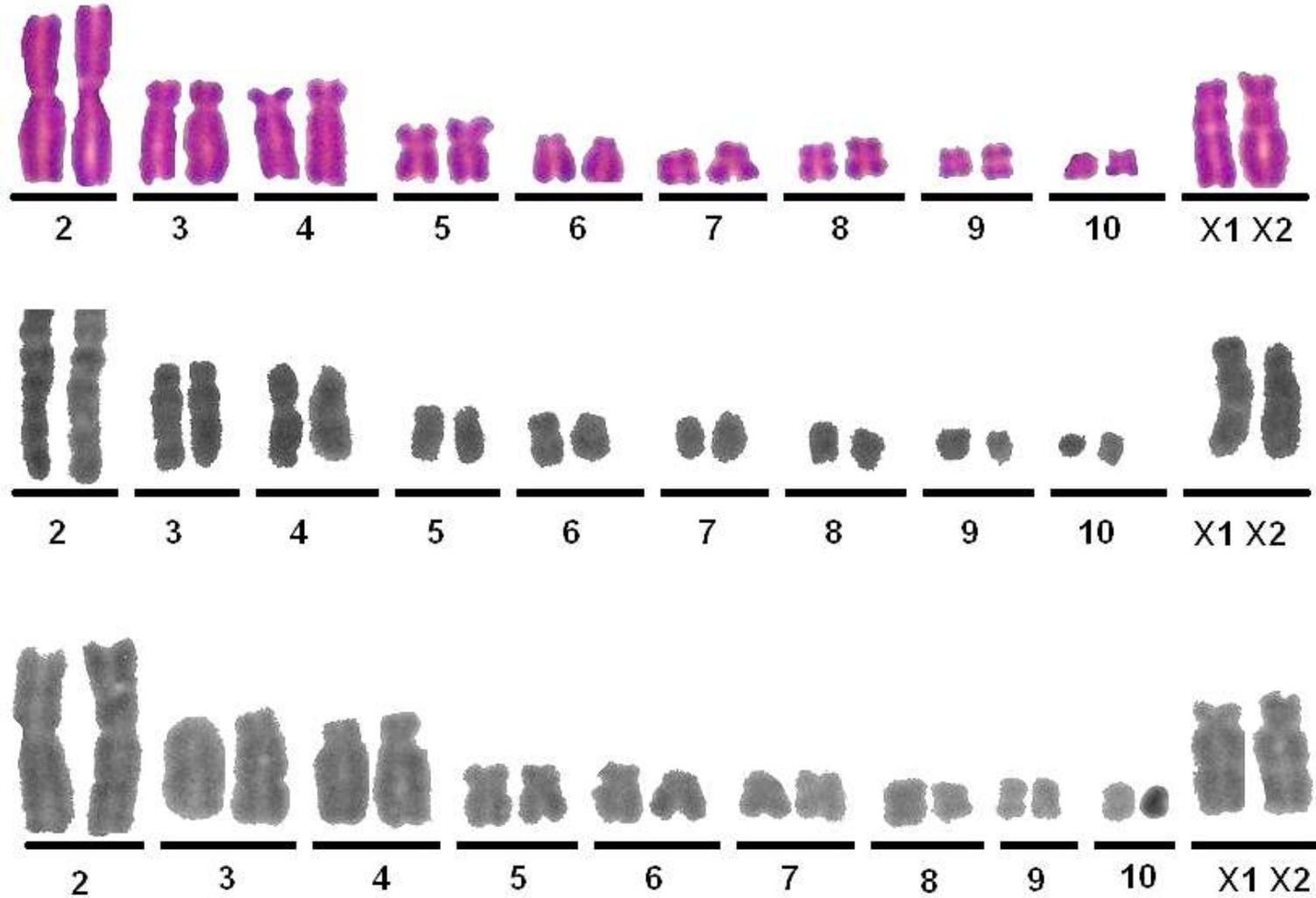


Figura 16. Cariotipo de individuo hembra de *Carollia* sp. (Cimarrones, Cachagüi, Nariño, Colombia) (EK051). Arriba: Cariotipo. Tinción convencional. Parte media: Cariotipo 2. Tinción Bandas G. Abajo: Cariotipo 3. Tinción bandas



Las hembras de *Carollia* especie presentan una característica particular que correspondería en complemento con el número cromosómico de los machos, para esta especie de acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio las hembras presentan cromosomas sexuales con constricciones secundarias (Figura 16).

Para otras especies de *Carollia* este carácter no ha sido reportado, sin embargo algunos autores (Stock, 1975; Cloutier & Thomas, 1992; Patton & Garder, 1971) reportan la existencia de una constricción secundaria en el cromosoma sexual X de los machos de *Carollia perspicillata*, la existencia de dos constricciones en las hembras implica la presencia de genes repetidos en esas zonas que posiblemente se unieron tras los reordenamientos cromosómicos de la especie durante el proceso de una posible hibridación en la evolución de la especie (Hood *et al*, 1988). La presencia de las constricciones es un carácter que desde la taxonomía puede ayudar a validar y reconocer la especie indeterminada.

El número cromosómico ancestral del genero *Carollia*, es el portado por *Carollia benkeithi* ($2n=22$), la cual presenta una reversión al carácter inicial del genero o la traslocación doble de X (Solari & Baker, 2006). Para el caso de *Carollia* especie la diferenciación de un nuevo cariotipo para los machos, puede deberse a la fusión del cromosoma acrocéntricos como fenómeno de evolución provocando la disminución del conjunto cromosómico (Figura 15). Los reordenamientos cromosómicos que implican una fusión céntrica de dos cromosomas, en este caso, acrocéntricos (Acrocéntrico grande Y1 y acrocéntrico pequeño Y2 para los individuos macho de las otras especies de *Carollia*), para formar un submetacentrico (SM) son conocidas como fusiones Robertsonianas (Gibson, 1984).

Las fusiones robertsonianas en murciélagos representan uno de los mecanismos de evolución cromosómica, relacionada estrechamente con cambios cromosómicos y cambios morfológicos (Wetterer, 2000). Dentro de la familia Phyllostomidae, el mecanismo Robertsoniano ha generado cambios intraespecíficos e interespecíficos del conjunto cromosómico en géneros como *Macrotus*, *Uroderma*, *Vampyressa* y *Micronycteris* (Bickman & Baker, ---), por esta razón e mecanismo podría también explicar cambios en *Carollia*. La fertilidad de *Carollia* especie, posiblemente no ha sido afectada por la disminución del número cromosómico de los machos, ya que el número par de esta especie provoca cigotos completamente haploides durante la meiosis.

En un posible heterocigoto (X+ Fusión Y1Y2) el entrecruzamiento de material genético no debería tener problemas, pero recordando que un pequeño cromosoma acrocéntricos ahora parte del sexual SM es producto de la traslocación de un autosómico, la fusión de segmentos no homólogos entre (XX)-(X+ Fusión Y1Y2) pudo generar heterocigotos estériles que lograron romper la barrera del entrecruzamiento no homologo durante la fijación del mecanismo (Cappana *et al*, 1976).

En el individuo de *Carollia* especie (EK009) con un $2n=20$ (65%), $2n=19$ (15%) y $2n=18$ (15%) y otros individuos de las tres especies (Tabla 13), los porcentajes de variación en el número cromosómico no muestran una variación interna en el cariotipo de las especies de *Carollia*, sino que pueden corresponder a pérdidas o aumento de algún cromosoma específico ocurridas durante el proceso de obtención y procesamiento de la muestra celular en el goteo, la centrifugación o durante la fijación.

Se ha expuesto también que la variación en el conjunto cromosómico de las distintas poblaciones de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* y aquellas consideradas por años dentro de los dos complejos, no ocurre por ningún fenómeno intrapoblacional, intraespecífico o geográfico, solamente cuando existe diferenciación sexual o de especie (Baker, 1967), la existencia del nuevo cariotipo implicaría un claro ejemplo de diferenciación de la especie y ninguna diferenciación sexual en los números cromosómicos.

Por otra parte, se pudo realizar comparaciones de cromosomas de distintas poblaciones de una misma especie, sin evidenciar la existencia de razas cromosómicas. La existencia de razas cromosómicas son fenómenos raros en los murciélagos, en este estudio los ejemplares empleados en la descripción cromosómica fueron muestreados en localidades separadas aproximadamente por 100 Km (Figura 4, Tabla 11), al comparar el número cromosómico de individuos de los dos sitios no se evidenció la presencia de diferencias en número cromosómico entre ellos, sino que la diferenciación en el conjunto diploide ocurre solamente por diferenciación o polimorfismo sexual. Para el género *Carollia* esta normalidad ya ha sido documentada y la presencia de razas cromosómicas solo ocurre en otro género de murciélagos como lo es *Macrotus* (Baker, 1967).

Además, en las distintas especies del género *Carollia*, se argumenta que el número cromosómico es muy estable y se ha logrado mantener así desde hace 7 millones de años aproximadamente; sin embargo, la diferenciación específica ha ocurrido en otras especies del género provocando grupos polimórficos como las ya nombradas, poblaciones de *Carollia benkeithi*, pertenecientes al complejo *Carollia castanea* (Solari & Baker, 2006).

En los 12 ejemplares estudiados los números cromosómicos aceptados son aquellos que se presentaron con mayor frecuencia en los extendidos metafásicos, ya que en muchos casos la variación del número cromosómico, principalmente en los mamíferos se debe a problemas técnicos y posibles asociaciones entre cromosomas acrocéntricos, este tipo de problemas se presentan por el inadecuado extendido del material cromosómico durante el goteo y la hipotonización (Baker & Qumsiyeh, 1988). Cualquier variación en el número cromosómico o la presencia de aneuploidias fueron descartadas con el conteo representativo de las células metafásicas.

Tabla 13. Número cromosómico determinado en los ejemplares de las tres especies de *Carollia*.

Ejemplar	Especie	Sex cromosómico.	Numero de cromosomas					Células Total	Porcentaje(%) 2n					2n final
			17	18	19	20	21		17	18	19	20	21	
EK009	Carollia especie	H	0	3	3	<u>13</u>	1	20	0.00	15.00	15.00	65.00	5.00	20
EK050	<i>Carollia perspicillata</i>	H	2	4	4	<u>39</u>	0	49	4.08	8.16	8.16	79.59	0.00	20
EK051	Carollia especie	H	4	3	3	<u>40</u>	0	50	8.00	6.00	6.00	80.00	0.00	20
EK052	<i>Carollia perspicillata</i>	H	3	3	1	<u>41</u>	0	48	6.25	6.25	2.08	85.42	0.00	20
EK053	Carollia especie	M	0	0	2	<u>7</u>	0	9	0.00	0.00	22.22	77.78	0.00	20
EK054	<i>Carollia perspicillata</i>	M	0	0	0	2	<u>9</u>	11	0.00	0.00	0.00	18.18	81.82	21
EK056	<i>Carollia perspicillata</i>	H	1	3	6	<u>40</u>	4	54	1.85	5.56	11.11	74.07	7.41	20
EK057	<i>Carollia perspicillata</i>	M	2	1	1	3	<u>43</u>	50	4.00	2.00	2.00	6.00	86.00	21
EK058	<i>Carollia brevicauda</i>	H	0	3	3	<u>41</u>	0	47	0.00	6.38	6.38	87.23	0.00	20
EK070	Carollia especie	H	3	1	4	<u>35</u>	6	49	6.12	2.04	8.16	71.43	12.24	20
EK071	Carollia especie	H	2	6	4	<u>33</u>	4	49	4.08	12.24	8.16	67.35	8.16	20
EK072	<i>Carollia perspicillata</i>	M	0	0	2	6	<u>43</u>	51	0.00	0.00	3.92	11.76	84.31	21
Total								487						

La existencia de cromosomas supernumerarios que para algunos casos de mamíferos pueden estar indicando variaciones en el número cromosómico (Cloutier & Thomas, 1992), no ha sido reportada en individuos de *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* (Stock, 1975; Cloutier & Thomas, 1992) y tampoco en ejemplares de *Carollia* especie, por lo tanto la ausencia de cromosomas supernumerarios y los porcentajes bajos de los otros números cromosómicos a nivel individual, tampoco son característicos para las especies analizadas.

Cabe resaltar que hasta el año 2004 la existencia de cromosomas supernumerarios en murciélagos no era conocida, sin embargo en ese año se publica una revisión de este tipo de cromosomas en mamíferos (Vujosevic & Blagojevis, 2004), reportando solamente dos casos aislados y excepcionales de pequeños murciélagos (*Myotis macrodactylus* y *Nyctalus leisleri*) en los que si hacen presencia los cromosomas supernumerarios.

Con esto se reporta la normalidad en el número cromosómico de dos especies de *Carollia* de Nariño estudiadas, siendo $2n=20-21$ para individuos de *Carollia perspicillata* (Figura 17). Por tener solo un individuo de *Carollia brevicauda* (hembra), se concluye que la hembras de esta especie en Nariño tiene un $2n=20$ (Figura 18), el cual es idéntico a *Carollia* especie y *Carollia perspicillata*.

Asumiendo que el dimorfismo sexual de la especie *Carollia brevicauda* es similar a las otras especies de *Carollia*, el número cromosómico de los machos con alta probabilidad es $2n=21$. Todos los ejemplares conservan el número fundamental (NF: 36), para *Carollia* especie el conjunto cromosómico estaría representado por igual, para hembras y machos, por un $2n=20$ (NF: 36) (Baker & Qumsiyeh, 1988).

6.2.4 Formula cariotípica. A partir de los datos de índice centromérico y la relación de la longitud de los brazos se determinó la distribución de los cromosomas de los individuos hembra de *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia* especie, comparando los valores obtenidos (Anexo H), con los de la tabla 1 (Levan *et al*, 1964). Se tuvo en cuenta solamente los individuos hembra, por que estos individuos representan la normalidad del conjunto diploide. Para los machos el cariotipo fue determinado por observación (Figura 1) y la comparación con otros cariotipos sexuales de *Carollia* (Patton & Garder, 1971).

La distribución de los cromosomas en las hembras de *Carollia* especie ocurre en tres tipos de formulas cariotípicas distintas (Tabla 14) dependiendo del ejemplar evaluado, lo cual puede ocurrir por las diferencias en las condiciones de preparación de material celular, ya que en muchos de los casos las variables son incontrolables por trabajar con células mitóticas asincrónicas.

Tabla 14. Distribución de los cromosomas y formula cariotípica para tres especies de *Carollia*, (Las abreviaturas indican: SM, submetacéntrico; M, metacéntrico; A, acrocéntrico; ST, subtelocéntrico; X, cromosoma sexual femenino; Y1, cromosoma sexual masculino 1 y Y2, cromosoma sexual masculino 2. NF: Número Fundamental).

Cód.	Especie	Distribución cromosómica	Formula cariotípica
EK009	Hembra <i>Carollia</i> sp.	Grupo 1: Sexual SM Grupo 2: Par 3 y 4 SM Grupo 3: Par 2, 5, 6, 7, 8, 9 y Par 10 M	1:2:7
EK051	Hembra <i>Carollia</i> sp.	Grupo 1: Sexual SM Grupo 2: Par 3, 4, 5 y 6 SM Grupo 3: Par 2, 7, 8, 9, 10 M	1:4:5
EK053	Macho <i>Carollia</i> sp.	Grupo 1: Sexual SM Grupo 2: Par 3 y 4 ST Grupo 3: Par 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10. M	1:2:7
EK070	Hembra <i>Carollia</i> sp.	Grupo 1: Sexual SM Grupo 2: Par 3 ST Grupo 3: Par 4 y 5 SM Grupo 3: Par 2, 6, 7, 8, 9, 10. M	1:1:2:6
EK071	Hembra <i>Carollia</i> sp.	Grupo 1: Sexual SM Grupo 2: 5 SM Grupo 3: Par 3 y 4 ST Grupo 4: Par 2, 6, 7, 8, 9, 10. M	1:1:2:6
EK050	Hembra <i>Carollia</i> <i>perspicillata</i>	Grupo 1: Sexual SM Grupo 2: Par 3 ST Grupo 3: Par 4, 5 y 6 SM Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9, 10. M	1:1:3:5
EK052	Hembra <i>Carollia</i> <i>perspicillata</i>	Grupo 1: Sexual ST Grupo 2: Par 3 y 4 A Grupo 3: Par 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10. M	1:2:7
EK056	Hembra <i>Carollia</i> <i>perspicillata</i>	Grupo 1: Sexual ST Grupo 2: Par 3 y 4 ST Grupo 3: Par 5 y 6 SM Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9 y 10. M	1:2:2:5
EK054	Macho <i>Carollia</i> <i>perspicillata</i>	Grupo 1: X ST, Y1 A-Y2 A. Grupo 2: Par 3 y 4 ST Grupo 3: Par 5 y 6 SM Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9 y 10. M	XY1Y2:2:2:5
EK057	Macho <i>Carollia</i> <i>perspicillata</i>	Grupo 1: X ST, Y1 A-Y2 A. Grupo 2: Par 3 y 4 ST Grupo 3: Par 5 y 6 SM Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9 y 10. M	XY1Y2:2:2:5
EK072	Macho <i>Carollia</i> <i>perspicillata</i>	Grupo 1: X ST, Y1 A-Y2 A. Grupo 2: Par 3 y 4 ST Grupo 3: Par 5 y 6 SM Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9 y 10. M	XY1Y2:2:2:5
EK058	Hembra <i>Carollia</i> <i>brevicauda</i>	Grupo 1: Sexual ST Grupo 2: Par 3 y 4 ST Grupo 3: Par 5 y 6. SM Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9, 10. M.	XY1Y2:2:2:5

En ocasiones, el simple paso de secado al aire de las placas, con el material celular, puede generar dificultades en la determinación de la posición del centrómero en los cromosomas (Baker & Qumsiyeh, 1988), provocando variabilidad en la tipificación del material cromosómico. Sin embargo, se observa (Tabla 13) que la tipificación de pares como los sexuales (Submetacéntrico=SM), el 2, 7, 8, 9 y el 10 son constantes (Metacéntricos=M) en todos los ejemplares de *Carollia*.

El Grupo 1 es general para todos los individuos de *Carollia* especie, de acuerdo a los datos de relación de longitud de los brazos, índice centromérico y cariotipos (Anexo H), el cromosoma sexual se diferencia en este grupo caracterizándose como submetacéntrico. El par sexual o Grupo 1 que fue constante en *Carollia* especie, en esta especie es constante (SM) en dos individuos y cambia en tipificación para un individuo Subtelocéntrico (ST). En el caso de las hembras de *Carollia perspicillata* la distribución de los cromosomas se determinó en 3 formulas (Tabla 13), en las cuales el predominio general es para los 3 machos con una formula XY₁Y₂:2:2:5.

En *Carollia brevicauda* (Figura 18) la formula cromosómica es 1:2:2:5 (Grupo 1: Sexual ST, Grupo 2: Par 3 y 4 ST, Grupo 3: Par 5 y 6. SM, Grupo 4: Par 2, 7, 8, 9, 10. M). En esta especie la formula del único ejemplar fue idéntica a un ejemplar de *Carollia perspicillata* y posiblemente esto esta asociada a los altos rasgos de consanguinidad que tienen estas especie hermanadas. Los cambios en la tipificación de los cromosomas han sido reportados para *Carollia* (Stock, 1975; Baker, 1967; Patton & Garder, 1971), *Carollia perspicillata* fue caracterizada antes por contar con un 2n=20, los autosomas se diferencian en un par largo de submetacéntricos, dos pares de tamaño medio subtelocéntricos y 6 pares de pequeños submetacéntricos y subtelocéntricos.

Los cromosomas X son subtelocéntricos con mayor tamaño a un autosómico similar pero de menor tamaño a los largos submetacéntricos (1:1:2:6). De otros ejemplares de *Carollia perspicillata* se reporta una formula constituida por nueve pares autosómicos integrados por cuatro metacéntricos, dos submetacéntricos y tres subacrocéntricos. El cromosoma X es subacrocéntrico (1:4:2:3) (Cloutier & Thomas, 1992). Estas características permitirían confirmar un patrón recurrente para 2 individuos de *Carollia perspicillata* de Nariño con ejemplares de la misma especie de otras regiones de Sur América, los cuales presentan un par sexual ST (Figura 17), estas afinidades son el producto de años de evolución cromosómica generado entre especies hermanas (Baker, 1967).

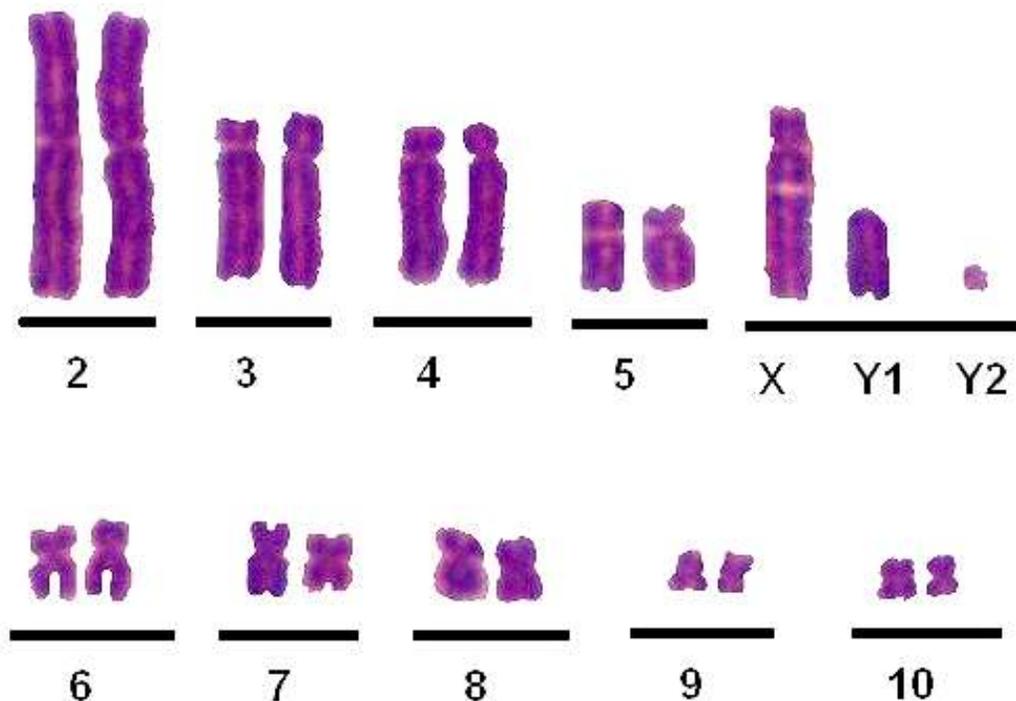
Para la especie *Carollia brevicauda* no hay ningún modelo descrito, Stock (1975) a pesar de realizar comparaciones cromosómicas de especies de *Carollia*, se centra mucho mas, en la búsqueda de diferencias en bandas. Como similitud presentada entre todos los ejemplares descritos en este estudio se determinó la presencia de 6 pares constantes de cromosomas autosómicos Metacéntricos (M) (Par 2, 6, 7, 8,

9 y 10), probablemente esta característica sea un atributo típico de las poblaciones del suroccidente Colombiano respecto a la composición cromosómica de las mismas (Figura 18).

En las tres especies estudiadas las formulas cariotípicas no se asemejan a alguna descrita anteriormente, reportando a partir de poblaciones Nariñenses hembras de *Carollia* las primeras formulas cariotípicas. En el caso de los machos que presentan un número cromosómico $2n=21$ establecer las características cromosómicas es mucho más difícil, sin embargo la variable morfológicas cromosómicas obtenidas de las hembras son aplicables para el conjunto autosómico de cada sexo.

Los machos se describen como individuos portadores de tres cromosomas sexuales (XY1Y2), en los cuales uno de los cromosomas Y es el homologo de un autosoma traslocado para el elemento X, este es un carácter diagnostico en la determinación sexual de individuos pertenecientes a las especies *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* (Figura 17).

Figura 17. Cariotipo de individuo macho de *Carollia perspicillata* (Cimarrones, Cachagüi, Nariño, Colombia) (EK054). Tinción convencional.



El número fundamental de *Carollia* especie, *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* es 36, estos resultados están indicando que las poblaciones de las 3 especies muestreadas pueden ser consideradas congruentes con ejemplares de otras poblaciones de iguales especies, esta congruencia esta dada, debido a que el número fundamental se conserva en las distintas especies de *Carollia* como *Carollia sowelli* que presenta un $2n=21(NF=36)$, el X es Subtelocéntrico y 2Y son acrocéntricos (Baker *et al*, 2002), las únicas excepciones son algunas poblaciones de *Carollia* de Colombia que presentan $2n=20-21 (FN=38)$ como ejemplo claro de una traslocación autosómica X (Solari & Baker, 2006).

En el ejemplar macho de *Carollia* especie, el cromosoma X no presenta características propias, que a diferencia de cariotipos de otras especies de *Carollia* el cromosoma X presenta una constricción secundaria marcada (Patton & Garder, 1971), esto puede servir de atributo que permita diferenciarla como especie de las otras que pertenecen al género *Carollia*, o apoyar explicaciones con respecto a la especiación y diferenciación morfológica de esta especie dentro de grupos monofiléticos similares en el género (Hoffmann & Baker, 2003).

La diferencia encontrada a pesar de no ser concluyente por el menor tamaño de la muestra de metafases da indicios claros de contrastes entre las diferencias morfológicas del macho que no fue categoriza como perteneciente a alguna especie reconocida actualmente.

Estas diferencias cromosómicas, morfológicas y en algunos casos moleculares han sido determinadas en especies del género *Carollia* (Baker & Bradley, 2006), se argumenta que algunas especies poseen un número cromosómico semejante lo cual las hace considerar como especies hermanas, pero a pesar de ser simpátricas poseen características morfológicas distintas (York & Papes, 2007) que han generado aislamiento reproductivo no evidente y poco definido en los cromosomas, sin embargo la ausencia de la constricción en los brazos de X implica la generación de un dato que puede ser recomendado como marca distintiva en la descripción de la especie desconocida.

Los cambios genotípicos son el pilar base que proporciona el material para la evolución de los organismos, ya que puede producir nuevos fenotipos, mediante interacciones organismo-ambiente y a través de muchas generaciones (con eficacia biológica) (Gibson, 1984), pueden originar fenómenos de especiación evidentes en pequeños cambios cromosómicos como la variación en la cantidad de DNA o la ausencia de estructuras como una constricción secundaria en el caso de *Carollia* especie.

Los cambios en el genoma pueden ser génicos o cambios cromosómicos (que también pueden implicar cambios génicos), de ahí que cada especie tenga su propio cariotipo, características como la diferenciación en la formula cromosómica o la disminución de cromosomas hacen que cada taxa sea única (García, 2001),

en el caso de las tres especies analizadas la similitud en el número de cromosomas implica la alta relación filogenética entre ellas, para *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* la identificación de la constricción en el cromosoma sexual X posiblemente cumple esta regla mostrando la alta línea de consanguineidad entre ellas, pero la ausencia de dicha constricción en la tercera especie demuestra una menor afinidad de esta con las otras dos especies.

Las variaciones en el genero *Carollia* han sido evidenciables a través de múltiples estudios, tanto moleculares como también morfométricos convencionales lo cual ha generado el reconocimiento de 9 especies, siendo 5 las que habitan en Colombia (Cuartas *et al*, 2001), de las cuales en este estudio se aporta en el conocimiento del número cromosómico de dos de ellas y algunos caracteres cromosómicos para individuos 4 hembra y 1 macho no catalogados en alguna especie de *Carollia* conocida.

Muchos de los arreglos cromosómicos no corregidos, es decir fijados en la población son el origen de la evolución de varios tipos de organismos, para el caso del macho de *Carollia* especie la desaparición de la constricción es un hecho que puede representar la definición de una nueva especie, característica explicable posiblemente por acción de fenómenos como inversiones, translocaciones recíprocas, activaciones/ inactivaciones centroméricas, fusiones y fisiones (Laurie *et al*, 2000), que pueden tener consecuencias en el comportamiento mitótico de los machos descritos.

En forma general se puede decir, que si todos los machos de la población muestreada de *Carollia* especie presentan el mismo número cromosómico, posiblemente la diferencia descrita en comparación con especímenes caracterizados como *C. brevicauda* y *C. perspicillata* en un inicio, se ha mantenido a razón de que la selección natural favoreció la incorporación de una nueva forma cromosómica (Baker *et al*, 1987; Qumsiyeh, 1994) , generada en forma directa por rearrreglos en los cuales hubo posiblemente fusiones de algunos pares cromosómicos (Gibson, 1984; Da Silva, 2005), sustentado esto en los cariotipos obtenidos (Figuras 16) con el reporte de la ausencia de la constricción sexual en los machos.

6.2.5 Regiones heterocromáticas. De cada individuo procesado en la obtención de cromosomas se montaron 5 placas para un total de 70 placas. Por la dificultad en la estandarización y aproximación a las condiciones óptimas de obtención de Bandas C, el número de placas con este tipo de bandas fue bajo, y solo se contó con cromosomas bandeados C para las especies *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*.

El bandeamiento C brinda una aproximación a la distribución de la heterocromatina (Figura 18.a y 20.a), en *Carollia brevicauda* todo el conjunto cromosómico presenta marcaje, mientras que en *Carollia perspicillata* los

conjuntos tres, cuatro, nueve y siete son los que son más fáciles de identificar por la coloración oscura de la heterocromatina siendo C positivos. Los resultados obtenidos en este estudio son similares con el único reporte de bandeo en especies del género *Carollia* (Stock, 1975). Para *Carollia* especie es el primer reporte de este tipo de caracteres. Las diferencias en la intensidad del marcaje de las regiones heterocromáticas es lo que se conoce como heterogeneidad de la cromatina. La heterogeneidad se debe a variaciones en la condensación de la cromatina, a diferencias en la concentración de bases metiladas y la cantidad de bases repetidas en el DNA (Rocchi, 1982).

Se llevaron a cabo distintos ensayos variando el tiempo de exposición al Hidróxido de Bario para mostrar una mejor calidad de las bandas, ya que las bandas C son muy inestables frente a la acción del reactivo básico. El marcaje disminuyó en algunos casos en los centrómeros de los cromosomas de las dos especies, esto se debe a las pocas regiones repetitivas de esta zona (Qumsiyeh, 1984). Los cromosomas 2,3 y 4 de las dos especies muestran diferencias en la talla de las regiones de heterocromatina de sus cromosomas homólogos, esto se debe según Gibson (1984), a la presencia de heterocromatina constitutiva que es muy común en los mamíferos.

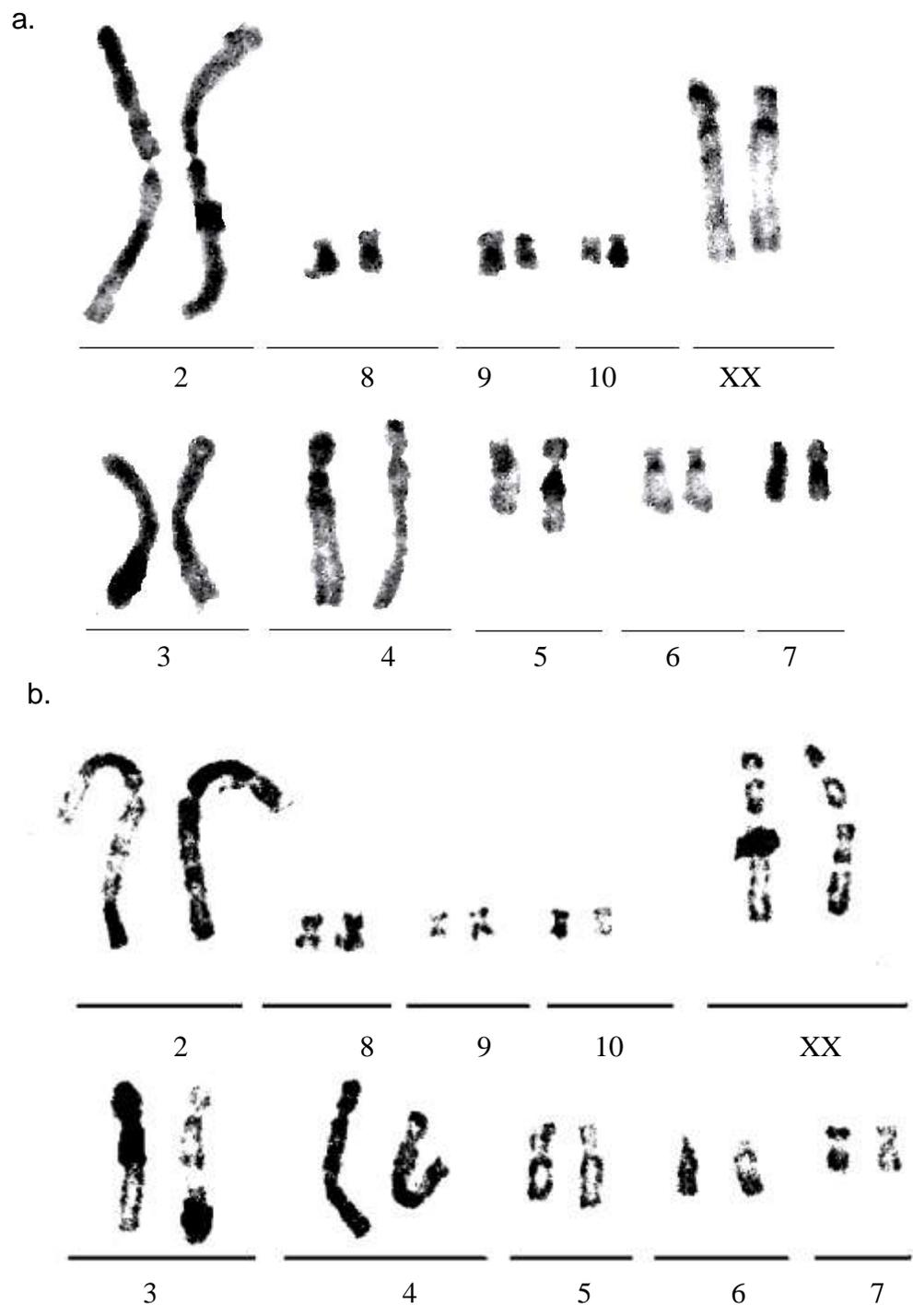
Esto da como resultado un entrecruzamiento inequivalente entre los homólogos, que da lugar a diferencias en las tallas de las regiones heterocromáticas. Dicho cruzamiento se genera por la ausencia de una fuerte presión selectiva sobre el DNA sobre aquellas áreas libres para divergir, formando en cada cromosoma una nueva colección de elementos secuenciales que varían en tamaño y orden, esto explica también las diferencias encontradas entre la heterocromatina de las dos especies.

La variación en las formulas cariotípicas encontradas para los individuos estudiados se puede explicar en el aumento de heterocromatina. El aumento en la heterocromatina probablemente se esta dando de manera equivalente, afectando el tamaño de las cromátidas y la relación de brazos de los cromosomas (Schmid *et al*, 1993), con lo cual la tipificación también varia. De hecho, el aumento podría deberse a la elevación de secuencias altamente repetitivas (heterocromatina) y también al aumento de secuencias de copia simple y moderadamente repetidas (eucromatina), lo que puede estar dando lugar a cambios uniformes en los cromosomas y en la cantidad de DNA, pero en muchos de los casos esto no afectaría la relación de brazos (Schmid *et al*, 1993).

La diferencias en la talla de las regiones de heterocromatina de las dos especies posiblemente se debe a factores ambientales que favorecen la adición de este tipo de AND en ciertos cromosomas, como un mecanismo para proteger ciertos genes que funcionalmente son importantes, este es el principio pleiotropico (Schmid *et al*, 1993). Los patrones en heterocromatina (Bandas C) de *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata* de manera general son muy similares, unas pocas diferencias

han sido descritas para *Carollia castanea* en la cual es ausente mucha de la heterocromatina común en las otras especies de *Carollia* (Stock, 1975).

Figura 18. Cromosomas metafásicos de hembra *Carollia brevicauda*: (a) Bando C; b Bando G. (Fuente este estudio).



Los patrones de heterocromatina en las poblaciones de *Carollia* de Nariño apoyan la hipótesis de que existe afinidad en Bandas C entre *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*, esta afinidad cromosómica concuerda con las similitudes y diferencias morfológicas entre las especies estudiadas.

6.2.6 Regiones eucromáticas. Para la obtención de cromosomas se montaron 5 placas con un total de 70 placas, al igual que en Bandas C. El número de placas con este tipo de bandas fue bajo, sin embargo se obtuvieron placas con este bandeamiento para las tres especies de *Carollia*.

El bandeamiento G, permite una aproximación a la distribución de la eucromatina, en las placas obtenidas durante los ensayos fueron mínimas las metafases que reaccionaron para brindar cromosomas con Bandas claras. De los resultados obtenidos, se detectó homogeneidad para las tres especies en bandas como la presentada por el cromosoma 2, 5, 7 y los sexuales (Figura 18 b y 20 b).

Al realizar el proceso de bandeamiento se presentaron dificultades en el tiempo de la tripsina, ya que algunos cromosomas no marcaban bien las bandas G, en casos cuando se prolongó el tiempo en tripsina ocurrieron hinchamientos en los cromosomas, debido a que las zonas marcadas en los cromosomas hinchados corresponden a estructuras ligadas a los cromómeros, las cuales son muy susceptibles al tratamiento con tripsina (García, 2001).

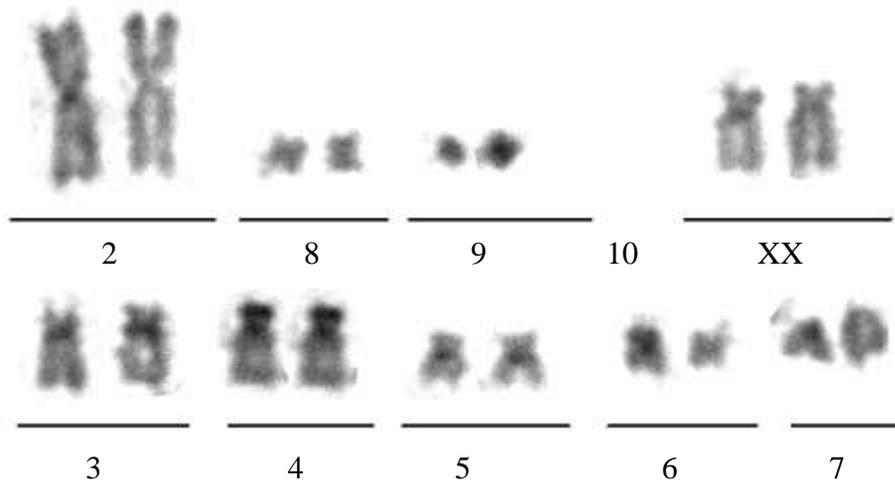
Las diferencias, aunque son pocas y poco determinables, encontradas entre los bandeos de las especies en los conjuntos cromosómicos se relacionan con la organización del DNA, el cual se compone de varios tipos de fracciones como las livianas y las pesadas, las últimas compuestas por pares de Guanina y Citosina, que marcan regiones homogéneamente constituidas conocidas como isocoros (García, 2001).

La frecuencia con la que se presentan los isocoros, confiere un grado de heterogeneidad al DNA que tiene una relación directa con el bandeamiento R y G. Estas pequeñas diferencias muestran el grado de consanguinidad de las tres especies dentro del género *Carollia* y los pocos cambios han sido fijados durante el proceso de evolución dentro de este grupo monofilético.

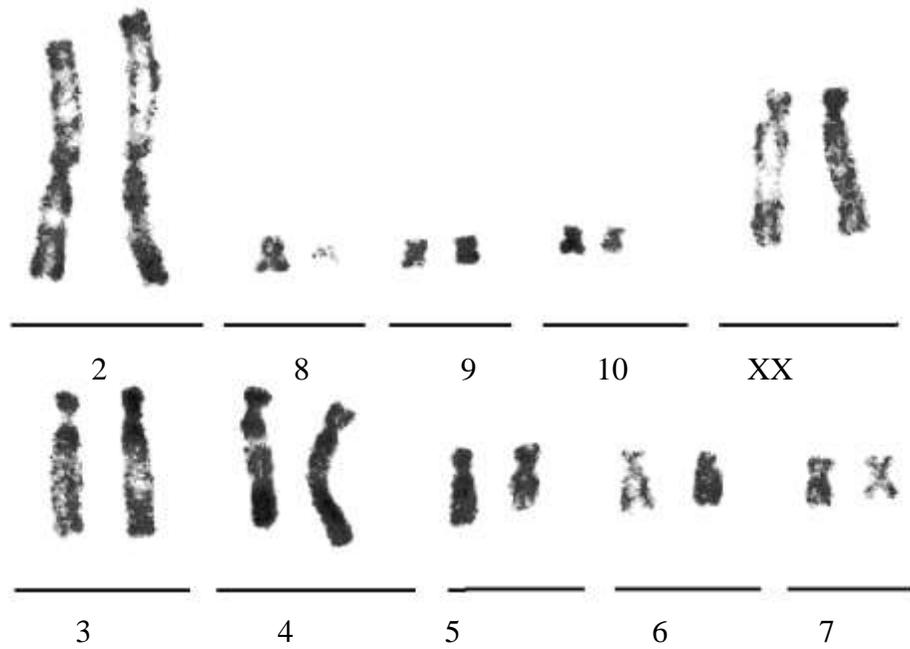
El origen ancestral de las dos especies pudo haber sido Centro América, la población ancestral llegó por un patrón de dispersión y vicarianza hasta Sur América, donde *Carollia brevicauda* dio origen a subpoblaciones, mientras que *Carollia perspicillata* se diversificó desde la Costa Atlántica de Brasil hasta Centro América (Hoffman & Baker, 2003), estos patrones de diversificación están muy de acuerdo con las similitudes cromosómicas en Bandas G y C encontradas en este estudio, ya que estarían representando especies hermanas con un origen común de especiación y de patrones biogeográficos similares.

Figura 19. Cromosomas metafásicos de hembra *Carollia perspicillata*: (a) Bando C; b Bando G. (Fuente este estudio).

a.



b.



La identificación de los isocoros con segmento de DNA presentes en las bandas G o R, se relacionan con el hecho de que las bandas corresponden a zonas ricas en Adenina- Timina que replican tardíamente durante el ciclo celular, por lo tanto el incremento en la heterogeneidad de la composición del DNA, es paralela con el incremento en el número de bandas en los procedimientos G y C (Baker *et al*, 1987), esto relacionado con la diferencia en las bandas obtenidas para las tres especies demuestra claramente que su DNA es distinto y es posible que se generaran heterocigotos cromosómicos que a pesar de tener bajo fitness, se acumularon generación tras generación, hasta minimizar las introgresiones con las especies que habitan el lugar y que poseen un genoma adaptado y protegido, a través de características como las morfológicas propias de cada especie.

La posibilidad de los rearreglos, implica que en la zona posiblemente ocurrieron fenómenos de hibridación expresada en las variaciones de los patrones de bandedo de los cromosomas, esto ocurre cuando existe complementariedad morfológica como la presentada por las tres especies estudiadas (Qusiyeh *et al*, 1997), las cuales divergieron desde Centro América formando poblaciones aisladas que dieron origen a las actuales especies conocidas.

Para concluir, queda un espacio abierto hacia la construcción de nuevo conocimiento en lo que respecta a las especies del género *Carollia*, pues existen varias herramientas (Baker, ---), útiles para definir si los individuos machos reportados como especie, que según caracteres morfológicos y morfométricos hacen parte del complejo *Carollia*, presentan las características cromosómicas aquí descritas que puedan ser utilizadas como un atributo estricto dentro de la definición de estos como nueva especie.

Los resultados de afinidad cromosómica entre las tres especies de *Carollia* apoya la hipótesis dada para el género, en el occidente del Ecuador y por lo tanto suroccidente de Colombia, que las poblaciones y su distribución en los Andes representan un sitio de dispersión para el género de *Carollia*, mas que un sitio de vicarianza (Hoffman & Baker, 2003), ya que si fuera vicarianza posiblemente se encontrarían cambios cromosómicos definitivos para las especies, técnicas de citogenética molecular podrían estimar cambios que pudieran respaldar cualquiera de las hipótesis.

Los resultados de esta investigación suministran evidencia para definir una aproximación a la real diversidad, distribución y conservación del género *Carollia* en Nariño. La diversidad del *Carollia* en Nariño fue revisada, definiendo-caracterizando e identificado 3 especies del género, en donde 2 de ellas han sido reportadas anteriormente (Alberico & Negret, 1992; Alberico *et al*, 2000; Alberico & Orejuela, 1982; Cadena *et al*, 1998; Ospina & Gómez, 1999).

La definición de cada una de las especies se realizó con caracteres morfológicos estrictos, morfométricos y cromosómicos presentes en el material examinado,

ningún tipo de variación geográfica o sexual fue determinado morfológica y morfométricamente, solamente lo convencional en la distinción de los sistemas reproductores.

En los cromosomas la diferenciación sexual ocurrió para las especie *Carollia brevicauda* y *Carollia perspicillata*, mientras que para *Carollia* especie no se detectaron dimorfismos cromosómicos ni tampoco la presencia de la constricción secundaria propia de machos, el bajo número de muestras obliga a contemplar este dato con cautela ya que la normalidad de cromosomas para el genero y principalmente en los dos complejos especie es $2n=20 - 21$ (Stock, 1975).

El análisis de variación indica la presencia de tres entidades taxonómicas en las poblaciones muestreadas, lo que permitió diferenciar una especie indeterminada en el Suroccidente Colombiano, caracterizada por tener un tamaño medio con respecto a las otras dos especies utilizadas en este estudio. Bajo distintos análisis y revisiones *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* han sido fuente de material para la descripción de nuevas especies, es decir han sido reconocidas como complejos de especie (Solari & Baker, 2006; Cuartas *et al*, 2001; Muñoz *et al*, 2004; Albuja, 1999; Owen *et al*, 1984; MacLellan, 1984; Pine, 1972), por esta razón la existencia de las poblaciones de *Carollia* especie en Nariño es muestra de una fuente potencial para la investigación de estas especies en Colombia y la necesidad de colectas en sitios no muestreados.

De la evaluación de los caracteres cromosómicos y morfológicos es notoria una mayor similaridad entre *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie, lo que indicaría con los caracteres examinados una diferenciación mas reciente de estas dos especies respecto a la probable divergencia de *Carollia brevicauda*, por efecto vicariante ocasionado probablemente por el levantamiento de los Andes (Hoffman & Baker, 2003).

Mas aun si se observa que la distribución de la *Carollia perspicillata*, la cual se mueve en Colombia dentro de zonas altas, poblaciones de esta pudieron ser buenas dispersoras de subpoblaciones en la colonización de los Andes, que quedaron aisladas cuando los Andes alcanzaron su maxima elevación entre los 2 a 5 My (Gregory, 2006) evolucionando en el aislamiento reproductivo y la conformación de la posible nueva especie. Si esto ocurrió así, se puede pensar también que la alta plasticidad de las otras dos especies encontradas en simpatria con *Carollia* especie, han provocado la competencia entre ellas y que la colonización de los sitios ocupados por esta, están siendo ocupados por las otras dos especies de *Carollia*, sin embargo esto debe ser argumentado con datos ecológicos de las tres poblaciones.

La alta plasticidad del género *Carollia*, así como la gran distribución y la historia evolutiva, lo definen como un grupo de especies con endemismos y restricciones a ciertas áreas geográficas. La mayoría de ellas pueden ser encontradas en

bosques intervenidos y cultivos, en las tres zonas biogeográficas de Colombia (Pacífico- Andes y Amazonas) por esto el riesgo a que se enfrentan puede ser bajo, sin embargo si *Carollia* especie esta estructurada por poblaciones ubicadas solamente en los Andes del complejo volcánico en Nariño, la categoría de endemismo la cualificaría como un posible objeto de conservación e investigación de los riesgos que enfrenta para su conservación.

CONCLUSIONES

- Con las especies descritas se aumenta el conocimiento del Genero *Carollia*, así como su diversidad, ya que con el nuevo morfotipo descrito en este estudio sumaría a 10 el conteo de especies de dicho genero, encontrando seis (6) en Colombia y de estas, cuatro (4) presentes en Nariño.
- Las características cromosómicas sustentan la hipótesis planteada de que en las poblaciones de las especies complejo *Carollia perspicillata* y *Carollia brevicauda* se presentan diferencias y similitudes cariológicas en el número, morfología, y patrones de bandedo, que evidencian polimorfismos, divergencias y homogeneidad en los cromosomas originados por procesos de evolución del cariotipo. Estas diferencias y similitudes fueron fácilmente percibidas en la variabilidad de la tipificación y formula cariotípica de cada uno de los individuos y de cada una de las especies, mientras que la homogeneidad se determinó en caracteres como el número cromosómico.
- El análisis de variación y la formación de grupos morfométricos indican la presencia de tres entidades taxonómicas dentro del análisis, lo que permitió determinar una posible nueva especie para el Suroccidente Colombiano, caracterizada por tener un cráneo de mayor tamaño a las otras dos especies utilizadas dentro del análisis en este estudio.
- Aunque ocupan hábitats simpátricos las tres especies, pueden ser diferenciadas por caracteres como la longitud mayor del cráneo, el grosor de las piezas dentales y la prominencia y ocultamiento de singulas entre premolares y caninos. La simpatría la ocupan en localidades de la región biogeográfica Andina en Nariño, lugares cálidos y templados en zonas de cultivos son sitios donde se determinó la presencia de las tres especies de *Carollia*.
- Los atributos cromosómicos y morfológicos muestran una mayor similaridad entre *Carollia perspicillata* y *Carollia* especie, lo que indicaría con los caracteres examinados una diferenciación mas reciente de estas dos especies respecto a la probable divergencia de *Carollia brevicauda*.
- *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia* especie pueden ser encontradas en bosques intervenidos y cultivos, en las tres zonas biogeográficas de Colombia (Pacífico- Andes y Amazonas) por esto el riesgo a que se enfrentan puede ser bajo, sin embargo si *Carollia* sp. está estructurada por poblaciones ubicadas solamente en los Andes del complejo volcánico en Nariño, la categoría de endemismo la cualificaría como un posible objeto de conservación e investigación de los riesgos que enfrenta para su conservación.

PERSPECTIVAS

- Para Confirmar las características de los cromosomas sexuales de los machos de *Carollia* especie se recomienda ampliar el número de individuos examinados y que estos preferiblemente provengan de poblaciones distintas.
- Profundizar en el estudio de heterocromatina con Bandas C en muestras de poblaciones de *Carollia brevicauda* que provengan del piedemonte Pacifico donde es mayor la abundancia.
- Determinar el cariotipo de las especies *Carollia monohernandezi* y *Carollia colombiana* para establecer las relaciones filogenéticas del genero en Colombia, y comparar las relaciones obtenidas con atributos biogeográficos, morfológicos y estudios genéticos como marcadores moleculares.
- Caracterizar las poblaciones de *Carollia* especie con marcadores moleculares como las secuencias del gen completo mitocondrial Citocromo B, para establecer su relación filogenética.
- Evaluar morfológica y morfométricamente las poblaciones de *Carollia brevicauda* de lugares como el Piedemonte Pacifico y los Andes.
- Determinar la presencia de individuos juveniles y neonatos en poblaciones de *Carollia* especie, con el fin de verificar la fertilidad normal de la especie.

BIBLIOGRAFÍA

ALBERICO M. CADENA A. HERNANDEZ J. & MUÑOZ Y. Mamíferos (Synapsida: Theria) de Colombia. Biota de Colombia. No. 1 (1), 2000, p. 43-75.

ALBERICO M. & OREJUELA J. Diversidad de dos comunidades de murciélagos en Nariño, Colombia. CESPEDESIA. Zoología. Suplemento. No. 3, 1982. p. 41-42.

ALBERICO M. & NEGRET A. J. Primer aporte sobre los mamíferos del Valle del Patía (Cauca-Nariño). Novedades Colombianas (nueva serie), 1992. p. 66-71.

ALBUJA L. Murciélagos del Ecuador. 2da edición. Quito, Ecuador: Cicetronic Cía. FOCET. Ltda. 1999, p. 199- 288.

ALCALDÍA MUNICIPAL DE SAN LORENZO. San Lorenzo: entre vientos y montañas. Alcaldía Municipal de San Lorenzo, 1997. p.7-10.

ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE. Guidelines for the capture, handling, and care of mammals as approved by the American Society of Mammalogists. Journal of Mammalogy. No. 79, 1998. p.1416-1431.

BAKER R. HAMILTON M. & PARISH D. 2003. Preparations of mammalian karyotype under field conditions. Occasional Papers, Museum Of Texas Tech University, 228. p.1-8.

BAKER R.J. & BICKHAM J. Speciation by monobrachial centric fusions. Proc. Nati. Acad. Sci. USA. Evolution. Vol. 83, 1986. p. 8245-8248.

BAKER R. J. Advances in systematic Mammalogy. Mamal Coun Tropical Environ. The Museum and Department of biological Sciences. Texas Tech University, Lubbock, Texas 79409, USA, ----. p. 460-473.

BAKER R.J. & BRADLEY R. Speciation in mammals and the genetic species concept. American Society of Mammalogists. Journal of Mammalogy. No. 87 (4), 2006. p. 643-662.

BAKER R.J. & QUMSIYEH M. Methods in Chiropteran mitotic chromosomal studies. Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats. Edited by Thomas Kunz. Smithsonian Institution Press. Chapter 25, 1988. p. 425-435.

BAKER R.J. HAIDUK M. ROBBINS LYNN, CADENA A. AND KOOP B. Chromosomal studies of south american bats and their systematic implications. Special publications pymatunign laboratory of ecology. The museum and

department of biological sciences, Texas Tech University, Lubbock, Texas 79409. N° 6, 1982. p. 303-328.

BAKER R.J. SOLARI S. & HOFFMAN F. A new central american species from the *Carollia brevicauda* complex. *Ocasional Papers, Museum of Texas Tech University*. No. 217, 2002. p. 1-12.

BAKER R.J. MAZIN B. QUMSIYEH M. & HOOD G.S. Banding of chromosomal banding patterns in understanding mammalian evolution. *Current Mammalogy*, Edited by H. Genoways (Plenum Publishing corporation). Vol 1, 1987. p. 67-95.

BAKER R. J. JONES J.K. & CARTER D.C. Introduction. *Biology of bats of the New World family Phyllostomatidae, Part III*. (Baker, Jones, and Carter, eds.). *Special Publications of the Museum of Texas Tech University*. No. 16 (1), 1979. p. 1-441.

BAKER R.J. Karyotypes of bats of the family Phyllostomidae and their taxonomic implications. *The Southwestern Naturalist*. No. 12(4), 1967. p. 407-428.

BAUTISTA J. & MARQUEZ M. Modelo experimental para el estudio cromosómico de células de mamíferos. Trabajo propuesto como requisito para la promoción a la categoría de Profesores Asociados. Universidad de Colombia. Sede Medellín. Facultad de Ciencias, 2002. p. 1-112.

BICKMAN J. & BAKER R.J. Canalization model of chromosomal evolution. *Bulletin Carnegie Museum of History Natural*. No. 13, ----. p. 70-83.

BOLETÍN INFORMATIVO BIOSINTESIS. Instituto de Investigación de recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Biosíntesis. Boletín informativo No. 11. 1999, p.1-2. On line: <http://www.humboldt.org.co>.

BOVEY R. Les chromosomes des chiroptères et des Insectivores. *Rev. Suisse Zool*, 1949. p. 71-460.

BROWN W. *Textbook of Cytogenetics*. The CV Mosby Company. Saint Louis, 1972. p. 1-3.

BURKHOLDER G. & DUEZEK L. The effect of chromosomes banding techniques of proteins of isolated chromosomes. *Cromosoma* 87, 1982. p. 425:435.

CADENA A. ANDERSON R.P. & RIVAS-PAVA P. Colombian mammals from the Chocóan slopes of Nariño. *Ocasional Papers, Museum of Texas Tech University*. No. 180, 1998. p. 1-15.

CAPANNA E. & GROPP A. Winking H. Noack G. Cinitelli M. 1976. Robertsonian metacentrics in the mouse. *Chromosoma*. No. 58, 1976. p. 341-352.

CARVALHO S. & MORIELLE E. Chromosome studies of Brazilian vespertilionids *Lasiurus cinereus* and *Lasiurus ega* (Mammalia, Chiroptera). *Iheringia, Séries Zoológicas*. No. 4, 2004. p. 443-446.

CASTAÑO J. BOTERO J. VELÁSQUEZ S. & CORRALES J. Murciélagos en agroecosistemas cafeteros de Colombia. *Chiroptera Neotropical*. No.10, 2004. p. 1-2.

CLOUTIER D. & THOMAS D. *Carollia perspicillata*. American society of mammalogists. *Mammalian species*. No. 417, 1992. p. 1-9.

COMINGS, D. Mechanisms of chromosome banding and amplifications for chromosome structure. *Annal Review of Genetics*. No. 12 (25), 1978. p.25-46.

CRISCI J. & LÓPEZ M.F. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaria General de los Estados Americanos, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. 1983. p. 1-119.

CRISCI J. & MORRONE J. Morfología, Moléculas y la Historia de la Vida. De Ortodoxias y Herejías; Innovación y Ciencia. Volumen IV- Nº1, 1995. p.59-60.

CUARTAS A. MUÑOZ J. & GONZALES M. Una nueva especie de *Carollia* Gray, 1838 (Chiroptera: Phyllostomidae) de Colombia. *Actualidades Biológicas*. No. 23 (75), 2001. p. 63-73.

CZIER M. & BACON ANNETTE. Introduction to quantitative systematic. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. New York. Vol. 93. Artículo 5, 1949. p. 349-388.

DA SILVA M. MARQUES-AGUIAR S. DE SOUZA-BARROS R. NAGAMACHI c.Y. &PIECZARKA J. C. Comparative Cytogenetic Analysis In The Species *Uroderma magnirostrum* And *U. bilobatum* (Cytotype $2n = 42$) (Phyllostomidae, Stenodermatinae) In The Brazilian Amazon. *Genetics And Molecular Biology*. Vol. 28 (2), 2005. p. 248-253.

DESCAILLEAUX. Et al. Manual de Técnicas de Citogenética Humana y de Mamíferos. 1979, citado en RODRIGUEZ PIAZZE, MARIA E. Cariotipo y Patrones de Bandas C en *Bufo espinolosus arequipensis*. *Rev. Ecol. Lat. Am*. Vol 2 (1-3), 1995. p. 5-11.

DREDS M. Una saga citogenética: El descubrimiento de los métodos de bandeo cromosómico. Significado y proyección bio-médica. Rev Med Uruguay. No.18, 2002. p. 107-121.

ESTRADA A. & COATES-ESTRADA R. Species composition and reproductive phenology of bats in a tropical landscape at Los Tuxtlas, México. Journal of Tropical Ecology. N. 17, 2001. p. 627-646.

GALLEGO L. Apuntes de morfometría. Universitat de les Illes Balears. Primera edición, 2005. p. 1-117.

GARCÍA, F. Evolución cromosómica en Simiiformes: homologías, reorganizaciones y heterocromatina. Memoria presentada para optar el grado de Doctor en Biología por la Universidad Autónoma Barcelona. Unidad de Biología Celular Universidad Autónoma de Barcelona. Ballaterra (Cerdanyola del Valles). España, 2001. p. 3-5.

GAUTHIER DOBIGNY. JEAN-FRANCOIS DUCROZ. & TERENCE ROBINSON. Cytogenetics and Cladistics. Vitaly Volobouev Systematic Biology. Vol. 53 (3), 2004. p. 470.

GIBSON J. Chromosomal change in mammalian speciation: A literature review. Geoscience Research Institute. Origenes. Vol. 11 (2), 1984. p.67-89.

GREGORY K. Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. Geological Society of America Bulletin. GSA Bulletin, 2006. p. 1091–1105.

HAHN. The families and genus of bats. United States National Museum, Bulletin 57. No. 07, 1907. p. 145-146.

HALFFTER G. La Diversidad Biológica De Iberoamérica I. Cytod-B Programa Iberoamericano De Ciencia Y Tecnología Para El Desarrollo Instituto De Ecología, A.C. Secretaria De Desarrollo Social. D.R. Instituto de Ecología, A.C. Ver. México. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 1992.p. 1-363.

HAYNIE M. BRANT J. MCALILEY R. CARRERA J. REVELEZ M. PARISH D. VITERI X. JONES C. & PHILIPS C. Investigations in a natural corridor between two national parks in Central Ecuador: Results from the Sowell Expedition, 2001. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University, 263a, 2006. p. 1-16.

HERNANDEZ L. Técnicas de morfometría geométrica. Editorial La Muralla-Hesperides. Madrid, 2001. p. 1-157.

HOFFMANN F.G. & BAKER R.J. Comparative phylogeography of Short-tailed bats (Carollia: Phyllostomidae). *Molecular Ecology* 12. Blackwell. 2003, p. 3403-3414.

HOOD C. ROBBINS L. & BAKER R. J. G- And C-Banding Chromosomal Studies Of Bats Of The Family Emballonuridae. Department Of Biological Sciences And The Museum, Texas Tech University, Lubbock, Tx 79409 (Csh, Lwr, Rjb). *Journal of Mammalogy*, Vol. 65(4), 1986,p.705-711.

HOOD C. SCHLITTER D. GEORGUDAKI J. YENBUTRA S. & BAKER R.J. Chromosomal studies of bats (Mammalia:Chiroptera) from Thailand. *Annals of Carnegie Museum*. Vol 57, 1988. p. 99-109.

HOSPITALECHE C. & TAMBUSI C. Skull morphometry of *Pygoscelis* (Sphenisciformes): inter and intraspecific variations. *Polar Biol.* No. 29, 2006, p.728-734.

HOWELL W. & BLACK D. A rapid technique for producing silver-staining nucleolus organizer regions and trypsin-giemsa bands on human chromosomes. *Human genetics* 43. 1978, p.53-56.

JIMÉNEZ L. La Citogenética en la Medicina Veterinaria. Universidad Nacional de Colombia. Tesis Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Citogenética. Santa fe de Bogota, 2000. p.134-135.

KEUNG OH Y. A Karyotype Study in Chiroptera (Bats). Department of Anatomy, Yonsey University College of Medicine. *Yonsei Medical Journal*. Seul- Korea. Vol. 16 (2), 1975. p. 1-4.

LAURIE R. GODFREY L. & MASTERS J. Kinetochore reproduction theory may explain rapid chromosome evolution. Department of Anthropology, Machmer Hall, University of Massachusetts, Amherst, ; and Natural Museum, Private Bag 9070, Pietermaritzburg, 3200 South Africa, 2000. p. 9821-9823.

LEJEUNE J, GAUTHIER M, TURPIN R. Les chromosomes humains en culture de tissus. *CR Acad Sci (Paris)* 1959; 248, citado en DREDS M. Una saga citogenética: El descubrimiento de los métodos de bandeado cromosómico. Significado y proyección bio-médica. *Rev Med Uruguay*. Vol. 18, 2002. p. 107-121.

LEVAN ,FREDGA & SANDBERG . Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Institute of Genetics, Lund, Swedwn and Roswell Park Memorial Institute. Buffalo, N.Y. USA. *Hereditas*. No. 52, 1964. p. 201-220.

LIANG-KONG L. MASAHARU M. & MASASHI H. Karyology of Ten Vespertilionid Bats (Chiroptera: Vespertilionidae) from Taiwán. Zoological Studies. Vol. 41(4), 2002. p. 347-354.

MAHECHA S. Caracterización citogenética de *Rhinoclemmys diademata* (Mertens, 1954) (Testudinata: Emydidae). Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogotá, 1998. p. 41-43.

MANTILLA, H. Y BAKER, R.J. Systematics of Small *Anoura* (Chiroptera: Phyllostomidae) from Colombia, with Description of a New Species. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University. No. 261, 2006. p. 2-18.

MARÍN A. & AGUILAR A. Murciélagos (Chiroptera) del departamento de Caquetá-Colombia. Biota Colombia. No. 6 (2), 2005. p. 211-218.

MATTHEY R. & BOVEY R. La formule chromosomique chez cinq species de chiropteres. Experientia. No. 4, 1948. p. 251-278.

MATTHEY R. The chromosome formulae of eutherian Mammals. Cytotaxonomy and vertebrate evolution. Acad. Press. London, N.Y. 1973. p. 531-616.

Mc LELLAN L. A. Morphometric Analysis of *Carollia* (Chiroptera, Phyllostomidae). American museum novitates. Published by The American Museum of Natural History Central Park. New York. No. 2791, 1984. p. 1-35.

McFEELY R.A. Domestic animal Cytogenetics, citado en JIMÉNEZ L. La Citogenética en la Medicina Veterinaria. Universidad Nacional de Colombia. Tesis Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Departamento de Ciencias Fisiológicas. Laboratorio de Citogenética. Santa fe de Bogotá, 2000. p. 134-135.

MUÑOS-SABA Y. LÓPEZ H. & CADENA A. Aportes al conocimiento de la ecología de los murciélagos de los afloramientos de mármoles y calizas, sector de Rio Claro (Antioquia- Colombia). Revista Académica Colombiana de Ciencias. Volumen XIII. Suplemento especial, 1999.

MUÑOZ J. Clave de Murciélagos Vivientes en Colombia. Ciencia y Tecnología. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín Colombia, 1995, p. 95-97.

MUÑOZ J. CUARTAS CALLE C. & GONZALES M. Se describe una nueva especie de murciélago del genero *Carollia* Gray, 1838 (Chiroptera: Phyllostomidae) de Colombia. Actualidades Biológicas. Vol. 26 (80), 2004. p. 80-90.

NORUSIS M.J. SPSS 10.0 Guide to Data Analysis. Upper Saddle River, N.J., 2000. p. 567.

NUMA C. VERDÚ J. SÁNCHEZ-PALOMINO P. Phyllostomid bat diversity in a variegated coffee landscape. *Biological Conservation* No. 122, 2005. p. 151–158.

OREJUELA J. E. La Reserva Natural “La Planada” y la biogeografía andina. *Humboldtia*. No. 1, 1987. p. 117-148.

OSPINA-ANTE O. & GÓMEZ L. Riqueza, abundancia relativa y patrones de actividad temporal de la comunidad de los murciélagos quirópteros de la reserva natural La Planada, Nariño, Colombia. *Revista Academia Colombiana de Ciencias*. Volumen 23. Suplemento Especial, 1999.

OWEN J.G. SCHMIDLY D.J. AND DAVIS W.B. A morphometric analysis of three species of *Carollia* (Chiroptera, Glossophaginae) from Middle America. *Mammalia*. N° 48 (1), 1984. p. 85-93.

PACHECO V. SOLARI S. & VELAZCO P. A new species of *Carollia* (Chiroptera: Phyllostomidae) from the Andes of Peru and Bolivia. *Occasional Papers*. Museum of Texas Tech University. No 236, 2004. p.1-16.

PACHECO V. & PATTERSON B. Systematics and biogeographic analysis of four species of *Sturnira* (Chiroptera: Phyllostomidae) with emphasis on peruvian forms. *Memorias del Museo de Historia Natural, UNMSM (Lima)*. No. 21, 1992. p. 57-81.

PARISH D.A. VISE P. WICHMAN H.A. BULL J.J. AND BAKER R.J. Distribution of LINEs and other repetitive elements in the Karyotype of the bat *Carollia*: implications for –chromosome inactivation. *Karger AG, Basel. Cytogenetic and Genome Research*. N° 96, 2002. p.191-197.

PATTERSON B. PACHECO V. & ASHLEY M. On the origins of the western slope región of endemism: systematics of fruit-eating nats, genus *Artibeus*. *Memorias del Museo de Historia Natural, UNMSM (Lima)*. No. 21, ---. p. 189-205.

PATTON J. & GARDER A. Parallel evolution of múltiple sex-chromosomes systems in the Phyllostomatid bats, *Carollia* and *Choeroniscus*. *Experientia* 27-1. Specialia. No. 15 (1), 1971. p. 105-106.

PINE, RH. The bats of the genus *Carollia*. Technical monograph of the Texas Agricultural Experiment Station N° 8, Texas A y M University, College station, 1972.

QUMSIYEH M. B. Evolution of Number and Morphology of Mammalian Chromosomes. *The Journal of Heredity*. 1994. (On line). Division of Cytogenetics, Duke University Medical. (citado 15 Abril 2007). Disponible en Word Wide Web: http://ww.w.oxfordjournals.org/site_map.html.

QUMSIYEH M.B. COATE J.L. PEPPERS J.A. KENNEDY P.K. & KENNEDY M.L. Robertsonian chromosomal rearrangments in the short-tailed shrew, *Blarina carolinensis*, in western Tennessee. Cytogenetics and Cell Genetics; Health & Medical Complete. Vol. 76 (3), 1997. p. 153.

REEVES A. & TEAR J. MicroMeasure. Versión 3.3. Colorado State University. (citado 15 Mayo 2007). Disponible en Word Wide Web : <http://www.Colostate.Edu/Deps/Biology/MicroMeasure/bugs.htm>

RICHTSMEIER J. BURKE V. & LELE SUBHASH. The promise of geometric morphometrics. Yearbook of Physical Anthropology. Wiley – Liss, INC. 45. 2002. p. 63-91.

ROCCHI A. On the heterogeneity of heterochromatin. Cariología. No. 35. 1982. p. 169-189.

RODRIGUEZ M. ALBERICO M. TRUJILLO E. & JORGENSON J. (Eds). Libro rojo de mamíferos de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Conservación internacional Colombia y Ministerios de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogota, Colombia, 2006. p. 433.

ROLFH J. NTSYSpc (Numerical Taxonomy System, Version 2.1). (citado 20 Noviembre 2007). Disponible en Word Wide Web <http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html>.

SANTOS N. FAGUNDES V. YONENAGA-YASSUDA Y. & SOUZA M. J. Comparative Karyology of Brazilian vampire bats *Desmodus rotundus* and *Diphylla ecaudata* (Phyllostomidae, Chiroptera): banding patterns, base-specific fluorochromes and FISH of ribosomal genes. -Hereditas 134, 2001. p.189-194.

SCHMID M. STENLEIN C. FEICHTINGER W & POOT M. Chromosome banding in amphibian. XVIII. Karyotype evolution and genomic size variation in Pleuroderma (Anura) Cytogenetic and Cell Genetic. No. 62, 1993. p. 42-48.

SEABRIGHT M. A rapid banding technic for human chromosomes. The Lancet. No. 11, 1972. p. 971-972.

SIMMONS N. B. Order Chiroptera. Pp. 312-529 in: Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference, 2005. Third Edition, Volume 1 (D. E. Wilson and D. M Reeder, eds.). Johns Hopkins University Press.

SOLARI S. & BAKER R.J. Mitochondrial DNA séquence, karyotypic, and morphological variation in the *Carollia castanea* species complex (Chirptera: Phyllostomidae) con description of new especies. Occasional Papers. Museum Texas Tech University. N° 254, 2006. p. 1-16.

SOLARI S. & ZURC D. Comunicación personal. Febrero de 2008. Universidad de Antioquia, Medellin- Antioquia. Colombia. 2008.

SORIANO P. Functional structure of bat communities in tropical Rainforests and andean cloud forests. Sociedad Venezolana de Ecología. ECOTROPICOS. No. 13(1), 2000. p. 1-20.

STOCK A. D. Chromosome banding pattern homology and its phylogenetic implications in the bat genera *Carollia* and *Choeroniscus*. Cytogenet Cell Genet. No. 14 (1), 1975. p. 34-41.

SUMMER A.T. A simple technique for demonstrate centromeric heterocromatin. Experimental cell research. No. 75, 1972. p. 304-306.

TERRY C.R. Evolution in the High Andes: The Phylogenetics of *Muscisaxicola* Ground-Tyrants. Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol. 15 (3), 2000. p. 369-380.

TIRIRA D. Historia Natural de los murciélagos Neotropicales. En Biología, Sistemática y Conservación de los mamíferos del Ecuador. Museo de Zoología, Centro de Biodiversidad y Ambiente. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Publicación especial 1, 1998. p. 31-56.

TOLLIVER D. K. AND L. W. ROBBINS. Techniques in Karyology: The Bone Marrow Extraction Method. Pages 69-74, in Tested studies for laboratory teaching. Volume 12. (C. A. Goldman, Editor). Proceedings of the 12th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE), 1991. p. 218.

VUJOSEVIC M.& BLAGOJEVIC J. B chromosomes in populations of mammals. Cytogenetic and Genome Research; Health & Medical Complete pg. 247, 2004. p. 2-4.

WETTERER A. Phylogeny of Phyllostomid Bats (Mammalia: Chiroptera): Data From Diverse Morphological Systems, Sex Chromosomes, And Restriction Sites. Graduate Fellow, Division of Vertebrate Zoology, Department of Mammalogy, American Museum of Natural History; Graduate Student, Program in Ecology and Evolutionary Biology Columbia University. Bulletin Of The American Museum Of Natural History. Nº 248, 2000. p. 5-7.

YORK H. & PAPES M. Limiting similarity in the short-tailed fruit bats. The Zoological Society of London. Journal of Zoology, 2007. p. 1-8.

ZIMA J. Chromosomal evolution in small mammals. (Insectivora, Chiroptera, Rodentia). Hystrix, (n.s.). Vol. 11 (2), 2000. p. 5-15.

ANEXOS

Anexo A. Fotografías de las tres especies de *Carollia* muestreadas en Nariño y tenidas en cuentas para este estudio. Parte superior *Carollia brevicauda* (Fotografía J.J. Calderón), parte media *Carollia perspicillata* (Fotografía E. Noguera) y parte inferior *Carollia* especie (Fotografía E. Noguera), en estas se aprecia la similitud morfológica y en patrones de color entre las tres especies.



Anexo B. Especímenes examinados en el presente estudio, aquéllos usados en el análisis morfométrico están marcados por un asterisco.

Carollia especie (12).- NARIÑO: Ancuya, Vereda “La Quinoa” (071). Chachagüi, Puente de Cimarrones, 10m Quebrada Cimarrones (EK006*, EK 008*, EK 009*, EK015*, EK017*, EK051*, EK053*, EK070*). San Lorenzo, Vereda La Pradera, Finca “La Granja” (EK011*, EK060*, EK061*).

Carollia Colombiana (1).- Antioquia, Barbosa, Vereda “La Cejita”, 1650m (MUA 11225- MBCC02- Holotipo).

Carollia monohernandezii (1).- Caquetá, Florencia, Villa cruz (MUA11014-MFlor012-Holotipo).

Carollia brevicauda (42).- NARIÑO: Chachagüi, Puente de Cimarrones, 10m Quebrada Cimarrones (EK041*, EKN045*, EK043*, EK058). NARIÑO: San Lorenzo, Vereda La Pradera, Finca “La Granja” (EK028*, EK037*, EK034*, EK033). Nariño, Ricaurte, Reserva Natural “La Planada” (RNLP 283*, RNLP 456*, RNLP 409,, RNLP 416*, RNLP 445*, RNLP 413*, RNLP 411*, RNLP 406*, RNLP 440*, RNLP 041*, RNLP 450*, RNLP 420*, RNLP 238*, RNLP 419*, RNLP 426*, RNLP 285*, RNLP 417*, RNLP 294*, RNLP 298*, RNLP 275*, RNLP 402*, RNLP 274*, RNLP 424*, RNLP 403*, RNLP 412*, RNLP 423*, RNLP 467*). Valle del Cauca, Yotoco, Entre las veredas La Gaviota y el Rubí, Reserva Liverpool, 1600 m (UV13360, UV13365, UV13368).-Risaralda, Corregimiento Florida Verde, La Suiza, Santuario de Flora y Fauna Otum Quimbaya (UV12686, UV12683, UV12684, UV12685).

Carollia perspicillata (26).- NARIÑO: Chachagüi, Puente de Cimarrones, 10m Quebrada Cimarrones (EK001, EK018, EK052*, EK054*, EK050*, EK056*, EK057, EK039*, EK069*, EK066* EK068* EK067* EK016*, EK014*). NARIÑO: Ancuya, Vereda “La Quinoa” (EK072*). NARIÑO: Tumaco, Granja Experimental “Mar Agrícola” (MUN-010). Valle del Cauca, Municipio de Buenaventura, Bajo Calima (UV4225, UV10404, UV10405, UV2806). Municipio de Buenaventura, Corregimiento de Llano Bajo, Carretera Vieja (UV2135, UV10535, UV2134, UV10549). Municipio de Buenaventura, Granja Agroforestal (UV11648). Municipio de Dagua, Atuncela, Quebrada Palmar (UV11063). Valle del Cauca, a 1.5 Km de Lobo Guerrero, 700m (UV2137).

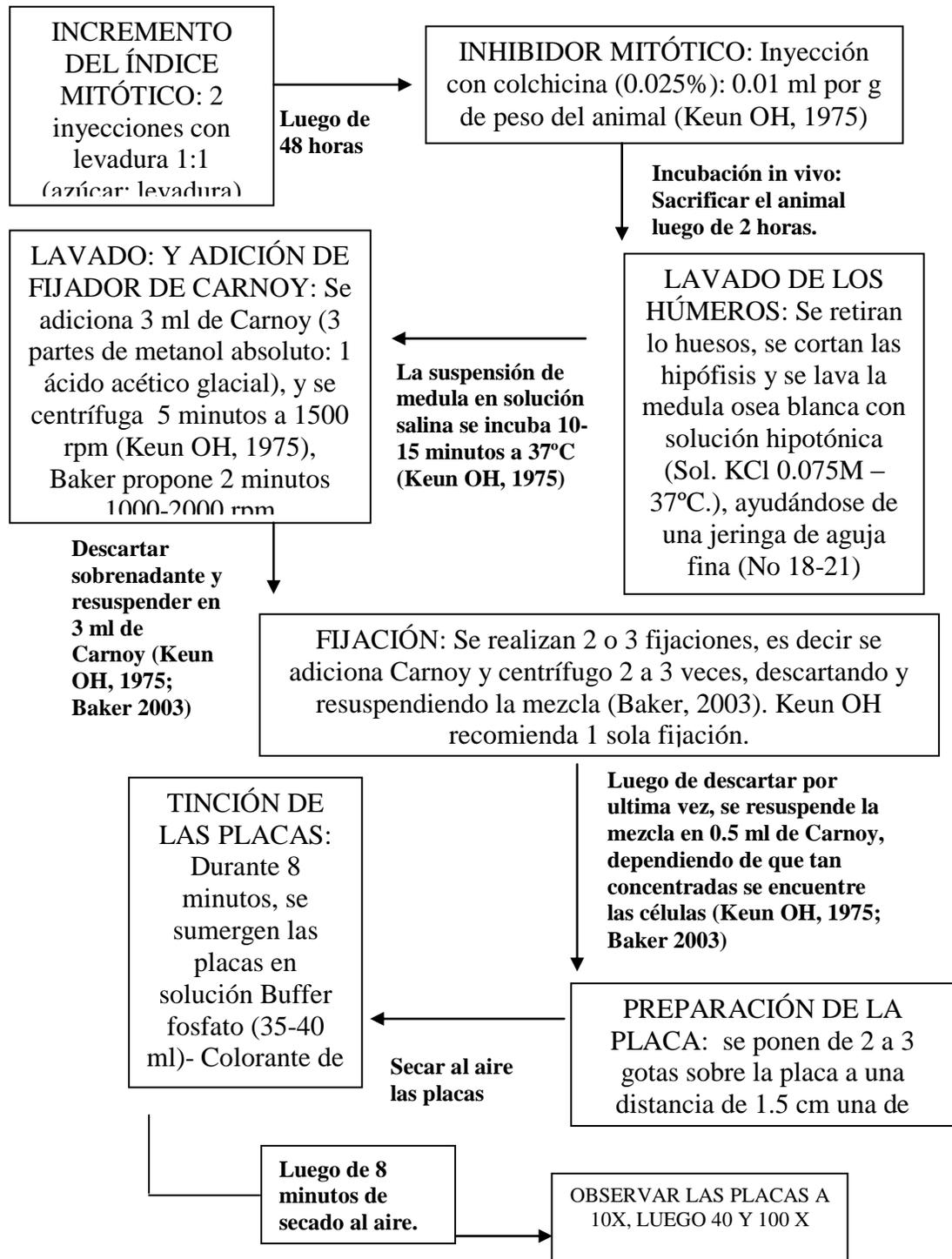
Carollia castanea (8).- Valle del Cauca, Municipio de Buenaventura, Bajo Calima (UV5692, UV7295, UV7290, UV5695, UV5699, UV5691, UV5703). Municipio de Dagua, Atuncela, Quebrada Palmar (UV11078).

Anexo C. Medidas de ejemplares de *Carollia* de Nariño, para las especies *Carollia brevicauda*, *Carollia perspicillata* y *Carollia* sp con el total de muestras usadas en el análisis morfométrico. Se indica la media y desviación estándar ($X \pm DS$), seguida por el número de casos (n).

VARIABLE	<i>Carollia</i> especie	<i>Carollia perspicillata</i>	<i>Carollia brevicauda</i>
AB*	41.4 \pm 1.4 (12)	42.2 \pm 1 (12)	40.8 \pm 1.2 (31)
Lpie*	12.3 \pm 2.1 (12)	11.6 \pm 1.3 (12)	11.7 \pm 1.1 (31)
LMC	23,29 \pm 0,37 (12)	22,98 \pm 0,59 (12)	22,16 \pm 0,45 (31)
LHMAX	7,86 \pm 0,25 (12)	7,92 \pm 0,28 (12)	7,13 \pm 0,28 (31)
EXM1M1	6,97 \pm 0,26 (12)	6,38 \pm 0,49 (12)	6,58 \pm 0,32 (31)
EXM2-M2	7,77 \pm 0,24 (12)	7,69 \pm 0,58 (12)	7,57 \pm 0,26 (31)
CC	5,27 \pm 0,16 (12)	5,13 \pm 0,16 (12)	5,1 \pm 0,17 (31)
INM1-M1	3,92 \pm 0,1 (12)	3,72 \pm 0,2 (12)	3,87 \pm 0,15 (31)
INM2-M2	4,49 \pm 0,1 (12)	4,27 \pm 0,19 (12)	4,4 \pm 0,18 (31)
INM3-M3	6,32 \pm 0,09 (12)	6,11 \pm 0,14 (12)	6,02 \pm 0,4 (31)
EXM3-M3	8,41 \pm 0,15 (12)	8,18 \pm 0,15 (12)	8,02 \pm 0,28 (31)
INPM2-PM2	4,03 \pm 0,15 (12)	3,81 \pm 0,06 (12)	3,85 \pm 0,2 (31)
DEPM1-PM1	5,3 \pm 0,1 (12)	5,16 \pm 0,16 (12)	5,09 \pm 0,19 (31)
DM3PM2	4,88 \pm 0,1 (12)	4,88 \pm 0,13 (12)	4,4 \pm 0,14 (31)
PAPM2-PM2	4,62 \pm 0,17 (12)	4,4 \pm 0,18 (12)	4,43 \pm 0,18 (31)
PAM3-M3	6,49 \pm 0,15 (12)	6,24 \pm 0,13 (12)	6,24 \pm 0,21 (31)
LHDS	6,33 \pm 0,09 (12)	6,29 \pm 0,17 (12)	5,71 \pm 0,17(31)
LMAN	15,52 \pm 0,27 (12)	15,25 \pm 0,39 (12)	14,88 \pm 0,34 (31)
LHMAN	8,83 \pm 0,13 (12)	8,84 \pm 0,2 (12)	8,22 \pm 0,25 (31)
LHC	7,11 \pm 0,13 (12)	7,08 \pm 0,22 (12)	6,49 \pm 0,47 (31)

* Medidas no utilizadas en el análisis morfométrico. (Convenciones AB: antebrazo, Lpie: longitud).

Anexo D. Protocolo resultado del complemento Baker *et al.* (2003), y Keun OH, 1975.



Anexo E. Protocolo base utilizado para la obtención de bandas G propuesto por Howell y Black (1978).

- Reactivos

Solución de Tripsina (2.5% Difco). Se adiciona 0.3 ml de solución de tripsina a 50 ml de Hanks sin Ca, Mg, ni rojo de fenol, a temperatura ambiente (18-20°C). Para la preparación de la solución salina de sodio y citrato (2XSSC), se agregan 0.025 g de Citrato de Sodio en 50 ml de solución salina preparada al 0.086-0.09%.

La solución de Hanks sin Ca, Mg, ni rojo de fenol se prepara agregando a 1 lt de agua estéril:

0.4 g de Cloruro de Potasio (KCl)

0.06 g de Fosfato Monofásico de Potasio Anhidro

8 g de Cloruro de Sodio, 0.0478 g de Fosfatodibásico de Sodio Anhidro

1 g de D-glucosa

0.35 g de Bicarbonato de Sodio

Se filtra y ajusta a pH 7.3 con Acido Clorhídrico (HCl) 0.1 N, se agita con una barra magnética.

La solución de Hanks con Ca, Mg y rojo de Fenol se prepara agregando a 1 lt de agua estéril:

0.182 g de Cloruro de Calcio hidratado

0.191 g de Sulfato de Magnesio heptahidratado

0.4 g de Cloruro de Potasio (KCl)

0.06 g de Fosfato Monofásico de Potasio Anhidro

1 g de D-glucosa

0.35 g de Bicarbonato de Sodio

0.11 g de Rojo de Fenol

Se filtra y ajusta a pH 7.3 con Acido Clorhídrico (HCl) 0.1 N, se agita con una barra magnética.

- Procedimiento

Se utilizan láminas envejecidas.

Se cubren con solución de tripsina en Hanks sin Ca, Mg, ni rojo de fenol durante 3-5 minutos a temperatura ambiente (18-20°C).

Se lavan durante 5 segundos con agua desionizada y se sacuden.

Se cubren las láminas con solución de Hanks con Ca, Mg y rojo de fenol durante 30 segundos a temperatura ambiente (18-20°C).

Se sacuden las láminas e inmediatamente se tiñen con Giemsa (3%) durante 10 minutos.

- Colorante para una lámina

4.85 ml de Buffer Giemsa (pH 6.8).

0.15 ml de colorante Giemsa recién filtrado.

Se lavan con agua desionizada y se dejan secar al aire. Se monta la preparación con Entellan después de deshidratar con Xilol.

Anexo F. Protocolo base utilizado para la obtención de bandas C propuesto por Summer (1972).

- Reactivos

Hidróxido de Bario al 5%, se agregan 4 g de Hidróxido de Bario en 100 ml de agua destilada. Se agita 30 minutos con barra magnética, luego se filtra, se envasa y posteriormente se filtra en cada uso.

La solución de Acido Clorhídrico al 0.2 N, se prepara diluyendo 16.5 ml de Acido Clorhídrico Analítico en 1 lt de agua destilada.

La solución Salina de Sodio y Citrato (2XSSC), consiste en diluir en 500 ml de agua estéril 8.76 g de Cloruro de Sodio y 4.41 g de Citrato de Sodio Dihidratado. Se ajusta a pH 7.0 con Hidróxido de Sodio al 1 N.

- Procedimiento

Se utilizan láminas envejecidas.

Sumergir en Acido Clorhídrico 0.2 N por 60 minutos a temperatura ambiente.

Lavar las placas con agua destilada a chorro.

En un recipiente sumergir las placas en Hidroxido de Bario entre 7 a 8 minutos a 56 °C. Lavar rápidamente.

Incubar láminas en solución (2XSSC) durante 1 hora a 53°C.

Se lavan las láminas con agua destilada o desionizada. Se tiñen con Giemsa por 30 minutos

- Colorante para una lámina

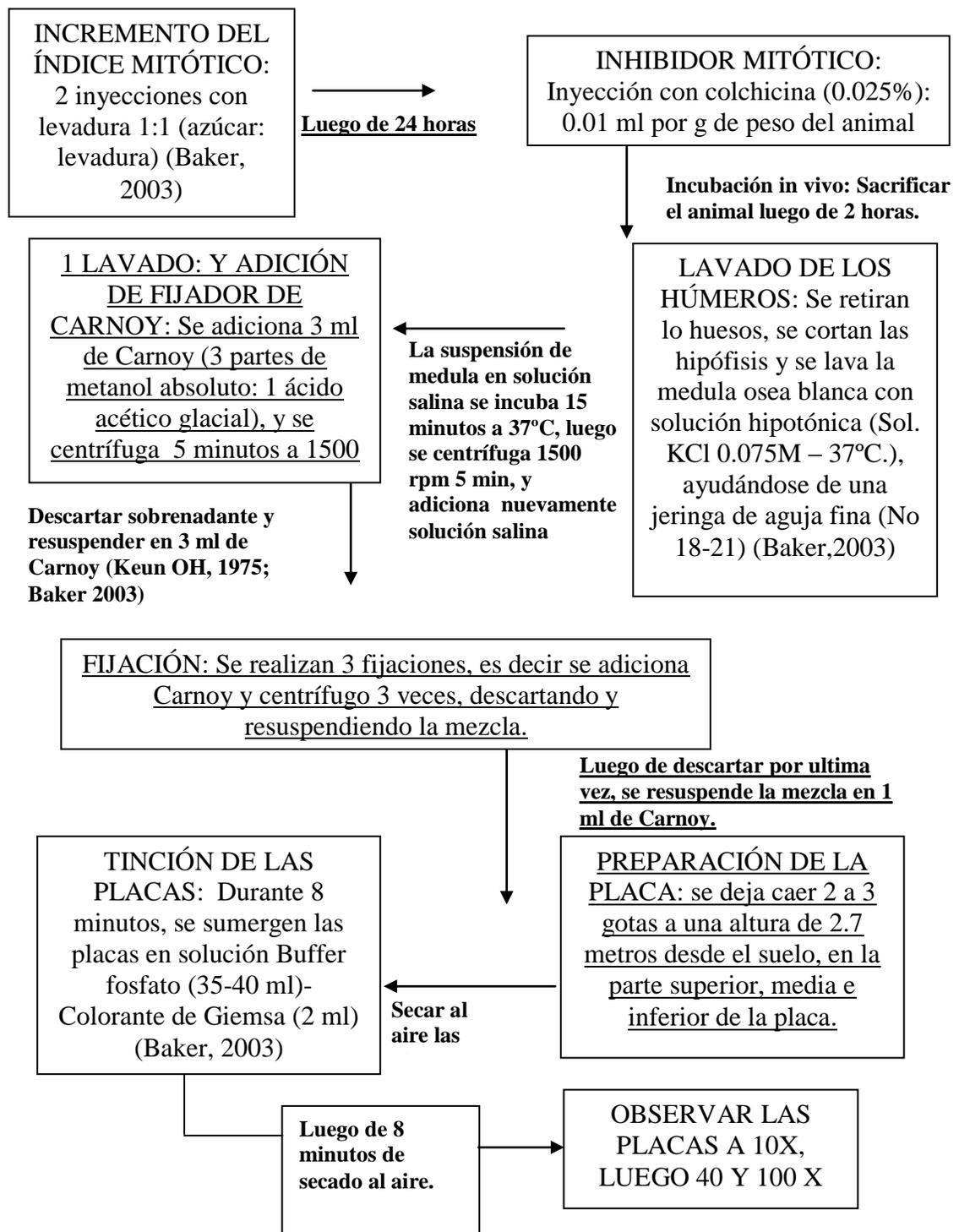
4.5 ml de agua destilada.

0.25 ml de Buffer Giemsa (pH 6.8).

0.25 ml de colorante Giemsa recién filtrado.

Se lavan con agua destilada y se dejan secar al aire. Se monta la preparación en permanente con Entellan.

Anexo G. Protocolo obtenido de la estandarización para la obtención de células metafásicas con cromosomas óptimos.



Anexo H. Datos de relación de longitud de los brazos, índice centromérico e índice braquial de las especies *Carollia perspicillata*, *Carollia brevicauda* y *Carollia* especie.

Carollia especie Hembra (EK009)						Carollia especie Hembra (EK009)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	12	0,93	11	14	Cromosoma 11	Long relativa	4	0,22	3	4
	Indice Centrom.	45	3,91	32	50		Indice Centrom.	40	6,36	26	50
	Indic Braquial	1	0,25	1	2		Indic Braquial	2	0,46	1	3
Cromosoma 2	Long relativa	12	0,93	11	14	Cromosoma 12	Long relativa	4	0,22	3	4
	Indice Centrom.	46	2,63	40	50		Indice Centrom.	41	4,52	32	49
	Indic Braquial	1	0,13	1	2		Indic Braquial	1	0,30	1	2
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,61	7	9	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,28	3	4
	Indice Centrom.	27	7,85	0	36		Indice Centrom.	41	7,36	23	50
	Indic Braquial	3	0,95	0	5		Indic Braquial	2	0,58	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,61	7	9	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,28	3	4
	Indice Centrom.	26	5,58	18	41		Indice Centrom.	41	8,19	20	49
	Indic Braquial	3	0,79	1	4		Indic Braquial	2	0,79	1	4
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,42	7	8	Cromosoma 15	Long relativa	3	0,31	2	3
	Indice Centrom.	27	6,56	15	40		Indice Centrom.	43	5,36	32	50
	Indic Braquial	3	1,11	2	6		Indic Braquial	1	0,31	1	2
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,42	7	8	Cromosoma 16	Long relativa	3	0,30	2	3
	Indice Centrom.	29	5,08	19	37		Indice Centrom.	39	11,77	0	50
	Indic Braquial	3	0,70	2	4		Indic Braquial	1	0,58	0	3
Cromosoma 7	Long relativa	6	0,74	4	7	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,30	2	3
	Indice Centrom.	29	7,94	18	46		Indice Centrom.	44	4,66	33	49
	Indic Braquial	3	1,00	1	5		Indic Braquial	1	0,27	1	2
Cromosoma 8	Long relativa	6	0,74	4	7	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,28	2	3
	Indice Centrom.	31	8,68	19	46		Indice Centrom.	42	5,91	29	50
	Indic Braquial	2	0,94	1	4		Indic Braquial	1	0,39	1	3
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,24	4	5	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,49	1	2
	Indice Centrom.	40	5,57	28	49		Indice Centrom.	42	5,58	32	50
	Indic Braquial	2	0,39	1	3		Indic Braquial	1	0,34	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,24	4	5	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,25	1	2
	Indice Centrom.	39	6,98	28	49		Indice Centrom.	41	1,85	44	49
	Indic Braquial	2	0,49	1	3		Indic Braquial	1	0,09	1	1

Carollia especie Hembra (EK051)						Carollia especie Hembra (EK051)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	12	1,14	8	15	Cromosoma 11	Long relativa	3	0,31	3	5
	Indice Centrom.	45	4,16	27	50		Indice Centrom.	38	8,44	20	50
	Indic Braquial	1	0,28	1	3		Indic Braquial	2	0,77	1	4
Cromosoma 2	Long relativa	12	1,14	8	15	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,31	3	5
	Indice Centrom.	43	7,75	16	49		Indice Centrom.	36	9,06	17	50
	Indic Braquial	2	0,84	1	5		Indic Braquial	2	0,87	1	5
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,53	7	10	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,26	2	4
	Indice Centrom.	26	7,83	15	50		Indice Centrom.	40	7,75	24	50
	Indic Braquial	3	0,96	1	6		Indic Braquial	2	0,59	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,53	7	10	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,26	2	4
	Indice Centrom.	26	6,35	13	46		Indice Centrom.	43	6,77	21	50
	Indic Braquial	3	1,13	1	7		Indic Braquial	1	0,57	1	4
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,41	6	8	Cromosoma 15	Long relativa	3	0,36	2	3
	Indice Centrom.	24	5,26	15	42		Indice Centrom.	44	5,48	21	50
	Indic Braquial	3	0,93	1	6		Indic Braquial	1	0,42	1	4
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,41	6	8	Cromosoma 16	Long relativa	3	0,36	2	3
	Indice Centrom.	24	5,28	15	44		Indice Centrom.	43	5,88	22	50
	Indic Braquial	3	0,89	1	6		Indic Braquial	1	0,46	1	4
Cromosoma 7	Long relativa	7	0,58	5	8	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,49	1	3
	Indice Centrom.	25	5,30	13	42		Indice Centrom.	45	5,61	22	50
	Indic Braquial	3	0,96	1	7		Indic Braquial	1	0,46	1	4
Cromosoma 8	Long relativa	7	0,58	5	8	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,41	1	3
	Indice Centrom.	26	7,85	13	48		Indice Centrom.	44	3,99	33	50
	Indic Braquial	3	1,09	1	7		Indic Braquial	1	0,23	1	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,57	3	7	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,47	1	3
	Indice Centrom.	37	7,02	21	50		Indice Centrom.	45	3,44	39	50
	Indic Braquial	2	0,62	1	4		Indic Braquial	1	0,19	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,57	3	7	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,38	1	3
	Indice Centrom.	37	8,38	13	50		Indice Centrom.	44	4,58	30	50
	Indic Braquial	2	1,02	1	7		Indic Braquial	1	0,29	1	2

Carollia especie Hembra (EK070)						Carollia especie Hembra (EK070)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	13	1,00	11	16	Cromosoma 11	Long relativa	3	0,27	3	4
	Indice Centrom.	44	7,82	12	50		Indice Centrom.	39	9,01	21	70
	Indic Braquial	1	1,05	1	7		Indic Braquial	2	0,69	1	4
Cromosoma 2	Long relativa	13	1,00	11	16	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,27	3	4
	Indice Centrom.	43	8,74	13	50		Indice Centrom.	39	9,16	22	70
	Indic Braquial	2	1,13	1	7		Indic Braquial	2	0,65	1	4
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,63	7	10	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,33	2	4
	Indice Centrom.	24	6,23	10	46		Indice Centrom.	41	7,60	24	70
	Indic Braquial	3	1,35	1	9		Indic Braquial	2	0,47	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,63	7	10	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,33	2	4
	Indice Centrom.	25	7,71	12	49		Indice Centrom.	43	9,66	0	71
	Indic Braquial	3	1,34	1	8		Indic Braquial	1	0,59	0	4
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,46	6	9	Cromosoma 15	Long relativa	3	0,39	2	3
	Indice Centrom.	24	5,95	13	39		Indice Centrom.	43	9,45	0	79
	Indic Braquial	3	1,16	2	7		Indic Braquial	1	0,37	0	2
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,46	6	9	Cromosoma 16	Long relativa	3	0,39	2	3
	Indice Centrom.	23	7,78	14	48		Indice Centrom.	43	7,87	27	79
	Indic Braquial	4	1,27	1	6		Indic Braquial	1	0,43	1	3
Cromosoma 7	Long relativa	5	0,44	4	6	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,40	1	3
	Indice Centrom.	27	9,50	14	47		Indice Centrom.	43	9,20	29	93
	Indic Braquial	3	1,28	1	6		Indic Braquial	1	0,36	1	3
Cromosoma 8	Long relativa	5	0,44	4	6	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,36	2	3
	Indice Centrom.	32	11,89	9	50		Indice Centrom.	46	9,25	35	100
	Indic Braquial	3	2,14	1	10		Indic Braquial	1	0,25	1	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,32	3	5	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,47	0	3
	Indice Centrom.	37	8,53	18	63		Indice Centrom.	44	10,92	24	102
	Indic Braquial	2	0,74	1	5		Indic Braquial	1	0,46	1	3
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,32	3	5	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,33	1	3
	Indice Centrom.	37	9,63	9	67		Indice Centrom.	46	16,46	29	122
	Indic Braquial	2	1,44	1	10		Indic Braquial	1	0,39	1	3

Carollia especie Hembra (EK071)						Carollia especie Hembra (EK071)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	13	1,00	10	17	Cromosoma 11	Long relativa	3	0,35	3	5
	Indice Centrom.	45	4,73	28	50		Indice Centrom.	37	8,34	19	49
	Indic Braquial	1	0,31	1	3		Indic Braquial	2	0,84	1	4
Cromosoma 2	Long relativa	13	1,00	10	17	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,35	3	5
	Indice Centrom.	43	7,85	12	50		Indice Centrom.	39	8,63	22	50
	Indic Braquial	2	1,07	1	7		Indic Braquial	2	0,74	1	4
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,70	7	12	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,26	2	3
	Indice Centrom.	25	7,41	15	46		Indice Centrom.	42	5,67	28	50
	Indic Braquial	3	1,10	1	6		Indic Braquial	1	0,39	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,70	7	12	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,26	2	3
	Indice Centrom.	24	7,50	13	50		Indice Centrom.	41	7,56	20	50
	Indic Braquial	3	1,16	1	7		Indic Braquial	2	0,62	1	4
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,41	6	8	Cromosoma 15	Long relativa	2	0,25	2	3
	Indice Centrom.	23	6,65	14	49		Indice Centrom.	43	5,10	31	50
	Indic Braquial	4	1,13	1	6		Indic Braquial	1	0,31	1	2
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,41	6	8	Cromosoma 16	Long relativa	2	0,25	2	3
	Indice Centrom.	24	6,47	13	47		Indice Centrom.	45	4,28	32	50
	Indic Braquial	3	1,10	1	7		Indic Braquial	1	0,25	1	2
Cromosoma 7	Long relativa	6	0,64	5	7	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,35	1	3
	Indice Centrom.	24	8,66	12	48		Indice Centrom.	44	4,94	29	50
	Indic Braquial	4	1,41	1	8		Indic Braquial	1	0,29	1	2
Cromosoma 8	Long relativa	6	0,64	5	7	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,28	1	3
	Indice Centrom.	25	8,69	14	49		Indice Centrom.	45	4,32	34	50
	Indic Braquial	3	1,30	1	6		Indic Braquial	1	0,24	1	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,48	3	6	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,40	1	2
	Indice Centrom.	36	7,92	15	50		Indice Centrom.	45	3,64	35	50
	Indic Braquial	2	0,84	1	6		Indic Braquial	1	0,20	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,48	3	6	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,30	1	2
	Indice Centrom.	35	6,92	22	49		Indice Centrom.	45	5,32	30	50
	Indic Braquial	2	0,62	1	4		Indic Braquial	1	0,34	1	2

Carollia perspicillata Hembra (EK050)						Carollia perspicillata Hembra (EK050)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	12	0,99	11	15	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,32	2	4
	Indice Centrom.	45	5,11	21	50		Indice Centrom.	36	7,65	21	49
	Indic Braquial	1	0,40	1	4		Indic Braquial	2	0,66	1	4
Cromosoma 2	Long relativa	12	0,99	11	15	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,32	2	4
	Indice Centrom.	44	6,31	20	50		Indice Centrom.	35	7,69	24	50
	Indic Braquial	1	0,61	1	4		Indic Braquial	2	0,62	1	3
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,83	7	11	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,34	2	4
	Indice Centrom.	25	8,16	17	48		Indice Centrom.	43	6,67	22	50
	Indic Braquial	3	1,01	1	5		Indic Braquial	1	0,49	1	4
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,83	7	11	Cromosoma 15	Long relativa	3	0,34	2	4
	Indice Centrom.	25	7,12	15	47		Indice Centrom.	43	6,32	16	50
	Indic Braquial	3	1,00	1	6		Indic Braquial	1	0,64	1	5
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,49	5	8	Cromosoma 16	Long relativa	2	0,36	2	3
	Indice Centrom.	24	6,72	14	47		Indice Centrom.	45	3,89	33	50
	Indic Braquial	3	1,00	1	6		Indic Braquial	1	0,23	1	2
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,49	5	8	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,36	2	3
	Indice Centrom.	24	6,52	0	42		Indice Centrom.	45	4,32	29	50
	Indic Braquial	3	0,96	0	6		Indic Braquial	1	0,27	1	3
Cromosoma 7	Long relativa	6	0,82	5	8	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,39	1	3
	Indice Centrom.	26	5,79	18	45		Indice Centrom.	43	9,85	0	50
	Indic Braquial	3	0,81	1	5		Indic Braquial	1	0,34	0	2
Cromosoma 8	Long relativa	6	0,82	5	8	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,33	1	3
	Indice Centrom.	28	9,73	0	50		Indice Centrom.	45	4,07	34	50
	Indic Braquial	3	1,15	0	6		Indic Braquial	1	0,22	1	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,32	3	5	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,44	0	3
	Indice Centrom.	35	7,90	0	50		Indice Centrom.	44	3,96	33	50
	Indic Braquial	2	0,59	0	4		Indic Braquial	1	0,23	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,32	3	5	Cromosoma 21	Long relativa	2	0,31	1	3
	Indice Centrom.	37	7,45	15	50		Indice Centrom.	43	4,40	33	50
	Indic Braquial	2	0,82	1	6		Indic Braquial	1	0,26	1	2

<i>Carollia perspicillata</i> Hembra (EK052)						<i>Carollia perspicillata</i> Hembra (EK052)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	12	0,87	10	15	Cromosoma 11	Long relativa	3	0,21	3	4
	Indice Centrom.	45	3,06	34	50		Indice Centrom.	39	7,60	18	50
	Indic Braquial	1	0,17	1	2		Indic Braquial	2	0,65	1	5
Cromosoma 2	Long relativa	12	0,87	10	15	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,21	3	4
	Indice Centrom.	43	7,36	10	50		Indice Centrom.	40	6,23	28	49
	Indic Braquial	2	1,25	1	9		Indic Braquial	2	0,43	1	3
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,47	7	9	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,23	2	4
	Indice Centrom.	25	5,68	13	44		Indice Centrom.	42	5,58	26	50
	Indic Braquial	3	0,92	1	7		Indic Braquial	1	0,38	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,47	7	9	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,23	2	4
	Indice Centrom.	23	4,85	16	43		Indice Centrom.	44	4,64	31	50
	Indic Braquial	3	0,83	1	5		Indic Braquial	1	0,29	1	2
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,41	5	8	Cromosoma 15	Long relativa	3	0,29	2	4
	Indice Centrom.	24	5,83	18	47		Indice Centrom.	44	4,07	35	50
	Indic Braquial	3	0,84	1	5		Indic Braquial	1	0,23	1	2
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,41	5	8	Cromosoma 16	Long relativa	3	0,29	2	4
	Indice Centrom.	25	5,43	16	40		Indice Centrom.	44	4,58	32	50
	Indic Braquial	3	0,82	2	5		Indic Braquial	1	0,27	1	2
Cromosoma 7	Long relativa	6	0,77	4	7	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,35	1	3
	Indice Centrom.	26	6,12	12	41		Indice Centrom.	46	4,50	26	50
	Indic Braquial	3	1,02	1	7		Indic Braquial	1	0,30	1	3
Cromosoma 8	Long relativa	6	0,77	4	7	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,30	2	3
	Indice Centrom.	27	8,07	11	46		Indice Centrom.	45	5,00	31	50
	Indic Braquial	3	1,18	1	8		Indic Braquial	1	0,30	1	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,48	4	6	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,43	1	3
	Indice Centrom.	36	7,64	15	48		Indice Centrom.	45	3,96	36	50
	Indic Braquial	2	0,84	1	6		Indic Braquial	1	0,22	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,48	4	6	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,24	2	3
	Indice Centrom.	38	6,87	20	50		Indice Centrom.	44	3,95	34	50
	Indic Braquial	2	0,59	1	4		Indic Braquial	1	0,23	1	2

<i>Carollia perspicillata</i> Hembra (EK056)						<i>Carollia perspicillata</i> Hembra (EK056)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	12	1,34	6	14	Cromosoma 11	Long relativa	3	0,31	3	4
	Indice Centrom.	44	6,85	17	50		Indice Centrom.	37	7,15	22	49
	Indic Braquial	1	0,76	1	5		Indic Braquial	2	0,58	1	4
Cromosoma 2	Long relativa	12	1,11	7	14	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,31	3	4
	Indice Centrom.	42	10,06	14	50		Indice Centrom.	38	7,01	24	50
	Indic Braquial	2	1,15	1	6		Indic Braquial	2	0,54	1	3
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,65	6	10	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,33	2	4
	Indice Centrom.	24	4,89	13	36		Indice Centrom.	40	7,68	23	50
	Indic Braquial	3	0,94	2	7		Indic Braquial	2	0,59	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,62	6	10	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,33	2	4
	Indice Centrom.	22	5,83	12	47		Indice Centrom.	44	4,72	28	50
	Indic Braquial	4	1,20	1	7		Indic Braquial	1	0,30	1	3
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,46	6	9	Cromosoma 15	Long relativa	3	0,38	2	4
	Indice Centrom.	25	5,92	14	45		Indice Centrom.	44	4,90	26	50
	Indic Braquial	3	0,95	1	6		Indic Braquial	1	0,32	1	3
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,47	6	9	Cromosoma 16	Long relativa	3	0,38	2	4
	Indice Centrom.	23	5,37	15	41		Indice Centrom.	45	4,23	31	50
	Indic Braquial	3	0,94	1	6		Indic Braquial	1	0,25	1	2
Cromosoma 7	Long relativa	6	0,55	5	8	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,47	1	3
	Indice Centrom.	25	6,72	16	48		Indice Centrom.	45	4,96	25	50
	Indic Braquial	3	0,98	1	5		Indic Braquial	1	0,34	1	3
Cromosoma 8	Long relativa	6	0,56	5	8	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,39	2	3
	Indice Centrom.	25	6,80	14	48		Indice Centrom.	44	7,17	0	50
	Indic Braquial	3	1,08	1	6		Indic Braquial	1	0,26	0	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,44	4	6	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,49	1	3
	Indice Centrom.	36	7,06	21	49		Indice Centrom.	44	4,69	30	50
	Indic Braquial	2	0,61	1	4		Indic Braquial	1	0,28	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,42	4	6	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,37	1	3
	Indice Centrom.	37	6,86	21	50		Indice Centrom.	44	4,01	34	50
	Indic Braquial	2	0,58	1	4		Indic Braquial	1	0,23	1	2

Carollia brevicauda Hembra (EK058)						Carollia brevicauda Hembra (EK058)					
	Variable	Media	Desviacion	Min	Max		Variable	Media	Desviacion	Min	Max
Cromosoma 1	Long relativa	12	1,032138507	10	15	Cromosoma 11	Long relativa	3	0,323644258	3	4
	Indice Centrom.	45	4,841236109	19	50		Indice Centrom.	36	8,041142472	18	50
	Indic Braquial	1	0,473184734	1	4		Indic Braquial	2	0,775962891	1	4
Cromosoma 2	Long relativa	12	1,039920566	10	15	Cromosoma 12	Long relativa	3	0,323644258	3	4
	Indice Centrom.	42	8,59697537	19	50		Indice Centrom.	37	8,089146576	17	49
	Indic Braquial	2	0,891931086	1	4		Indic Braquial	2	0,748702238	1	5
Cromosoma 3	Long relativa	8	0,571890094	7	9	Cromosoma 13	Long relativa	3	0,363938778	2	4
	Indice Centrom.	24	7,459899581	9	48		Indice Centrom.	42	5,504251994	29	49
	Indic Braquial	4	1,408895356	1	10		Indic Braquial	1	0,363748091	1	3
Cromosoma 4	Long relativa	8	0,571890094	7	9	Cromosoma 14	Long relativa	3	0,363938778	2	4
	Indice Centrom.	22	5,347022307	13	46		Indice Centrom.	42	5,971268706	28	50
	Indic Braquial	4	0,9530078	1	7		Indic Braquial	1	0,393835477	1	3
Cromosoma 5	Long relativa	7	0,436504914	6	8	Cromosoma 15	Long relativa	2	0,351855134	2	3
	Indice Centrom.	23	5,126413977	15	40		Indice Centrom.	43	5,652047675	29	50
	Indic Braquial	4	0,911835022	2	6		Indic Braquial	1	0,385046581	1	3
Cromosoma 6	Long relativa	7	0,436504914	6	8	Cromosoma 16	Long relativa	2	0,351855134	2	3
	Indice Centrom.	22	4,568312813	14	34		Indice Centrom.	44	6,052782787	27	50
	Indic Braquial	4	0,999995375	2	6		Indic Braquial	1	0,418357654	1	3
Cromosoma 7	Long relativa	6	0,54646285	5	7	Cromosoma 17	Long relativa	2	0,376384278	2	3
	Indice Centrom.	24	6,855553398	11	45		Indice Centrom.	44	4,062857186	34	50
	Indic Braquial	4	1,234037768	1	8		Indic Braquial	1	0,229567425	1	2
Cromosoma 8	Long relativa	6	0,54646285	5	7	Cromosoma 18	Long relativa	2	0,376384278	2	3
	Indice Centrom.	26	8,372260484	17	49		Indice Centrom.	44	4,023449995	31	50
	Indic Braquial	3	1,02107306	1	5		Indic Braquial	1	0,237723555	1	2
Cromosoma 9	Long relativa	4	0,390355515	3	5	Cromosoma 19	Long relativa	2	0,420585518	1	3
	Indice Centrom.	31	7,031274131	15	49		Indice Centrom.	45	4,074565957	34	50
	Indic Braquial	2	0,803651472	1	6		Indic Braquial	1	0,230772212	1	2
Cromosoma 10	Long relativa	4	0,390355515	3	5	Cromosoma 20	Long relativa	2	0,38038812	1	3
	Indice Centrom.	35	6,34245201	24	49		Indice Centrom.	44	4,090933534	35	50
	Indic Braquial	2	0,557648028	1	3		Indic Braquial	1	0,212418914	1	2

