

DANIELY FREITAS DO NASCIMENTO

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM MORCEGOS DA FAMÍLIA
THYROPTERIDAE

BELÉM
2017

DANIELY FREITAS DO NASCIMENTO

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM MORCEGOS DA FAMÍLIA
THYROPTERIDAE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciatura em Biologia.

Orientador: Prof Dr Júlio Cesar Pieczarka.
Laboratório de Citogenética, Centro de Estudos Avançados da Biodiversidade – ICB – UFPA

BELÉM
2017

DANIELY FREITAS DO NASCIMENTO

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM MORCEGOS DA FAMÍLIA
THYROPTERIDAE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciatura em Biologia.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Pieczarka.
Laboratório de Citogenética, Centro de Estudos Avançados da Biodiversidade – ICB – UFPA

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Pieczarka.
Laboratório de Citogenética, Centro de Estudos Avançados da Biodiversidade – ICB – UFPA

Avaliador: Msc. Ramon Everton Ferreira de Araújo
Escola de Aplicação da UFPA

Avaliadora: Prof. Dra. Cleusa Yoshiko Nagamachi
Laboratório de Citogenética, Centro de Estudos Avançados da Biodiversidade – ICB – UFPA

*À minha família, em especial
Aos meus pais: Célia Freitas e Augusto Nascimento,
Por todo apoio, amor, incentivo e carinho...*

Agradecimentos

Acima de tudo, agradeço a Deus, a quem eu mais recorri orando e pedindo ajuda, pela oportunidade e por ter me dado forças para superar todas as dificuldades encontradas ao longo de todos esses anos...

Ao longo destes anos, muitas pessoas contribuíram para a realização deste trabalho. Sou grata a todas, em especial: Ao meu orientador Prof. Dr. Julio Pieczarka que me abriu as portas do laboratório de citogenética durante a graduação. Agradeço de coração a confiança em meus trabalhos, a orientação, a paciência e o apoio. Espero um dia retribuir a altura. Sou muito agradecida às professoras: Dra. Cleusa Nagamachi e Dra. Renata Noronha, pelos conselhos, ensinamentos, críticas científicas e apoio ao meu trabalho.

A minha co-orientadora Thayse Benathar agradeço imensamente pela sua confiança, pelo acompanhamento em minha carreira científica, pela amizade, incentivo no meu trabalho e apoio em momentos particulares da minha vida. Espero um dia retribuir a disponibilidade e competência com que sempre me orientou.

Meus sinceros agradecimentos aos meus colegas de grupo (morcegos), Thayse, Jéssica Silva (Lab Citogen), Leonardo Trevellin, Catarina Souza e Samara Barroso (MPEG), obrigada pela companhia nas coletas de campo, pela parceria, pela grande amizade, me acompanhando e dividindo importantes momentos, aprendi muito com vocês.

Aos colegas do laboratório de Citogenética e aos técnicos: Conceição, a Shirley e ao seu Jorge que de alguma forma contribuíram para ampliar meus conhecimentos práticos e teóricos em laboratório e me acolheram desde o início, sempre me aconselhando e ajudando a melhorar minhas técnicas e a melhorar a qualidade do meu material.

Ao CNPq, CAPES e FAPESP, pelos auxílios financeiros concedidos;

Aos meus amores da graduação Carlos Renato (Mô) e Catarina Souza (Minha minionzinha) que me ajudaram em todos os momentos difíceis ao longo da graduação, meu eterno agradecimento, vocês me ajudaram a não surtar rsrs.. obrigada pela amizade,

pela ajuda, apoio, amor, por me ajudar não somente na graduação mas em minha vida, vou leva-los comigo para sempre. Juliana Penha e Socorro Almeida que nos acolheram e disponibilizaram sua casa para que pudéssemos fazer nossos trabalhos (Nosso QG), nos receberam com muito amor, muito obrigada por tudo. E não tem como esquecer o Luciano Souza (esquema) obrigado pela amizade, pela companhia no laboratório, pelas conversas, por me ajudar com meu material... a lista é longa rsrs... Obrigada Lu!

Aos grandes amigos de longa caminhada que perto ou distantes, estiveram sempre presentes e disponíveis em minha vida; Rayane Sales, Tayara Santos, Emanuelle Pantoja, Samantha Henschel, Adriana Valadares, Cristiane Vasconcelos, Darlene Nogueira, Diony Neri, Andressa Neri, Caroline Freitas, Graciete Ferreira, Rita Tomaz e Catarina Magno muito obrigada por todos esses longos anos de amizade e paciência com a minha falta de tempo.

Aos meus pais, Célia Freitas e Augusto Nascimento, talvez não existam palavras suficientes e significativas que me permitam agradecer vocês da forma que merecem. Eu devo tudo que sou a vocês, e se sinto orgulho de mim e do lugar aonde cheguei é porque sei que estiveram o tempo todo comigo. Tenho muito orgulho e admiração por vocês. Saibam que nada disso seria possível se não fosse pelo apoio, dedicação, amor, carinho com o qual me criaram e estiveram ao meu lado me dando força e muita coragem para superar os tantos obstáculos que surgiram ao longo desses anos. Amo muito vocês.

Aos meus avós, Esmeraldo Freitas (*in memorian*), Madalena Freitas, Emanuel Nascimento (*in memorian*) e Maria Nascimento, meu eterno agradecimento a vocês pelo apoio, por todo incentivo, pelo suporte, pelo meu combustível (que é o amor incondicional de vocês), por me inspirar a ser sempre uma pessoa melhor, Amo-os.

A toda minha família: meus irmãos, Elton e Augusto, a minha madrasta, Dulcilene Nogueira, as minhas tias e tios, M^a das Graças (*in memorian*), Suely, Marcia, M^a do Carmo, Socorro, Alice, Antônio Carlos, Adalto, Ailton, Everaldo, Edvaldo, Manoel e Esmeraldo, meus primos e primas, obrigada pelo apoio, torcida, carinho, cuidado e incentivo durante todos esses anos.

Sumário

1. Introdução.....	10
1.1 Citogenética.....	15
2. Justificativa.....	16
3. Objetivo.....	17
3.1 Objetivo Geral.....	17
3.2 Objetivos Específicos.....	17
4. Materiais e Métodos.....	18
5. Resultados e Discussão.....	20
6. Conclusão.....	27
7. Referências Bibliográfica.....	28

Lista de Figuras e Tabelas

Figura 1. Representantes da Família Thyropteridae. A) *Thyroptera devivoi*; B) *Thyroptera discifera*; C) *Thyroptera lavalii*; D) *Thyroptera tricolor*; E) *Thyroptera wynneae*.

Figura 2. Representantes das Famílias A) Thyropteridae, B) Natalidae e C) Furipteridae.

Figura 3. Disco polegar de *Thyroptera tricolor*. Fonte: M.B. Fenton, 2001.

Figura 4. Tipos de abrigos utilizados por Tiropterídeos. A) Representante da família Musacea e B) Representante do gênero Cecropia.

Figura 5. Cariótipos de *Thyroptera*. A) *T. tricolor*, retirado de Baker et al. (1970); B) *T. discifera*, retirado de Baker et al. (1981).

Tabela 1. Identificação e local de amostragem dos espécimes estudados.

Figura 6. Mapa do Brasil evidenciando os pontos de coleta das amostras analisadas no presente estudo.

Tabela 2. Número e morfologia dos cromossomos autossomos e sexuais de quatro espécimes de *Thyroptera tricolor* e dois espécimes de *T. discifera*. Localidades: CTP= Comunidade Terra Preta; TS= Terra Santa, Faro; VM= Vila Maracanã, Faro. 2n= Número diplóide; NF= Número fundamental; SM= Submetacêntrico; A= Acrocêntrico; CV= Coloração convencional; BG= Bandeamento G; BC= Bandeamento C; AG= Coloração por nitrato de prata (Ag-NOR).

Figura 7. Cariótipo de *Thyroptera tricolor* proveniente do estado do Amazonas com 2n=42 NF= 40. A) Coloração convencional; B) Bandeamento G; C) Bandeamento C; D) Bandeamento NOR.

Figura 8. Cariótipo de *Thyoptera tricolor* proveniente do estado do Pará com $2n=41$ NF= 40. A) Coloração convencional. B) Bandeamento G; C) Bandeamento C; D) Bandeamento NOR.

Figura 9. Esquema dos rearranjos envolvidos na evolução cariotípica em *T. tricolor*; FC= Fusão cêntrica, FT= Fusão em tandem.

Figura 10. Cariótipo de *T. discifera* proveniente do estado do Pará com $2n=32$ NF= 40. A) Coloração convencional. B) Bandeamento G; C) Bandeamento C e Ag NOR.

Resumo

Thyropteridae é considerada uma família monotípica e endêmica da região neotropical, sendo representada por um único gênero, *Thyroptera*. Este gênero é composto por cinco espécies, *Thyroptera devivoi*, *T. discifera*, *T. lavalii*, *T. tricolor* e *T. wynneae*, todas com distribuição no Brasil. Os estudos citogenéticos envolvendo representantes desta família ainda são muito escassos, com apenas *T. discifera* e *T. tricolor* apresentando dados citogenéticos disponíveis, que se restringe a espécimes machos coletados no Suriname e Trinidad. Assim, é interessante aprofundar os estudos referentes à citogenética deste grupo. Desta forma, o presente trabalho analisou citogeneticamente através da coloração convencional, bandeamento G, C e Ag-NOR os cariótipos de três espécimes machos de *T. tricolor* provenientes de três localidades: Comunidade Terra Preta (CTP), município de Jacareacanga; Vila Maracanã (VM) e Terra Santa (TS), município de Faro, todos no estado do Pará e um espécime macho de *T. discifera* proveniente do município de Faro (PA). Os dados citogenéticos obtidos no presente trabalho constituem a primeira caracterização cromossômica de espécies de tiropterídeos brasileiros. Um espécime macho de *T. tricolor* proveniente de VM apresentou $2n=42$ e $NFa=40$, com todos os cromossomos, tanto autossomos quanto sexuais, acrocêntricos. Dois espécimes machos de *T. tricolor* provenientes de CTP e TS apresentaram $2n=41$ e $NFa=40$, com todos os cromossomos acrocêntricos, tanto autossomos quanto sexuais, exceto um homólogo do par 4 que caracteriza-se como um submetacêntrico, constituindo uma fusão cêntrica em heterozigose. Os dois citótipos encontrados para os espécimes analisados encontram-se discordantes quanto ao número diploide e número fundamental quando comparados com os dados disponíveis da literatura ($2n=40$ e $NFa=38$). Um espécime macho de *T. discifera* apresentou $2n=32$ e $NF=40$, possuindo variação no número fundamental em relação ao citótipo descrito na literatura. Observa-se que os representantes da família Thyropteridae analisados no presente estudo possuem variabilidade intraespecífica entre diferentes localidades. Nossos resultados abrem novas perspectivas para o estudo dos cariótipos de morcegos desta família para a Amazônia brasileira, já que apenas as espécies de tiropterídeos fora do Brasil foram investigadas citogeneticamente.

Palavras chave: Thyroptera; *Thyroptera tricolor*; *T. discifera*; Fusão cêntrica; Citogenética.

1. Introdução

Thyropteridae Miller, 1907 é considerada uma família monotípica e endêmica da região neotropical, que apresenta uma ampla distribuição a partir do Sul do México, da América Central, até a América do Sul (GADNER, 2007). Estas espécies são encontradas geralmente em florestas úmidas de planície do sul do México ao sudeste do Brasil (WILSON, 2008). Esta família é representada por um único gênero, *Thyroptera* Spix, 1823 (HUTSON *et al.*, 2001), composto por cinco espécies, *Thyroptera devivoi* (LIM e ENGSTRON, 2006; GREGORIN *et al.*, 2006), *T. discifera* (LIECHTENSTEIN e PETERS, 1855), *T. lavalii* (PINE, 1993) *T. tricolor* (SPIX, 1823) e *T. wynneae* (VELAZCO *et al.*, 2014). Todas apresentam distribuição para o Brasil (GREGORIN *et al.*, 2006).

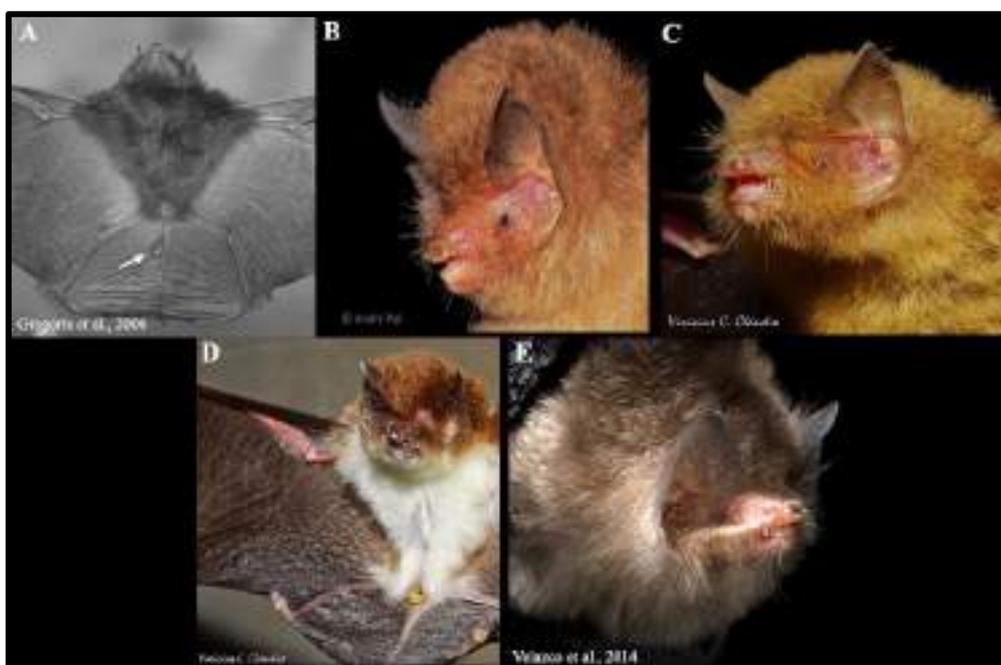


Figura 1 - Representantes da Família Thyropteridae. A) *Thyroptera devivoi*; B) *Thyroptera discifera*; C) *Thyroptera lavalii*; D) *Thyroptera tricolor*; E) *Thyroptera wynneae*.

Os tiropterídeos possuem uma dieta baseada em insetos (WILSON, 2008; VELAZCO, 2014). No entanto, as duas presas preferidas de tiropterídeos são Aranea (particularmente aranhas saltadoras) e Homoptera, ambos encontrados nas superfícies da vegetação e não no ar (DECHMANN *et al.*, 2006).

Estes morcegos são pequenos (peso médio cerca de 4 gramas) e delicados, apresentam focinho longo e delgado, pequenas verrugas em seus narizes acima de suas narinas, a cauda estende-se de um a alguns milímetros além da margem distal do seu uropatágio bem desenvolvido, olhos extremamente pequenos e as orelhas em forma de funil, bastante similar a Natalidae e Furipteridae (FINDLEY E WILSON, 1974) (Figura 2).



Figura 2. Representantes das Famílias A) Thyropteridae, B) Natalidae e C) Furipteridae.

Thyroptera difere dos morcegos destas duas famílias por apresentar uma especialização incomum sob a forma de discos adesivos bem desenvolvidos, podendo ser oval ou circular, ligados por um curto pedículo com a base de cada polegar e sobre a sola do pé, conectado pela fusão dos tecidos moles dos dígitos III e IV dos pés (SIMMONS, 1998; WIMSATT e VILLA-R 1970; RISKIN e FENTON 2002) (Figura 3). Eles também podem ser reconhecidos por seus polegares reduzidos, que são encerrados pelas membranas das asas. Estes morcegos apresentam coloração do pelo no

dorso e às vezes na garganta marrom-escuro ou marrom-avermelhado; o ventre pode variar entre cinza, branco ou amarelado, o trago está presente, o calcâneo é intumescido e cartilaginoso. As membranas de suas asas estendem-se pelas pernas, levantando-se em seus pés perto da base das garras. As fêmeas são ligeiramente maiores que os machos (NOWAK, 1994). Os pré-molares são bem desenvolvidos e os molares apresentam cúspides com um padrão em “W”. Sua fórmula dentária é $I2/3; C1/1; Pm3/3; M3/3= 38$.

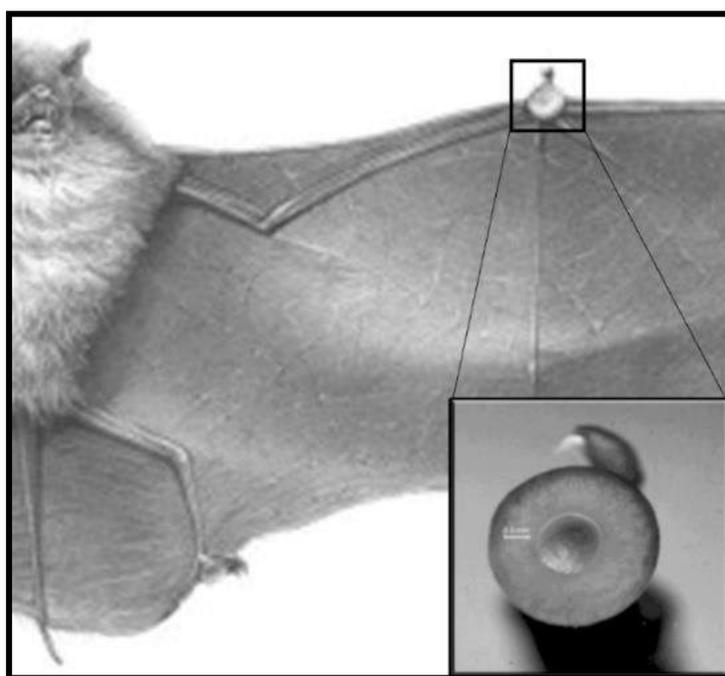


Figura 3 - Disco polegar de *Thyroptera tricolor*. Fonte: M.B. Fenton, 2001.

O nome Thyropteridae faz referência a estruturas de sucção presentes nos discos adesivos, discos que são semelhantes aos encontrados em Myzopodidae uma família endêmica de Madagascar (GOODMAN *et al.*, 2007; WILSON, 2008). Apesar da semelhança entre os discos, em Mizopodidae estes discos estão localizados nos pulsos e tornozelos, com estrutura histológica e anatômica diferentes o que sugere uma origem evolutiva independente (NOWAK, 1994). Schliemann (1970, 1971) e Simmons (1998) concordam que os discos adesivos nestes dois grupos evoluíram de forma convergente.

Os discos adesivos presentes em tiropterídeos são exclusivamente adaptados para que os indivíduos desse grupo possam se locomover em superfícies lisas e

permaneçam, por exemplo, dentro de folhas jovens de *Heliconia* ou *Calathea*, onde se alojam. Os morcegos se organizam em uma fila e sua postura é com a cabeça para cima, anexando-se às folhas por meio dos discos de sucção (RISKIN e FENTON, 2001; BARNET, 2003), sendo esta uma capacidade incomum em mamíferos (WIMSATT E VILLA, 1970). A sucção destes discos não é gerada passivamente, mas com o auxílio de uma secreção pegajosa produzida por glândulas de suor modificadas, presentes nos discos e de um tendão muscular ligado ao disco que o mantém na forma apropriada. A sucção exige um esforço muscular constante para manter o disco adesivo na posição correta. Utilizando uma combinação de sucção e adesão molhada, esses morcegos diminuem os gastos energéticos (RISKIN E FENTON, 2001).

Em geral as folhas utilizadas como abrigo por *T. tricolor* formam estruturas verticais tubulares ou cônicas com aberturas de 40-100 mm de diâmetro, localizadas a menos de 4 metros acima do solo, sem contato direto com outra vegetação (GOODWIN E GREENHALL, 1961; WIMSATT E VILLA-R, 1970; FINDLEY E WILSON, 1974; SIMMONS E VOSS, 1998; VONHOF E FENTON, 2004).

As populações de tiropterídeos são limitadas pela disponibilidade de abrigo (FINDLEY E WILSON, 1974; VONHOF E FENTON, 2004). De longe, o tiropterídeo mais comumente coletado, *T. tricolor*, tem sido frequentemente relatado abrigado em folhas novas e semi-desenroladas de monocotiledôneas grandes de sub-bosque como *Heliconia* (Heliconiaceae), *Musa* (Musaceae), *Calathea* (Marantaceae) (VELAZCO *et al.*, 2014) (Figura 4).



Figura 4. Tipos de abrigos utilizados por Tiropterídeos. A) Representante da família Musaceae e B) Representante do gênero Cecropia.

Recentemente, Chaverri e Gillam (2013) relataram que *T. tricolor* também utilizam folhas de *Heliconia* como amplificadores acústicos para as chamadas sociais de entrada e de saída entre os membros do grupo. Esses abrigos são efêmeros porque desdobrando novas folhas logo perdem o pequeno diâmetro da forma tubular ou cônica preferida por estes morcegos. Portanto, as colônias de *T. tricolor* devem mudar todas as noites e parecem favorecer os habitats com densas concentrações de plantas hospedeiras adequadas (FINDLEY E WILSON, 1974; CHAVERRI E KUNZ, 2011). Findley e Wilson (1974) também encontraram exemplares utilizando folhas mortas como abrigo. Essa diversidade representa um desafio para a pesquisa de inventário de morcegos, porque os morcegos com discos adesivos são difíceis de serem capturados com redes de neblina, mesmo quando são localmente comuns (VONHOF E FENTON, 2004).

Velazco *et al.* (2014) observaram que a superfície ventral destes morcegos está relacionada ao abrigo utilizado por eles, por exemplo, a coloração ventral esbranquiçada de *T. tricolor* pode ser uma adaptação para esse tipo de abrigo translúcido, pois a superfície ventral pode muitas vezes atrair a presença de morcegos residentes para predadores orientados visualmente e nenhuma outra espécie de *Thyroptera* foi coletada

em abrigos semelhantes aos ocupados por *T. tricolor*. Deste modo, pode-se supor que cada espécie utiliza refúgios diurnos diferentes. Foram descritos somente três espécimes de *T. discifera*, todas sob folhas de *Heliconia* mortas (ROBINSON E LYON, 1901) ou em seu interior (TORRES *et al.*, 1988). As folhas mortas de bananeira são castanhas, opacas e pendem suspensas pelo pecíolo, de modo que as coberturas de folhas mortas são escuras e abertas para baixo, muito ao contrário dos abrigos normalmente ocupados por *T. tricolor*. O único abrigo descrito para *T. devivoi* foi caracterizado como "sob uma folha de palmeira comestível" (GREGORIN *et al.*, 2006: 239), e um espécime de *T. lavalii* capturado de uma palmeira (SOLARI *et al.*, 1999). Pelo visto, estas observações, juntamente com a descoberta de *T. wynneae* utilizando como abrigo folhas mortas de *Cecropia*, compreendem tudo o que é conhecido dos hábitos de outras espécies de *Thyoptera*.

1.1 CITOGENÉTICA

Através da citogenética podemos estudar e caracterizar espécies por meio do número diploide, origem de anormalidades, estrutura e evolução cromossômicas. Estudos cromossômicos podem fazer a sua maior contribuição para a biologia de vertebrados em estudos evolutivos, já que a citogenética representa uma das áreas de estudo que procura reconstruir a história filogenética de um grupo com base em sua evolução cariotípica, usando diferentes técnicas de identificação e coloração cromossômica (VARELLA-GARCIA E TADDEI, 1989; SIMMONS, 2005; REIS *et al.*, 2007). Informações geradas a partir de estudos cariotípicos têm sido usadas na formulação de hipóteses mais rigorosas em relação às filogenias dos grupos investigados, pela dedução do número e tipo de rearranjos cromossômicos incorporados durante o curso da evolução, bem como pelo entendimento das forças participantes na fixação desses rearranjos (QUMSIYEH e BAKER, 1988).

Os estudos citogenéticos que envolvem este grupo foram pouco explorados até o presente momento. O cariótipo do *T. tricolor* foi descrito por Baker *et al.* (1970), com $2n= 40$ e $NF= 38$, baseado em um macho coletado em Trinidad e Tobago, sendo todos os cromossomos autossomos e sexuais acrocêntricos (Figura 5A). Baker *et al.* (1981)

descreveram o cariótipo do *T. discifera* com $2n=32$ e $NF=38$ em um indivíduo de Suriname, sendo os cromossomos autossomos compostos por quatro pares de cromossomos com dois braços mais onze pares de acrocêntricos. O par sexual é composto por um cromossomo metacêntrico, que é o X, e um acrocêntrico, que corresponde ao Y (Figura 5B). Segundo Baker *et al.* (1981), o cariótipo de *T. discifera* pode ser derivado do *T. tricolor* por quatro fusões cêntricas, além de eventos que mudariam o cromossomo X de um elemento acrocêntrico a um elemento metacêntrico ou submetacêntrico e um aumento do cromossomo Y. De acordo com Baker & Bickham (1980), a mudança que geralmente distingue espécies congêneres, diferem por menos de seis rearranjos cromossômicos. No entanto, Baker *et al.* (1981) relata que algumas espécies congêneres foram distinguidas por até 20 rearranjos e que os cariótipos padrões neste caso, são o reflexo da magnitude da evolução cromossômica que distingue duas espécies (HAIDUK *et al.*, 1981). Os autores interpretaram que a variação entre *T. discifera* e *T. tricolor* está dentro da faixa que caracteriza espécies de morcegos congêneres até agora estudadas.

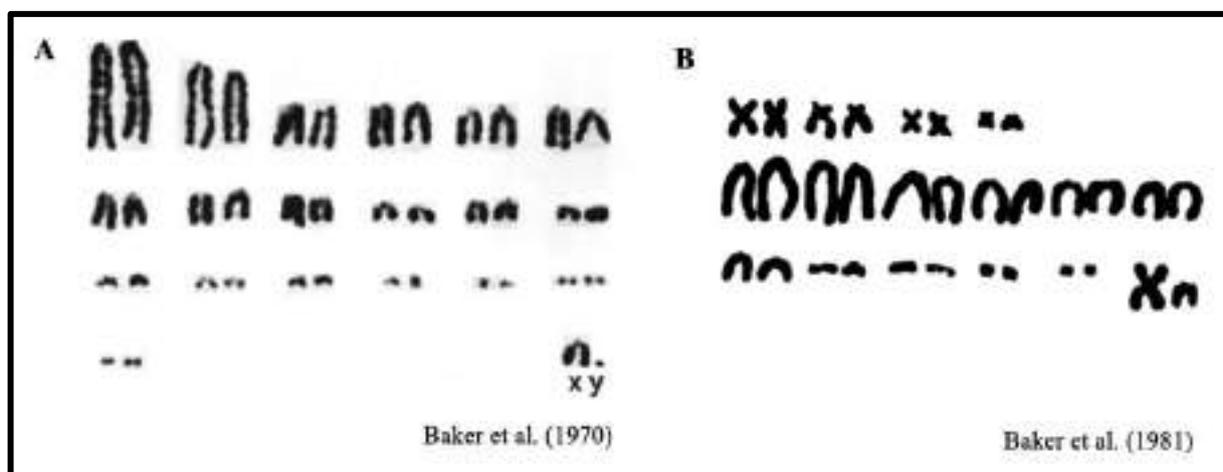


Figura 5 – Cariótipos de *Thyroptera*. A) *T. tricolor*, retirado de Baker *et al.* (1970); B) *T. discifera*, retirado de Baker *et al.* (1981).

2. JUSTIFICATIVA

Como até o presente não foram utilizadas técnicas de identificação cromossômicas mais acuradas nos cariótipos de *Thyropteridae*, devido à essa escassez de dados cromossômicos disponíveis para esta família e o fato de que ainda não foram cariotipados espécimes de morcegos tiropterídeos procedentes do Brasil, é interessante a produção de trabalhos que permitam um maior conhecimento a nível cromossômico, na tentativa de

elucidar as homeologias cariotípicas e as relações evolutivas que permitam o conhecimento dos cariótipos entre os morcegos deste gênero e na tentativa de descobrir se existe um padrão cromossômico entre tiropterídeos brasileiros e em relação às espécies descritas na literatura. Todos esses estudos abrem novas perspectivas para a investigação dos cariótipos de morcegos desta família para a Amazônia brasileira, já que apenas as espécies de tiropterídeos da América central foram investigadas citogeneticamente.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudo citogenético comparativo entre *Thyroptera tricolor* e *T. discifera* (Chiroptera: Thyropteridae) da Amazônia brasileira e as espécies descritas na literatura.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar o número diploide e a fórmula cariotípica de cada espécie;
- Obter bandeamentos cromossômicos G, C e NOR;
- Detectar a heterocromatina constitutiva nos cariótipos;
- Identificar o número e localização de sítios de NOR;
- Realizar uma análise comparativa interespecífica e propor os prováveis eventos que levaram à diversificação cariotípica;
- Analisar os dados presentes na literatura e verificar se ocorrem variações intra-específicas nos cariótipos dos morcegos estudados, através da análise dos cariótipos e bandeamentos;

4. MATERIAL E MÉTODOS

ESPÉCIMES EXAMINADOS

A amostra deste trabalho é constituída por três espécimes machos de *T. tricolor* e um espécime macho de *T. discifera*. A Tabela 1 mostra a identificação e o local de coleta para cada um dos espécimes estudados.

MÉTODO DE CAPTURA

Os espécimes foram coletados com uso de rede de neblina, medindo cerca de 12m X 2m. Tais redes são confeccionadas com fios de nylon preto que permitem a formação de bolsões onde os morcegos ficam aprisionados. As redes foram armadas junto às fontes de alimento, em possíveis rotas de voo e, eventualmente, às saídas de abrigos. As vistorias foram feitas em intervalos de aproximadamente 20 minutos. Os morcegos capturados foram retirados das redes e alojados em pequenas gaiolas ou sacos apropriados confeccionados com algodão, e devidamente identificados.

Tabela 1. Identificação e local de amostragem dos espécimes estudados.

Protocolo	Espécies	Sexo	Localidades
AL 1001	<i>Thyroptera discifera</i>	Macho	Terra Santa, Faro – PA
AL 1002	<i>Thyroptera tricolor</i>	Macho	Terra Santa, Faro – PA
AL 1136	<i>Thyroptera tricolor</i>	Macho	Comunidade Terra Preta, Jacareacanga – PA
LR 2981	<i>Thyroptera tricolor</i>	Macho	Vila Maracanã, Faro, PA

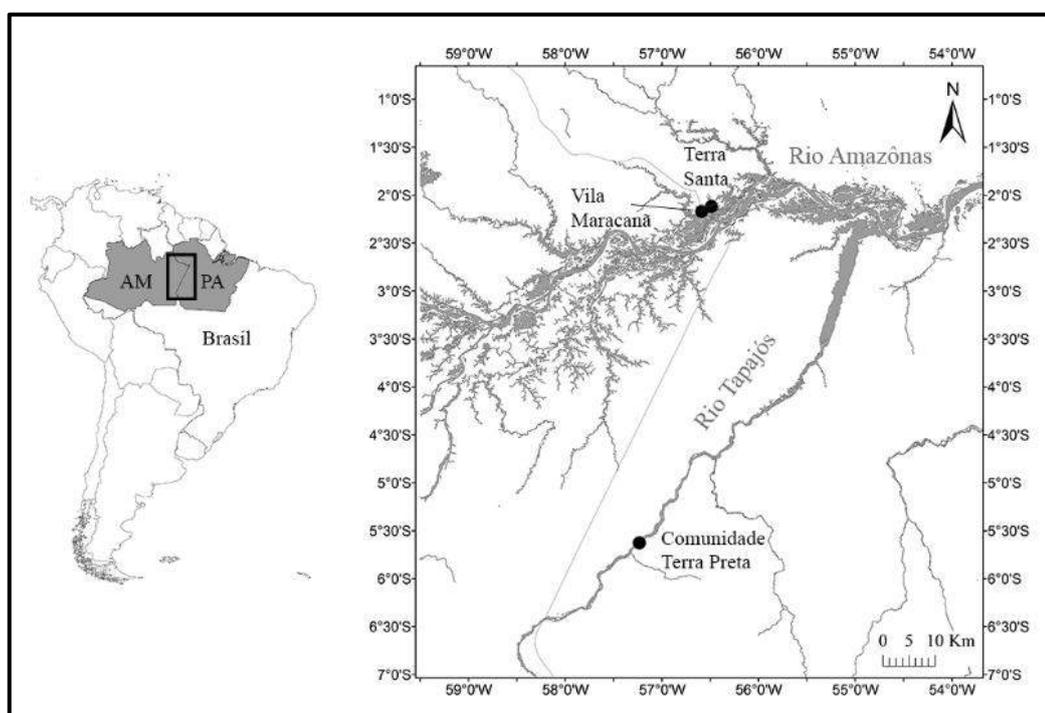


Figura 6 – Mapa do Brasil evidenciando os pontos de coleta das amostras analisadas no presente estudo.

OBTENÇÃO DE CROMOSSOMOS METAFÁSICOS

Os cromossomos metafásicos foram obtidos pela técnica de medula óssea (ARMADA *et al.*, 1996 e BAKER *et al.*, 2003), com modificações. Esta técnica consiste na utilização de meio de cultura RPMI 1640 com soro bovino fetal na proporção de 4:1 complementado com colchicina 10^{-5} M (0,5 mL de colchicina 10^{-5} M para cada 10 mL de meio e soro). Após o sacrifício do animal, foi retirada a medula óssea do úmero esquerdo com o auxílio de uma seringa de 5 mL. Retirou-se cerca de 1 mL da solução de meio e soro do tubo e injetou-se a solução no canal medular promovendo a saída do material para a placa de Petri, para posterior homogeneização. O material foi transferido para o tubo com o restante da solução de meio e soro, permanecendo na estufa a 37°C por 30 minutos. Passado esse período, o material foi centrifugado a 900 rotações por 5 minutos, o sobrenadante foi retirado e acrescentados 10 mL de solução hipotônica (KCl). O material foi então ressuspendido e incubado novamente a 37°C por 20 minutos. Em seguida o material foi centrifugado (como citado) e fixado em fixador Carnoy (metanol e ácido acético 3:1).

COLORAÇÃO CONVENCIONAL

A coloração convencional foi realizada com Giemsa a 5% diluído em tampão fosfato pH 6,8, durante 10 minutos. Em seguida as lâminas foram lavadas com água destilada e deixadas secar à temperatura ambiente.

BANDEAMENTO G

O bandejamento G seguiu o protocolo descrito por Seabright (1971) com adaptações. Foi obtido pelo método de incubação em solução de tripsina a 0,01% por um período de 3 a 5 segundos, em seguida as lâminas foram imersas na solução 1/2SSC por 8 minutos a 55°C e posteriormente lavadas com água destilada, seguida de coloração com corante Wright por 2 minutos e 30 segundos.

BANDEAMENTO C

O bandeamento C seguiu o protocolo descrito por Sumner (1972) com adaptações. As lâminas foram colocadas em solução de Hidróxido de Bário (BaOH_2) a 2% por 2 minutos e 20 segundos a 50°C e passadas rapidamente em solução de Ácido Clorídrico (HCl) a 0,1 N. Em seguida as lâminas foram lavadas em água destilada e secadas à temperatura ambiente. Posteriormente foram imersas em 1/2XSSC durante 10 minutos a 50°C . As lâminas secaram novamente e foram coradas com Wright durante 4 minutos.

MARCAÇÕES DAS REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLOS (NOR)

A técnica seguiu o protocolo de Howell & Black (1980). As lâminas foram apoiadas sobre um suporte e sobre elas foram colocadas duas gotas de solução de gelatina (0,2g de gelatina + 10 ml de água deionizada a 60°C + 0,25 μl de ácido fórmico) e duas gotas de solução de nitrato de prata (AgNO_3) a 50%. Após a adição dessa solução, o material foi coberto com uma lamínula, a lâmina foi invertida e colocada em uma câmara úmida devidamente fechada, que foi levada a banho-maria a 60°C , até a lâmina apresentar coloração acastanhada. Após isto, a lâmina foi lavada, seca e corada por 1 minuto com solução de Giemsa diluída em tampão fosfato pH 6.8 a uma diluição de 1:100.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos citogenéticos em morcegos Tiropterídeos são limitados, até a presente data, apenas as técnicas de coloração convencional e bandeamento G. Além disso, os espécimes estudados são restritos a Trinidad e Tobago e ao Suriname. Dados da literatura mostram que *T. tricolor* apresenta $2n = 40$ e $\text{NF} = 38$ sendo analisado por coloração convencional (BAKER *et al.*, 1970; HONEYCUTT *et al.*, 1980) e bandeamento G (BAKER *et al.*, 1982), enquanto que *T. discifera* apresenta $2n = 32$ e $\text{NF} = 38$, tem sido analisado somente por coloração convencional (BAKER *et al.*, 1981).

Desta forma, os dados citogenéticos obtidos no presente estudo constituem a primeira caracterização cromossômica de espécies de tiropterídeos brasileiros (Tabela 2).

Tabela 2 - Número e morfologia dos cromossomos autossomos e sexuais de quatro espécimes de *Thyroptera tricolor* e dois espécimes de *T. discifera*. Localidades: CTP= Comunidade Terra Preta; TS= Terra Santa, Faro; VM= Vila Maracanã, Faro. 2n= Número diplóide; NF= Número fundamental; SM=Submetacêntrico; A= Acrocêntrico; CV= Coloração convencional; BG= Bandejamento G; BC= Bandejamento C; AG= Coloração por nitrato de prata (Ag-NOR).

Espécie	Localidades		Sexo	2n	NF	Autossomos		X	Y	Técnicas	Referências
						SM	A				
<i>Thyroptera tricolor</i>	Pará	TS	Macho	41	40	1	38	A	A	CV; BG; BC; Ag;	<i>Presente trabalho</i>
		CTP									
		VM	Macho	42	40	-	40	A	A	CV; BG; BC; Ag;	<i>Presente trabalho</i>
	Suriname		Macho	40	38	-	38	A	A	CV	1
	Suriname		Macho	40	38	-	38	A	A	BG	2
	Trinidade		Macho	40	38		38	A	A	CV	3
<i>Thyroptera discifera</i>	Pará	TS	Macho	32	40	10	20	SM	A	CV;BG; BC; Ag;	<i>Presente trabalho</i>
	Suriname		Macho	32	38	8	22	M	A	CV	4

Fonte: 1) HONEYCUTT *et al.* (1980); 2) BAKER *et al.* (1982); 3) BAKER *et al.* (1970); 4) BAKER *et al.* (1981).

A partir da coloração convencional foi possível observar a morfologia e o número dos cromossomos em *T. tricolor* provenientes de Terra Santa, Comunidade Terra Preta e Vila Maracanã. Um espécime macho (citótipo A) proveniente de Vila Maracanã, Faro (PA) apresentou 2n=42 e NF=40. Todos os cromossomos, tanto autossomos quanto sexuais, são acrocêntricos (Figura 7A). Os espécimes machos provenientes de Terra Santa, Faro (PA) e Comunidade Terra Preta, Jacareacanga (PA) (citótipo B) apresentaram 2n=41 e NF=40, sendo todos os cromossomos, tanto autossomos quanto sexuais, acrocêntricos, exceto um homólogo do par 3 que apresenta-se como um submetacêntrico devido a uma fusão cêntrica em heterozigose, com conservação do NF de 40 braços autossômicos (Figura 8A). Os espécimes analisados por Baker *et al.* (1981), provenientes do Suriname, apresentaram 2n=40 e NF=38, sendo todos os cromossomos acrocêntricos (Figura 3A).

Todos os espécimes apresentaram sistema simples de determinação do sexo, de forma que os cromossomos sexuais aparecem bastante semelhantes em tamanho e morfologia. Desta forma foi possível observar que os cariótipos de *T. tricolor* demonstraram variação intraespecífica com $2n=40$, 41 e 42 evidenciadas por análises comparativas por bandeamentos cromossômicos.

A partir da análise comparativa do padrão de bandeamento G foi possível estabelecer homeologia entre a maioria dos braços de cromossomos entre os diferentes citótipos estudados (Figura 7B e 8B), assim como, identificar os cromossomos envolvidos na fusão cêntrica em heterozigose presente no citótipo B com $2n=41$ proveniente de TS (Figura 8B). No citótipo A e no citótipo B o bandeamento C evidenciou heterocromatina constitutiva (HC) nas regiões centroméricas de todos os cromossomos (Figura 7C e 8C) e a coloração com nitrato de prata revelou o número e localização das regiões organizadoras de nucléolos (NORs) na região distal do par 13 (Figura 7D e 8D). Os padrões de bandeamentos C e Ag-NOR foram coincidentes para ambos os citótipos estudados.

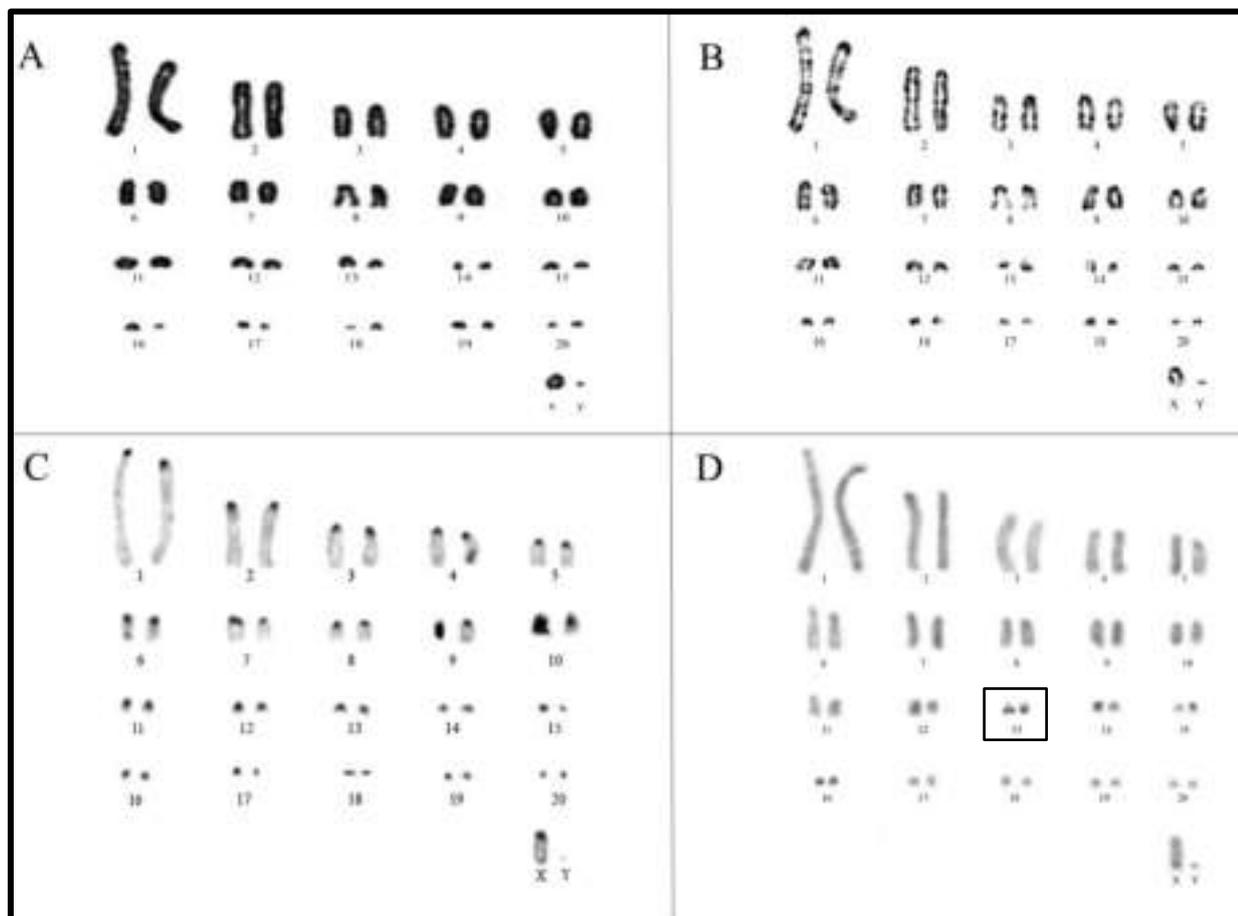


Figura 7 - Cariótipo de *Thyroptera tricolor* proveniente do estado do Amazonas com $2n=42$ NF= 40. A) Coloração convencional; B) Bandejamento G; C) Bandejamento C; D) Bandejamento NOR.

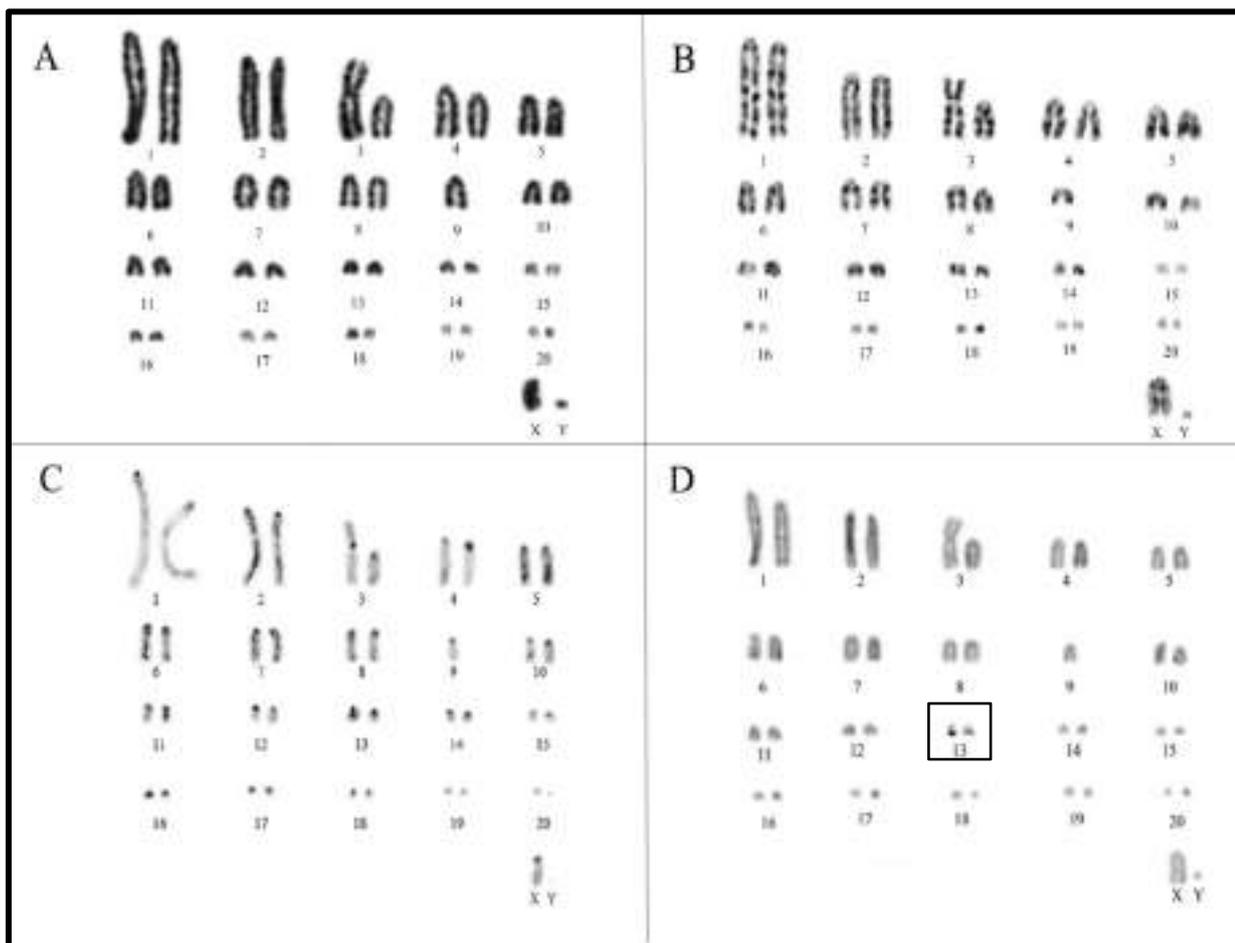


Figura 8 - Cariótipo de *Thyroptera tricolor* proveniente do estado do Pará com $2n=41$ $NF= 40$. A) Coloração convencional. B) Bandejamento G; C) Bandejamento C; D) Bandejamento NOR.

Entre os espécimes analisados, *T. tricolor* apresenta variabilidade cariotípica acentuada. Os estudos citogenéticos feitos nesta espécie em populações de diferentes regiões da América do Sul apresentam os seguintes resultados: $2n = 40$, $NF = 38$ em Trinidad (BAKER, 1970); $2n = 40$, $FN = 38$ no Suriname (HONEYCUTT *et al.* 1980); $2n = 40$, $NF = 38$ no Suriname (BAKER *et al.* 1982); O presente trabalho apresentou os citótipos $2n= 41$ e $NF=40$ e $2n = 42$ e $NF = 40$ diferente dos demais.

Nossos resultados não correspondem aos dados da literatura, pois os dois citótipos encontrados no presente estudo ($2n=42$ e $2n=41$) diferem quanto ao número diploide e número fundamental quando comparados com os dados encontrados em outros estudos com $2n=40$ e $NF=38$ (BAKER *et al.*, 1970; HONEYCUTT *et al.*, 1980;

BAKER *et al.*, 1982). Observamos que a partir de um cariótipo com $2n=42$ proveniente de VM, composto por cromossomos acrocêntricos (presente trabalho), existem dois padrões cromossômicos diferentes, um apresentando eventos de fusão cêntrica em heterozigose, formando cariótipo com pelo menos um cromossomo grande de dois braços ($2n=41$ e $NF=40$) proveniente de TS e outro apresentando um evento de fusão em tandem ($2n=40$ e $NF=38$), no qual estão envolvidos dois cromossomos acrocêntricos não identificados, formando o cariótipo observado em Trinidad e Tobago e no Suriname (Figura 9).

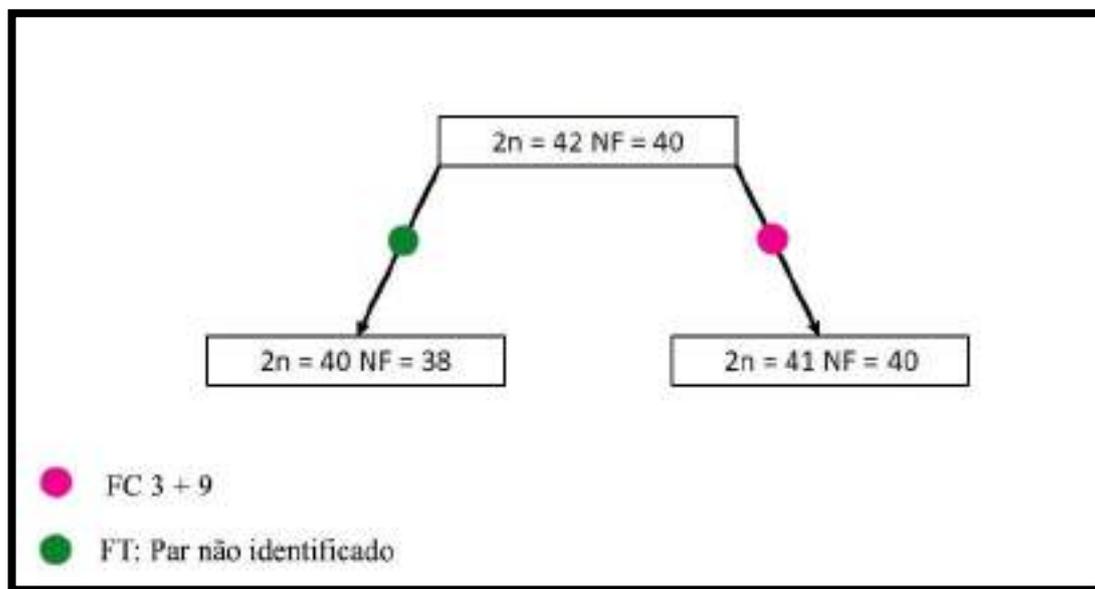


Figura 9 - Esquema dos rearranjos envolvidos na evolução cariotípica em *T. tricolor*; FC= Fusão cêntrica, FT= Fusão em tandem.

Um dos modelos mais simples de especiação cromossômica é a especiação por fusões cêntricas em heterozigose (CAPANNA, 1982; BAKER & BICKHAM, 1986). Seguindo esse modelo, a fixação de fusões centradas nas populações naturais é possível porque trivalentes formados por dois acrocêntricos e um metacêntrico (resultantes da sua fusão cêntrica) segregam normalmente, e mostram anormalidades meióticas mínimas (SEARLE, 1993), porém levando a gametas desbalanceados. Esses rearranjos já foram observados em morcegos da família Vespertilionidae, *Rhogeessa aeneus* e *Rhogeessa túmida* (BAIRD 2008 e 2009) e para Phyllostomidae, *Micronycteris hirsuta* (RIBAS *et al.*, 2013).

Diferenças cromossômicas são consideradas polimorfismos em casos de alterações estruturais em que as formas normal e rearranjada são possíveis de ocorrer ao mesmo tempo na mesma região (SUMNER, 1990). As diferenças cariotípicas seriam consideradas como diferenças cromossômicas geográficas intraespecíficas em populações disjuntas que apresentem constituições cariotípicas distintas, ou seja, com e sem o rearranjo (KASAHARA, 2009). Nesta perspectiva, observamos que em *T. tricolor* os dois citótipos parecem não estar isolados geograficamente e as populações com formas variantes estão próximas umas das outras (Vila Maracanã e Terra Santa). No entanto, a população da Comunidade Terra Preta é a única que pode estar isolada geograficamente.

A partir da coloração convencional foi possível observar a morfologia e o número dos cromossomos em *T. discifera*. Um espécime macho proveniente do município de Faro (PA) apresentou $2n=32$ e $NF=40$ (Figura 10A). O espécime apresentou cinco pares de cromossomos de dois braços e dez pares de cromossomos acrocêntricos, o cromossomo X apresenta morfologia submetacêntrica e o Y é acrocêntrico. Os espécimes apresentados por Baker *et al.* (1981) provenientes do Suriname apresentaram $2n=32$ e $NF=38$, sendo quatro pares de cromossomos de dois braços e onze pares de cromossomos acrocêntricos, o X apresenta morfologia submetacêntrica e o Y, acrocêntrico.

O presente trabalho apresenta a primeira caracterização a partir da análise comparativa dos padrões de bandeamento G, C e Ag-NOR. Por bandeamento G foi possível estabelecer homologia entre a maioria dos braços cromossômicos (Figura 10B). O bandeamento C evidenciou heterocromatina constitutiva (HC) nas regiões centroméricas de todos os cromossomos e a coloração com nitrato de prata revelou o número e localização das regiões organizadoras de nucléolos (NORs) na região proximal do par 2 e distal do par 4 (Figura 10C). Os dados de bandas G e C e a localização de NORs contribuem consideravelmente para uma melhor caracterização desta espécie.

Apesar do citótipo descrito por Baker *et al.* (1981) e o aqui apresentado demonstrarem o mesmo número diploide, foram constatadas diferenças no número de braços cromossômicos, com a presença de cinco pares de cromossomo de dois braços e dez pares de acrocêntricos no presente trabalho, diferentemente do encontrado por

Baker *et al.* (1981), que apresenta quatro pares de cromossomos de dois braços e onze pares de cromossomos acrocêntricos. Uma possível explicação seria a ocorrência de uma inversão pericêntrica.

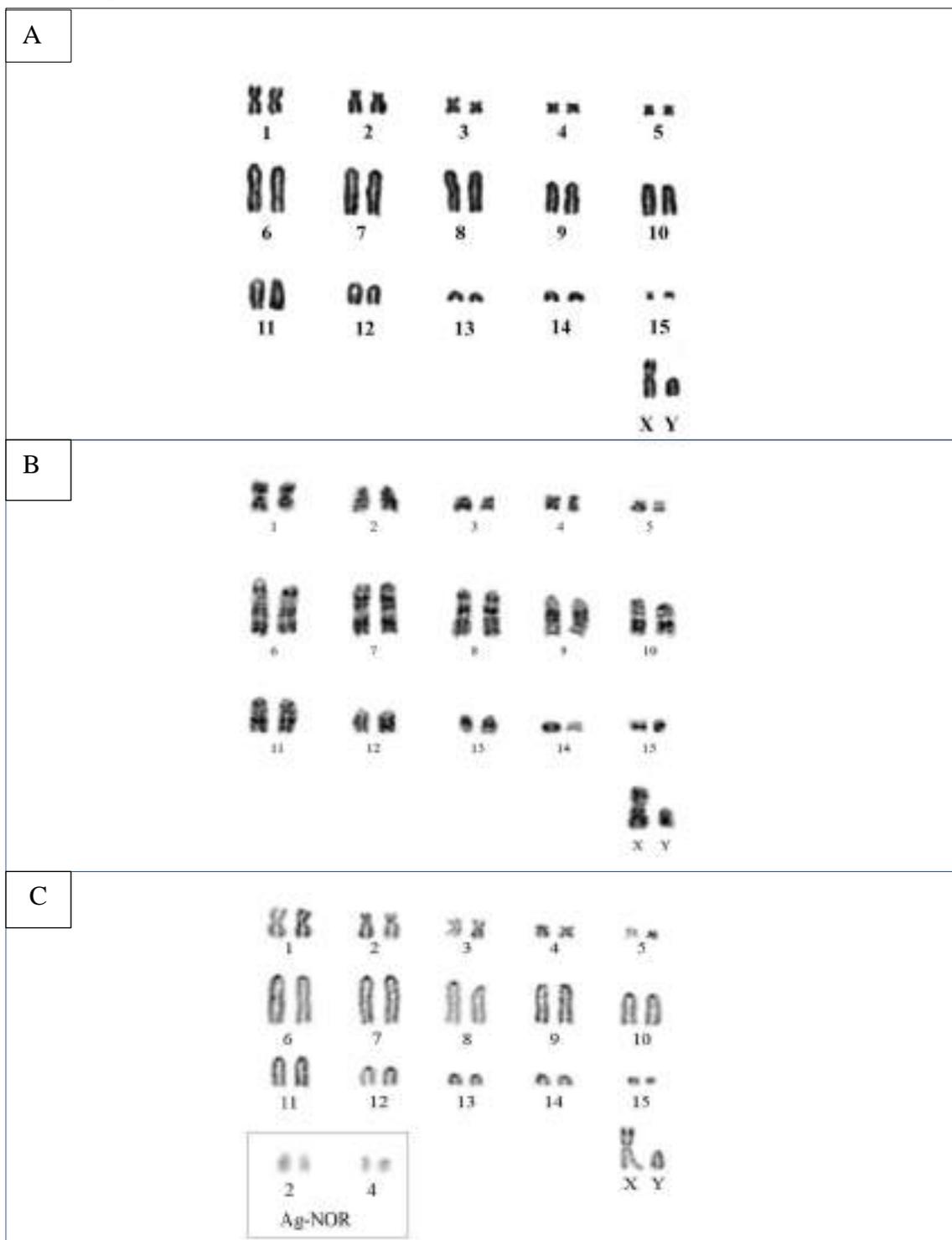


Figura 10 - Cariótipo de *T. discifera* proveniente do estado do Pará com $2n=32$ NF= 40. A) Coloração convencional. B) Bandeamento G; C) Bandeamento C e Ag NOR.

A análise comparativa *T. tricolor* e *T. discifera* aqui analisados demonstra claramente que ambos os cariótipos são muito divergentes, não havendo um padrão de cariótipo típico de *Thyoptera*. Como mencionado na Introdução, Baker *et al.* (1981), sugere que estas espécies diferem por quatro fusões cêntricas nos autossomos e mudança do cromossomo X de acrocêntrico para metacêntrico. Como em nosso caso *T. tricolor* apresenta $2n=42$ e *T. discifera* $2n=32$, devemos considerar a ocorrência de cinco fusões/fissões entre os autossomos. Uma análise futura por pintura cromossômica permitirá esclarecer estes rearranjos, uma vez que o padrão de bandeamento G obtido no presente trabalho não foi o suficiente para identificar as homeologias cromossômicas.

6. CONCLUSÃO

Nosso trabalho apresenta a primeira descrição cariotípica por bandeamentos de *T. discifera*, para uma melhor caracterização desta espécie na Amazônia Brasileira.

Observa-se que os espécimes de *T. tricolor* analisados no presente estudo, possuem variabilidade intraespecífica entre diferentes localidades. Esta variação é devida a uma fusão cêntrica, que se encontra em heterozigose nos exemplares de Terra Santa e Comunidade Terra Preta. Foi possível observar também que os espécimes de *T. tricolor* amazônicos apresentaram um possível padrão cariotípico dessa espécie para esta região, com $2n=42$ e $NF=40$.

Sendo assim, nossos resultados abrem novas perspectivas para o estudo dos cariótipos de morcegos desta família para a Amazônia brasileira, já que apenas as espécies de tiropterídeos fora do Brasil haviam sido investigadas citogeneticamente, apresentando cariótipo diferente daqueles do presente estudo. Esta variabilidade pode ser indício de que na realidade o táxon *T. tricolor* é constituído por mais de uma espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMADA, J. L.; SOUZA, C. S.; CANAVEZ, F. C.; Improved procedure to obtain chromosome preparations of bats. **Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida**. **V.18**, n1-2 Seropédica, p. 73-75. 1996.
- BAKER, R. J. Karyotypic trends in bats. **New York: Academic Press, Inc**, 1970.
- BAKER, R. J. AND BICKHAM, J.W. Karyotypic evolution in bats: evidence of extensive and conservative chromosomal evolution in closely related taxa. **Syst Zool** **29**: 239- 253. 1980.
- BAKER, R. J; GENOWAYS, H. H; SEYFARTH, P. A. Results of the alcoa foundation-Suriname expeditions. IV. Additional chromosomal data for bats (Mammalia: Chiroptera) from Suriname. **Annals Carnegie Museum**. **v.50**, p.333-344. Pittsburg: 1981.
- BAKER, R. J; HAIDDUK, M. W; ROBBINS, L. W. CADENA, A; KOOP, B. F. Chromosomal studies of South American bats and their systematics implications. Pittsburg: 1982.
- BAKER, R. J.; HAMILTON, M; PARISH, D. A. Preparations of Mammalian karyotypes under field conditions. **Museum of Texas Tech University**. **N.228** Lubbock: p.1-8. 2003.
- BAIRD, A. B. HILLIS, D. M.; PATTON, J. C.; BICKHAM, J. W. 2009 - Speciation by monobrachial centric fusions: A test of the model using nuclear DNA sequences from the bat genus *Rhogeessa*. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **50** 256–267. 2009.
- BARNETT, A. A. Disk-winged bats (Thyropteridae). In: HUTCHINS, M.; KLEIMAN, D. G.; GEIST, V.; MCDADE, M. C. (Eds). **Grzimek's Animal Life Enciclopédia Volume 13, Mammals II, 2ed**. Farmington Hills , p.473-477. MI Gale Group: 2003
- BICKHAM, J.W; BAKER, R.J. Speciation by monobrachial centric fusions. **Proc. Nati. Acad. Sci. USA Vol. 83**, pp. 8245-8248, November 1986.
- DECHMANN, D. K. N.; SAFI, K. AND VONHOF, M. J. Matching morphology and diet in the disc-winged bat thyroptera tricolor (chiroptera). **Journal of Mammalogy**, **87(5)**:1013–1019, 2016.
- FINDLEY, J. S.; WILSON, D.E. Observations on the Neotropical disk-winged bat, *Thyroptera tricolor* Spix. 1974.
- GARDNER, A. L. Order Chiroptera Blumenbach, 1779, Pp. 187–484 in **Mammals of South America, Volume 1: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats**. (A. L. Gardner, ed.). University of Chicago Press, Chicago, Illinois. 2007 [2008].

GREGORIN, R.; GONÇALVES, E.; LIM, K. B.; ENGSTRON, M. D. New species of disk-winged bat *Thyroptera* and range extension for *T. discifera*. **Journal of mammalogy**: 2006.

GOODMAN, S.M., F. RAKOTONDRAPARANY, AND A. KOFOKY. The description of a new species of *Myzopoda* (Myzopodidae: Chiroptera) from western Madagascar. **Mammalian Biology** 72: 65–81. 2007.

GOODWIN, G., AND A.M. GREENHALL. A review of the bats of Trinidad and Tobago: descriptions, rabies infection, and ecology. **Bulletin of the American Museum of Natural History** 122: 187–302. 1961.

HAIKUN, M. W.; AND BAKER, R. J. Cladistical analysis of G-banded chromosomes of nectar feeding bats (Glossophaginae: Phyllostomidae). **Systematic Zoology** 31:252–265. 1981.

HONEYCUTT, R. L.; GENOWAYS, H. H.; BAKER, R. J. Results of the Alcoa Foundation-Suriname Expeditions. III. Chromosomal Data for Bats (Mammalia: Chiroptera) from Suriname. **Annals Carnegie Museum**. 1980.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia** n.36, p.1014-1015. 1980.

HUTSON, A. M.; MICKLEBURG, S. P.; RACEY, P. A. Microchiropteran bats: global status survey and conservation action plan. **IUCN/ SSC Chiroptera specialist group. IUNC**, Gland, Switzerland and Cambridge: 2001.

KASAHARA, S. Introdução pesquisa em citogenética de vertebrados. Sociedade Brasileira de Genética, 1º Edição. Ribeirão Preto. 160 p. 2009.

LIM, B. K.; ENGSTROM, M. D.; OCHOA, G. J. Preliminary Checklist of the Mammals of the Guiana Shield (Venezuela, Amazonas, Bolívia; Guiana; Suriname, Guiana Francesa). 2006.

NOWAK, R. M. Walker's bats of the world. **Baltimore: Johns Hopkins University Press**. 287p. 1994.

PINE, R.H. A new species of *Thyroptera* Spix (Mammalia: Chiroptera: Thyropteridae) from the Amazon Basin of northeastern Peru. **Mammalia** 57: 213–225. 1993.

QUMSIYEH, M. B. AND BAKER, R. J. - Comparative cytogenetics and the determination of primitive karyotypes. **Cytogenet Cell Genet** 47:100. 1988

REIS, N.R. dos; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. de. **Morcegos do Brasil**. Londrina: Editores, 2007.

RIBAS, T.F.A.; Rodrigues, L.R.R; Nagamachi, C.Y; Benathar, T.C.M ; Pieczarka, J.C. Two new cytotypes reinforce that *Micronycteris hirsuta* Peters, 1869 does not represent a monotypic taxon. **BMC Genetics**, 2013.

RISKIN, D. K.; FENTON, M. B.; Sticking ability in Spix's disk-winged bat, *Thyroptera tricolor* (Microchiroptera: Thyropteridae). Canadá: 2001.

ROBINSON, W., AND M.W. LYON. An annotated list of mammals collected in the vicinity of La Guaira, Venezuela. Proceedings of the United States National Museum 24: 135–162. 1901.

SCHLIEMANN, H. Bau und Funktion der Haftorgane von *Thyroptera* und *Myzopoda* (Vespertilionoidea, Microchiroptera, Mammalia). **Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie** 181: 353–400. 1970.

SCHLIEMANN, H. Die Haftorgane von *Thyroptera* und *Myzopoda* (Microchiroptera, Mammalia)— Gedanken zu ihrer Entstehung als Parallelbildungen. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research** 9: 61–80. 1971.

SEABRIGHT, M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, 2: 971–972. 1971.

SIMMONS, N.B. A reappraisal of interfamilial relationships of bats. In T.H. Kunz and P.A. Racey (editors), **Bat biology and conservation**: 3–26. Washington, DC: Smithsonian Institution Press. 1998.

SIMMONS, N. B. Ordem Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Eds.). **Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference.3.ed. v.1**. Baltimore: Johns Hopkins university Press. p.312-529. 2005.

SIMMONS, N.B., AND R.S. VOSS. The mammals of Paracou, French Guiana: a Neotropical lowland rainforest fauna. **Bats. Part 1. Bulletin of the American Museum of Natural History** 237: 1–219. 1998.

SOLARI, S., V. PACHECO, AND E. VIVAR. Nuevos registros distribucionales de murcielagos peruanos. **Revista Peruana de Biología** 6: 152–159. 1999.

SOLARI, S., R.A. VAN DEN BUSSCHE, S.R. HOOFER, AND B.D. PATTERSON. 2004. Geographic distribution, ecology, and phylogenetic affinities of *Thyroptera lavalii* Pine. **Acta Chiropterologica** 6: 293–302. 1993

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, n.75, p.304-306. 1972.

TORRES, M.P., T. ROSAS, AND S.I. TIRANTI. *Thyroptera discifera* (Chiroptera: Thyropteridae) in Bolivia. **Journal of Mammalogy** 69: 434–435. 1988.

VARELLA-GARCIA, M.; MORIELLEVERSUTE, E.; TADDEI, V. A. A survey of cytogenetic data on brazilian bats. **Revista Brasileira de Genética. v.12, n.4**. Ribeirão Preto: p.761-793. 1989.

VELAZCO, P.M.; GREGORIN, R.; VOSS, R.; and SIMMONS, N.B. Extraordinary Local Diversity of Disk-winged Bats (Thyropteridae: *Thyroptera*) in Northeastern Peru, with the Description of a New Species and Comments on Roosting Behavior. **American Museum Novitates** **3795**, 28 pp. 2014.

VONHOF, M.J., and M.B. FENTON. Roost availability and population size of *Thyroptera tricolor*, a leaf-roosting bat, in north-eastern Costa Rica. **Journal of Tropical Ecology** **20**: 291–305. 2004.

WILSON, D.E. Family Thyropteridae Miller 1907. In A.L. Gardner (editor), **Mammals of South America, vol. 1: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats**: 392–396. Chicago: University of Chicago Press. 2008 [“2007”].

WIMSATT, W. A.; VILLA-R, B. Locomotor a adaptations in the disk-winged bat *Thyroptera tricolor*. 1970.