

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO EN BIOLOGÍA

"VARIACIÓN GENÉTICA DEL MURCIÉLAGO *Myotis velifer* (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE)"

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN BIOLOGIA

PRESENTA:
LAURA YANETH BOLIVAR HOYOS
MATRÍCULA: 2223803747
ORCID: 0000-0002-8448-8079
CORREO ELECTRÓNICO: laurabolivar-18@hotmail.com

CODIRECTOR: DR. LUIS MANUEL GUEVARA CHUMACERO
CODIRECTOR: DR. RICARDO LÓPEZ WILCHIS
ASESORA: DRA. VERÓNICA ZAMORA GUTIÉRREZ

JURADO:

PRESIDENTE: DRA. MARÍA LUISA NÚÑEZ RESENDIZ
SECRETARIO: DRA. VERÓNICA ZAMORA GUTIÉRREZ
VOCAL: DRA. TANIA GARRIDO GARDUÑO
VOCAL: DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA

IZTAPALAPA, CIUDAD DE MÉXICO, 16 DE JULIO DE 2025

La Maestría en Biología de la

Universidad Autónoma Metropolitana

pertenece al Padrón de

Posgrados de Calidad del SECIHTI.

El jurado designado por la

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

LAURA YANETH BOLÍVAR HOYOS

El día 16 de julio del año de 2025.

Comité Tutoral

Codirector: Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero

Codirector: Dr. Ricardo López Wilchis

Asesora: Dra. Verónica Zamora Gutiérrez

Jurado

Presidente: Dra. María Luisa Núñez Resendiz

Secretario: Dra. Verónica Zamora Gutiérrez

Vocal: Dra. Tania Garrido Garduño

Vocal: Dr. Francisco Jose Gutierrez Mendieta

Declaración de originalidad

La que suscribe **LAURA YANETH BOLÍVAR HOYOS**, alumna del posgrado Maestría en Biología, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor(a) de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: "**VARIACIÓN GENÉTICA DEL MURCIÉLAGO *Myotis velifer* (CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE)"**

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante **H. Jurado** para lo obtención del grado de **Maestra en Biología** es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 16 de julio del 2025.

Atentamente



Laura Yaneth Bolívar Hoyos

Dedicatoria

A mi madre hermosa, Yaneth Hoyos, por haberme dado la vida en el corazón de la tierra, por su inmenso amor y cuidados. Por motivarme y darme la energía y la fuerza para alcanzar todos los objetivos. Siempre mi gran amor.

A mi padre, Hans Bolívar, quien con su ejemplo me enseñó que los sueños pueden hacerse realidad si se persiguen con pasión, dedicación y profundo amor.

A mis hermanos, Camilo y Santiago, por enseñarme lo que realmente significa estar unido a otros desde el corazón.

Agradecimientos institucionales

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca otorgada con la que fue posible realizar esta Maestría.

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), por todos los apoyos económicos para la estancia de investigación internacional, la participación en eventos de difusión y la titulación de posgrado.

A la Maestría en Biología (UAM-I), por el apoyo económico para cubrir parte de los gastos de secuenciación de mis muestras y por la compra del vuelo a los Estados Unidos, lugar en donde curse mi tema selecto.

Al Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la UAM-I, por brindarme el espacio y los recursos necesarios y el entorno propicio para desarrollar mi investigación.

Al Laboratorio de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Montana, en Estados Unidos, por el apoyo invaluable y las facilidades brindadas durante mi estancia de investigación.

A la a las siguientes instituciones por la facilitación del tejido utilizado en este estudio: Colección Regional Durango- Mammalia (CRD) del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), Unidad Durango (CIDIIR), Bureau of Land Management- New Mexico (BLM), Carlsbad Caverns National Park, Angelo State Natural History Collection (ASNHC), Texas Parks and Wildlife Department (TPWD), Bat Conservation International (BCI), University of Oklahoma (OU), Kansas Parks and Wildlife Department (KDWP), Department of Defense- Fort Huachuca (DOD), University of Arizona (UA).

Agradecimientos personales

Al Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero, por todo su apoyo, sus valiosos consejos y el tiempo que dedicó generosamente a mi formación. Su calidez humana y profesional han sido fundamentales en mi desarrollo académico y profesional desde el inicio de esta trayectoria.

Al Dr. Ricardo López Wilchis, por su apoyo, tiempo y valiosas sugerencias durante el desarrollo de esta investigación, así como por las enseñanzas académicas y culturales compartidas en las inolvidables salidas de campo a Oaxaca.

A la Dra. Verónica Zamora, por sus comentarios y sugerencias que contribuyeron de manera significativa en el desarrollo de este trabajo escrito.

Al comité de revisoras de esta tesis, la Dra. Ella Vázquez Domínguez, la Dra. María Luisa Núñez Reséndiz y la Dra. Tania Garrido-Garduño, por su tiempo, valiosas revisiones y sugerencias que enriquecieron este trabajo.

A la Dra. Celia López, por su apoyo en la obtención de muestras de tejido, así como por sus invaluables aportes y recursos que fueron esenciales para mi estancia en los Estados Unidos y la divulgación de esta investigación en el congreso.

A la Dra. Julie Weckworth, por abrirme las puertas de su laboratorio en Missoula, brindarme su incondicional apoyo durante mi estancia de investigación y para la divulgación de esta investigación.

Al Dr. Casey Day y a su esposa Stephannie Trapp, por la generosidad con la que me recibieron en su hogar durante mi estancia en Missoula y por hacer de ese tiempo una gran experiencia.

Al Dr. Jared Grummer, por su invaluable apoyo y dedicación en los análisis genéticos poblacionales, así como por su disposición para enseñarme, guiarme y motivarme durante el proceso de esta investigación.

Al Dr. Francisco Gutiérrez, por brindarme su apoyo durante todas las etapas de desarrollo de mi maestría con diferentes tramites, gestión de apoyos y movilidad internacional.

A Alejandra, Bernardo, Lizandro y Gabi, por recibirme con calidez en este país y estar siempre pendientes de mi cuidado, acompañándome de todas las formas posibles.

A Joel porque me brindo su cariño y apoyo. Además de regalarme increíbles memorias en diferentes lugares de este maravilloso país y acercarme a su cariñosa familia de quienes recibí mucho afecto y cuidados.

A Fernando Salgado quien siempre ha sido mi amigo incondicional y me ha dado todo su amor y apoyo. Y a través de él, conocer su increíble familia, Clemen, Eduardo, Miriam, Constanza y Lalo con quienes compartí especiales momentos y me brindaron su cariño como a una hija, hermana más.

A Jimenita por sus palabras de amor, por las risas, las ocurrencias y el cariño durante este tiempo.

A Ivonne por siempre estar atenta a mi proceso y de manera sincera brindarme todo su apoyo.

A Ale por abrirme las puertas de su hogar. Siempre estaré infinitamente agradecida por su apoyo incondicional y su generosidad. Además de hacerme sentir como una integrante más de la familia, donde pude recibir el amor y los cuidados de la Abuela Teresa.

A Julia con quien pude conocer el significado del amor fraternal y quien ha sido una hermana, cómplice y amiga inigualable con la que hemos compartido increíbles memorias.

A María Elisa por las gratas vivencias compartidas en diferentes momentos, especialmente durante las Lupiclases y en los viajes al rancho, los cuales fueron claves para el desarrollo de esta investigación.

A mis compañeros de Maestría con los que compartí este valioso tiempo, así como a mi equipo de trabajo, Dianita, Alain y Jhon con quienes compartimos las largas jornadas dedicadas a los entregables finales.

A mis amigos de Colombia: Yuver, Alex, Angelita, Fabián, Kelly, Rosita, Daniela, Camila y Miguel, por estar siempre ahí para mí, escuchándome, enviándome su mejor energía y acompañándome, incluso a la distancia en cada paso de este camino.

A mi amigo Fernando Rodríguez quien me ha brindado todo su apoyo, cariño y amistad incondicional durante este tiempo.

Finalmente, al universo y a la vida por traerme a México, una tierra llena de colores, sabores y calidez humana que hicieron de este lugar mi segundo hogar.

Resumen

Myotis velifer es un murciélago insectívoro, cuya área de distribución se extiende desde el noroeste de Estados Unidos hasta Honduras, teniendo poblaciones tanto residentes como migratorias, dependiendo de la región geográfica. Esta especie se considera politípica, con tres a seis subespecies reconocidas morfológicamente. Sin embargo, estudios genéticos previos en poblaciones de Estados Unidos, revelaron altos niveles de similitud genética entre algunas subespecies, así como inconsistencias entre su taxonomía y la descripción de la estructura genética a lo largo de su distribución geográfica. Por lo tanto, el objetivo de este proyecto fue determinar la variación genética de *M. velifer* y su correlación con la taxonomía subespecífica, para describir los procesos evolutivos asociados a su variación intraespecífica. Para ello, se analizaron secuencias de dos marcadores mitocondriales y tres nucleares, en 234 muestras, de 38 localidades, a lo largo de su distribución; asimismo, se realizaron análisis filogenéticos de estructura y de conectividad genética. Los resultados de varianza molecular, filogenéticos y de redes haplotípicas generados en el presente estudio, no fueron consistentes con las subespecies propuestas, tampoco reflejaron un patrón de diferenciación genética correlacionado con las delimitaciones geográficas subespecíficas. En cambio, se identificó un patrón de estructura marcadamente diferente entre los datos nucleares con respecto a los mitocondriales. Ello sugiere que, el flujo génico en esta especie está impulsado en gran medida por los machos, mientras que las hembras exhiben débil fidelidad regional. Esto fue respaldado por una estructura mitocondrial significativa (F_{ST}=0.437) y con nueve haplogrupos asociados a ciertas ecorregiones, así como una correlación positiva de aislamiento por distancia. En contraste, los datos nucleares no indicaron diferenciación genética (F_{ST}=0.068), ni aislamiento por distancia, lo cual fue consistente con las estimaciones de flujo génico. De tal manera que, los resultados genéticos del presente estudio no apoyan la separación de *M. velifer* en subespecies, por lo que proponemos que debería tratarse como una especie monotípica.

Abstract

Myotis velifer is an insectivorous bat whose distribution ranges from the northwestern United States to Honduras, with both resident and migratory populations depending on the geographic region. This species is considered polytypic, with three to six morphologically recognized subspecies. However, previous genetic studies in populations from the United States revealed high levels of genetic similarity between some subspecies, as well as inconsistencies between its taxonomy and the description of genetic structure across its geographic range. Therefore, the objective of this project was to determine the genetic variation of *M. velifer* and its correlation with subspecific taxonomy in order to describe the evolutionary processes associated with its intraspecific variation. To this end, sequences from two mitochondrial markers and three nuclear markers were analyzed in 234 samples from 38 localities throughout its range. Phylogenetic, genetic structure, and connectivity analyses were also performed. The molecular variance, phylogenetic, and haplotype network results obtained in this study were not consistent with the proposed subspecies and did not reflect a pattern of genetic differentiation correlated with the subspecific geographic boundaries. Instead, a markedly different genetic structure pattern was identified between the nuclear and mitochondrial data. This suggests that gene flow in this species is largely male-driven, while females exhibit weak regional fidelity. This was supported by significant mitochondrial structure (FST = 0.437) and nine haplogroups associated with certain ecoregions, as well as a positive correlation with isolation by distance. In contrast, nuclear data did not indicate genetic differentiation (FST = 0.068), nor isolation by distance, which was consistent with the gene flow estimates. Thus, the genetic results of this study do not support the separation of *M. velifer* into subspecies, and we propose that it should be treated as a monotypic species.

Índice General

INTRODUCCIÓN **12**
ANTECEDENTES **15**
HISTORIA TAXONÓMICA DE *MYOTIS VELIFER* 15
DESCRIPCIÓN DE LAS SUBESPECIES 17
Myotis velifer velifer (J. A. Allen, 1890) *17*
M. v. brevis Vaughan, 1954 ..... *18*
M. v. incautus (J. A. Allen, 1896) *18*
M. v. peninsularis (Miller, 1898) *18*
M. v. grandis Hayward, 1970 ..... *19*
M. v. magnamolaris Choate y Hall, 1967 ..... *19*
ESTUDIOS GENÉTICOS POBLACIONALES 20
JUSTIFICACIÓN **22**
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN **23**
HIPÓTESIS **23**
OBJETIVOS **24**
OBJETIVO GENERAL 24
OBJETIVOS ESPECÍFICOS 24
MÉTODOS **24**
COLECTA DE MUESTRAS 24
EXTRACCIÓN DE ADN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN 25
EDICIÓN Y ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS 27
ANÁLISIS DE VARIACIÓN Y ESTRUCTURA GENÉTICA 27
INFERENCIAS FILOGENÉTICAS Y REDES DE HAPLOTIPOS 28
DISTANCIAS FILOGENÉTICAS 30
AISLAMIENTO POR DISTANCIA 31
FLUJO GÉNICO 31
RESULTADOS **32**
MARCADORES MITOCONDRIALES 32
Variación y estructura genética *33*
Relaciones haplotípicas y filogenéticas *34*
Distancia genética *40*
Aislamiento por distancia *41*
MARCADORES NUCLEARES 42
Estructura genética y variación poblacional *42*
Relaciones haplotípicas y filogenéticas *44*
Distancia genética *49*
Aislamiento por distancia *49*
Flujo génico *50*
DISCUSIÓN **51**
DELIMITACIÓN MOLECULAR DE LAS SUBESPECIES DE *MYOTIS VELIFER* 51
HIPÓTESIS DE FILOPATRÍA EN *MYOTIS VELIFER* 59
CONCLUSIONES **62**
PERSPECTIVAS **64**
BIBLIOGRAFÍA **65**
ANEXO 1 ..... **82**
ANEXO 2 ..... **84**
ANEXO 3 ..... **85**

Índice de Figuras

Figura 1. *Mapa de la distribución de las seis subespecies de Myotis velifer.* _____ *25*

Figura 2. *Red haplotípica y cladograma de los 51 haplotipos del locus mitocondrial COI.* _____ *36*

Figura 3. *Red haplotípica y cladograma de los 93 haplotipos del locus mitocondrial de la región control.* _____ *37*

Figura 4. *Cladograma de la región mitocondrial concatenada y mapa de distribución de haplogrupos.* *38*

Figura 5. *Red haplotípica y cladograma de los 105 haplotipos de la región mitocondrial concatenada.* *39*

Figura 6. *Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas concatenadas de la región mitocondrial.* _____ *41*

Figura 7. *Gráfica de STRUCTURE de 218 individuos muestreados en México y Estados Unidos.* ____ *44*

Figura 8. *Red haplotípica y cladograma de los nueve haplotipos para el gen nuclear de la Apolipoproteína B (APOB* _____ *45*

Figura 9. *Red haplotípica y cladograma de los 38 haplotipos para el gen nuclear del Gen de Activación de Recombinación (RAG2).* _____ *46*

Figura 10. *Red haplotípica y cladograma de los 57 haplotipos para el gen nuclear del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH).* _____ *47*

Figura 11. *Cladograma de 105 haplotipos de la región nuclear concatenada. Los valores de probabilidad posterior se presentan arriba de las ramas.* _____ *48*

Figura 12. *Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas concatenadas de la región nuclear.* _____ *50*

Índice de Tablas

Tabla 1 *Regiones de ADN y cebadores seleccionados para la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).* ***26***

Tabla 2. *Resultados de AMOVA para datos mitocondriales (COI, Región control) y concatenados.* ***33***

Tabla 3. *Porcentajes de distancias genéticas intraespecíficas por gen mitocondrial analizado.* ***40***

Tabla 4. *Matriz de distancias genéticas entre haplogrupos identificados en el análisis mitocondrial concatenado.* ***41***

Tabla 5. *Resultados de AMOVA para datos nucleares individuales (APOB, CMH y RAG2), y concatenados.* ***43***

Tabla 6. *Porcentajes de distancias genéticas por gen nuclear analizado.* ***49***

Introducción

Myotis velifer (J. A. Allen, 1890) comúnmente conocido como *Myotis* mexicano o *Myotis* de las cavernas, es un murciélago insectívoro perteneciente a la familia Vespertilionidae. Se distingue por presentar un área escasamente peluda entre los hombros y por ser uno de los miembros de mayor

tamaño del género (Kaup, 1829), con longitud del antebrazo entre 40- 47 mm (Hayward, 1970). Esta especie presenta una amplia distribución geográfica tanto en altitud como en latitud, que abarca desde el noroeste de los Estados Unidos en Kansas, descendiendo al suroeste por Oklahoma hasta Texas y el sureste de Nuevo México; en el suroeste de EE.UU., desde el sur de Nevada, California y Arizona, extendiéndose a lo largo de México de norte a sur y en la región noroeste en Baja California, excepto en la península de Yucatán. De Chiapas, México, se extiende hacia el sur por Guatemala hasta Honduras (Solari, 2019). Su intervalo altitudinal va desde las tierras bajas hasta los 3,300 m.s.n.m., habitando en cuevas, túneles y edificaciones abandonadas en colonias de 2000 a 5000 individuos (Fitch *et al*., 1981). Es una especie que presenta poblaciones tanto migratorias como residentes en algunas localidades de EE.UU (Hayward, 1970). La dinámica migratoria en algunas áreas incluye la aparición y desaparición de colonias durante los meses de abril y mediados de septiembre hasta finales de octubre. Las poblaciones del noroeste de Texas, Oklahoma y el centro-sur de Kansas pueden ser residentes, ya que permanecen durante el invierno, mientras que en Arizona y Texas se han identificado grandes colonias durante el verano que migran en invierno en busca de refugios de hibernación (Hayward 1970). En México, los registros realizados en el centro del país reportan la migración de algunas poblaciones de manera altitudinal hacia lugares con elevaciones más altas durante la temporada de invierno (Villa, 1966), mientras que registros de su presencia durante todo el año en una localidad en centro de México indican que son poblaciones residentes (Ávila-Flores y Medellín, 2004).

Myotis velifer presenta una notable variación morfológica a lo largo de su distribución geográfica (Miller y Allen, 1928; Hayward, 1970; Fitch et al., 1981; Hall, 1982), por lo que basados en las diferencias en el color del pelaje, caracteres craneodentales y del tamaño corporal, así como de los

ambientes que ocupan (Vaughan, 1954; Hayward, 1970; Allen, 1896; Miller y Allen, 1928; Choate y Hall, 1967), se ha determinado la clasificación intraespecífica que comprende entre tres a seis subespecies (Hayward, 1970; Hall, 1981; Simmons, 2005; Parlos, 2008; Wilson et al., 2019). En la base de datos sobre la Diversidad de Mamíferos [MDD] (2023) se reportan seis subespecies para *M. velifer*: *M. v. velifer* (Allen, 1890), *M. v. incautus* (Allen, 1896), *M. v. peninsularis* (Miller y Allen, 1928), *M. v. brevis* (Vaughan, 1954), *M. v. magnamolaris* (Choate y Hall, 1967) y *M. v. grandis* (Hayward, 1970). No obstante, la existencia de las subespecies *M. v. brevis* (Hayward, 1970; Wilson et al., 2019) y *M. v. magnamolaris* (Dorsey, 1977; Dalquest y Stangl, 1984) ha sido ampliamente debatida.

Para mejorar el entendimiento sobre la variación intraespecífica de esta especie se han realizado análisis genéticos. Straney et al. (1976) detectaron, con base en aloenzimas, altos niveles de variación genética y una notable similitud genética entre las poblaciones de tres localidades en Arizona y Texas. Por su parte, Parlos (2008) encontró diferencias entre marcadores mitocondriales y microsatélites, así como inconsistencias entre la estructura genética y la taxonomía subespecífica para poblaciones en Texas, California y Arizona. Finalmente, Nájera-Cortazar et al. (2015), a partir de genes mitocondriales y de análisis de morfometría geométrica, concluyeron que la variación genética de poblaciones de Baja California Sur (*M. peninsularis*) estuvo dentro del intervalo de variación intraespecífica de *M. velifer*, por lo que sugirieron incluirla como una subespecie (*M. v. peninsularis*).

Así, estos estudios sugieren que la estructura genética observada de *M. velifer* no se correlaciona con la taxonomía subespecífica actual; asimismo, que los datos nucleares y mitocondriales muestran discrepancias significativas. Por otro lado, existe un vacío de información sobre los

procesos evolutivos asociados a su variación genética. Por lo tanto, es necesario evaluar los patrones genéticos y taxonómicos de *M. velifer* considerando su patrón de distribución, que incluye las regiones biogeográficas Neártica y Neotropical, caracterizadas por una notable complejidad orográfica y una diversidad de ecorregiones (Morrone, 2019).

Lo anterior representa una oportunidad para investigar la variación genética de la especie a lo largo de un intervalo geográfico más amplio, que incluya localidades representativas de todas las subespecies y utilice un mayor número de marcadores genéticos de ADN mitocondrial y nuclear. Con ello, se puede evaluar la coherencia entre la estructura genética y la taxonomía subespecífica para inferir procesos evolutivos que hayan modelado la estructura genética de las poblaciones de esta especie.

Antecedentes

Historia taxonómica de *Myotis velifer*

La primera revisión taxonómica para la especie fue realizada por Hayward (1970), quien incluye a las subespecies *M. v. velifer*, *M. v. incautus* y *M. v. peninsularis*. En su estudio, basado en medidas morfométricas (siete corporales y 16 craneales) de varios ejemplares de Estados Unidos y México, identificó que los individuos del norte de Estados Unidos, del oeste de Oklahoma y del sur de Kansas presentaban un tamaño mayor en comparación con los especímenes del sur de Texas, lo

cual posteriormente sería determinante para definir a la subespecie *M. v. grandis*. En adición, a partir de sus resultados, sugirió que *M. v. peninsularis* era morfológicamente distinta e independiente de la subespecie nominativa (*M. v. velifer*), justificado en su menor tamaño y limitada distribución para la región del Cabo, en Baja California Sur, México. Asimismo, propuso que *M. v. brevis* era consubespecífica de *M. v. velifer*, ya que las mediciones no mostraron tendencias concluyentes para respaldar esta subdivisión taxonómica, sugiriendo que la variación gradual observada en los rasgos morfológicos (disminución de tamaño, color más claro y pelaje más corto hacia el noroeste) correspondería a un patrón de variación clinal a lo largo del gradiente geográfico de la especie.

Posteriormente, otros estudios continuaron con la evaluación del estatus taxonómico dentro de la especie, como lo fue Dorsey (1977), quien comparó las medidas de las mandíbulas de individuos de poblaciones del sur del Panhandle, Texas, de la subespecie *M. v. grandis* con el holotipo de *M. magnamolaris*. Descubriendo que el canino de gran tamaño encontrado en *M. magnamolaris* se explicaba como un crecimiento alométrico, y que las medidas se superponían, aunque eran ligeramente más grandes que en *M. v. grandis*, llevó a considerar a *M. magnamolaris* como un sinónimo de *M. velifer*; más adelante, Dalquest y Stangl (1984) confirmaron los hallazgos de Dorsey (1977). Con base en medidas adicionales, destacaron que las poblaciones de *M. velifer* de Kansas y del norte de Texas correspondían a la subespecie más grande, lo cual reconoce la validez de la subespecie *M. v. grandis*. Sin embargo, consideraron que el nombre adecuado para este taxón era *M. v. magnamolaris* (Choate y Hall, 1967), ya que tiene prioridad por haber sido propuesto tres años antes, por lo que *M. v. grandis* (Hayward, 1970) se propuso como sinónimo. El más reciente, Nájera-Cortazar et al. (2015), a partir de análisis filogenéticos y morfometría geométrica, sugirieron que *M. peninsularis* fuera considerada como una subespecie de *M. velifer*.

No obstante, a pesar de estas revisiones, las principales obras de referencia taxonómica y sistemática han reconocido distintas subespecies a lo largo del tiempo. Por ejemplo, en *The Mammals of North America*, Hall (1982) incluye cuatro subespecies: *M. v. velifer*, *M. v. incautus*, *M. v. grandis* y *M. v. brevis*. En el libro *Mammal Species of the World*, Simmons (2005) incluyó cinco subespecies: *M. v. velifer*, *M. v. incautus*, *M. v. brevis*, *M. v. grandis* y *M. v. magnamolaris*. En el *Handbook of the Mammals of the World* de murciélagos, Wilson y Mittermeier (2019) incluyeron tres subespecies: *M. v. velifer*, *M. v. incautus* y *M. v. grandis*. Actualmente, en la Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2023), se enlistan cuatro subespecies para *M. velifer*: *M. v. velifer*, *M. v. incautus*, *M. v. grandis* y *M. v. magnamolaris*. Por su parte, la MDD (2023) enlista seis subespecies: *M. v. velifer*, *M. v. incautus*, *M. v. grandis*, *M. v. brevis*, *M. v. magnamolaris* y *M. v. peninsularis*. Si se toma en consideración este último reporte, en México estarían presentes *M. v. velifer*, *M. v. incautus*, *M. v. brevis* y *M. v. peninsularis*, y en Estados Unidos *M. v. incautus*, *M. v. brevis*, *M. v. grandis* y *M. v. magnamolaris* (Simmons, 2005; Ramírez-Pulido et al., 2014; Nájera-Cortazar et al., 2015).

Descripción de las subespecies

Myotis velifer velifer (J. A. Allen, 1890)

Presenta un tamaño ligeramente inferior al máximo registrado para las otras subespecies, con un antebrazo entre 42.1 y 46 mm y una longitud craneal máxima que oscila entre 15.6 y 17.0 mm. Su pelaje corporal es sepia oscuro, el cual puede variar a lo largo de su distribución. La distribución de *M. v. velifer* se extiende de norte a sur de México, iniciando en la parte noroeste, al sur de Sonora, descendiendo a lo largo de la Sierra Madre Occidental, donde se conecta con la faja

Volcánica Transmexicana, la cuenca del Balsas, la Sierra Norte de Oaxaca, parte de la Sierra Madre del Sur y la planicie costera del Golfo de México, hasta la sierra de Chiapas. Habita desde bosques espinosos hasta bosques tropicales húmedos y selvas, en un rango altitudinal que va desde los 970 hasta 2 500 msnm (Miller y Allen, 1928; Hayward, 1970).

***M. v. brevis* Vaughan, 1954**

Presenta una longitud de antebrazo entre 40.4 y 44.5 mm y una longitud del cráneo de 15.1 y 15.8 mm. Su pelaje corporal es marrón amarillento y, aparentemente, es más corto y menos denso en comparación con *M. v. velifer* y *M. v. incautus*. En esta subespecie, la zona escasamente peluda entre los hombros se presenta de manera mucho más pronunciada. La distribución de *M. v. brevis* inicia desde el sureste de los Estados Unidos en California y Arizona hasta el suroeste de Nuevo México y el norte de Sonora, donde habita especialmente dentro del desierto Sonorense (Vaughan, 1954).

***M. v. incautus* (J. A. Allen, 1896)**

Presenta una longitud del antebrazo de 43 mm y una longitud craneal promedio de 15.8 mm. Su pelaje corporal es de color oliva amarillento. La distribución de *M. v. incautus* es a lo largo de Texas y el sureste de Nuevo México, en los Estados Unidos. En México se distribuye desde la frontera, a lo largo del Altiplano Mexicano y una parte de la Sierra Madre Oriental. Habita predominantemente en ambientes desérticos y áridos, en rangos altitudinales de 450 hasta 1 000 msnm (Miller y Allen, 1928; Hayward, 1970).

***M. v. peninsularis* (Miller, 1898)**

Presenta la longitud del antebrazo más pequeña que cualquiera de las otras subespecies, generalmente menor a 40 mm, con una longitud máxima del cráneo de 14.2 a 15.6 mm. Su pelaje corporal puede ir desde tonalidades claras hasta rojizas más intensas. La distribución de *M. v. peninsularis* se restringe a México, específicamente en la región de Los Cabos y en el extremo sur de la cordillera de Baja California Sur. Habita en el área de desierto característica de la región, a una elevación de alrededor de 600 msnm (Miller y Allen, 1928; Hayward, 1970).

***M. v. grandis* Hayward, 1970**

Presenta una longitud del antebrazo más grande que la de todas las subespecies, entre 45 y 47 mm, y una longitud máxima del cráneo de 16 a 17 mm. Su pelaje corporal presenta tonos marrones pálidos. La distribución de *M. v. grandis* se restringe a los Estados Unidos, en el centro-sur de Kansas, el oeste de Oklahoma y el noroeste de Texas. Habita en ambientes de praderas y pastos característicos de la región (Kunz, 1974).

***M. v. magnamolaris* Choate y Hall, 1967**

Descrita inicialmente como *M. magnamolaris* a partir de restos fósiles de un depósito del Pleistoceno en una cueva del condado de Travis, Texas. El material correspondía a mandíbulas parciales y completas que presentaban dimensiones mayores, comparativamente con las otras subespecies, además de un canino más largo y masivo y una mandíbula más curvada. El área de distribución de *M. v. magnamolaris* estaría dentro del intervalo de *M. v. incautus* (Choate y Hall, 1967).

Estudios genéticos poblacionales

El conocimiento actual sobre la estructura genética poblacional de *Myotis velifer* se basa en un número reducido de investigaciones, restringidas en áreas puntuales de su rango de distribución. Straney *et al*. (1976), a través de 17 loci de aloenzimas evaluaron la variación bioquímica y génica en tres poblaciones de *M. velifer* de Texas y Arizona. Como resultado, encontraron niveles altos de heterocigosidad, que fue atribuida a la presencia de esta especie en diversos ambientes y a la selección diferencial de hábitats de los machos y hembras. Además, altos valores de similitud genética (número medio de loci heterócigos por individuo) entre tres poblaciones. Parlos (2008), empleó el gen mitocondrial citocromo *b* y microsatélites para evaluar la estructura genética, la coherencia de las designaciones taxonómicas subespecíficas y la historia demográfica de las poblaciones de *M. velifer*, en el norte, centro y oeste de Texas y en la frontera entre California y Arizona. Sus resultados indicaron una estructura mitocondrial no congruente con la taxonomía subespecífica propuesta por Hayward (1970), ni con su comportamiento migratorio ni la distribución geográfica de las subespecies. Por otro lado, la información de los microsatélites reveló flujo génico uniforme entre las poblaciones y una expansión demográfica histórica. Concluyó que las subespecies de *M. velifer* no estaban respaldadas genéticamente y, sugirió la necesidad de realizar análisis genéticos de las poblaciones mexicanas y centroamericanas para evaluar si las asignaciones taxonómicas subespecíficas eran apropiadas. Nájera-Cortazar *et al*. (2015) es el único que incluye especímenes con distribución en México, utilizando genes mitocondriales (Citocromo Oxidasa I y citocromo *b*) y análisis de morfometría geométrica; asimismo, evaluaron el estatus taxonómico y las relaciones filogenéticas de *M. peninsularis*. Sus resultados indicaron que la distancia genética entre *M. peninsularis* y *M. velifer* están dentro del intervalo promedio de variación intraespecífica. Asimismo, que la variación morfométrica

observada para *M. peninsularis* puede atribuirse a aislamiento geográfico, así como a adaptaciones a la heterogeneidad ambiental. Consecuentemente, estos autores sugieren considerar a las poblaciones de Baja California Sur (*M. peninsularis*) como parte de las subespecies de *M. velifer* (*M. v. peninsularis*).

En la actualidad, no existen estudios que expliquen los procesos históricos asociados a la variación genética de *Myotis velifer* y su relación con la categorización subespecífica de sus poblaciones. Sin embargo, investigaciones en otras especies de murciélagos a lo largo de su distribución en Estados Unidos y México, han identificado factores históricos y geográficos que influyen en la variación genética. Por ejemplo, se ha documentado en *Pteronotus davyi* Gray, 1838 (Guevara-Chumacero *et al*., 2010) y *P. personatus* Grouvelle, 1919 (Zárate-Martínez *et al*., 2018), una diferenciación genética en dos grupos, promovida por el Istmo de Tehuantepec como una barrera geográfica. En *Natalus mexicanus* Miller, 1902 (López-Wilchis *et al*., 2021) se identificaron cuatro linajes diferenciados cuya estructura genética está determinada por las barreras geográficas asociadas a las cadenas montañosas de la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre Occidental y el Istmo de Tehuantepec. Asimismo, *Leptonycteris yerbabuenae* Martínez & Villa-R., 1940 (Trejo-Salazar *et al*., 2021) se identificaron tres grupos geográficos distintos asociados con el Istmo de Tehuantepec y la región al oeste del río Balsas.

Por otro lado, existen ejemplos donde, la diferenciación genética parece no estar influenciada por barreras geográficas evidentes, y resulta más bien por factores climáticos y ecológicos relacionados con los cambios del Pleistoceno. Por ejemplo, Weyandt y Van Den Bussche (2007) identificaron tres linajes para *Antrozous pallidus* (LeConte, 1856) en el suroeste de Estados Unidos, lo que atribuyeron a la diferenciación gradual de los desiertos modernos. De manera similar, se detectaron

dos haplogrupos en *Sturnira parvidens* Goldman, 1917 (Hernández-Canchola y León-Paniagua, 2017) con distribuciones casi alopátricas, correspondientes al oeste y este de México, cuya delimitación está relacionada con procesos de diversificación en las tierras bajas mesoamericanas.

Justificación

La clasificación subespecífica de *Myotis velifer* propuesta en distintos estudios a lo largo del tiempo se ha caracterizado por una falta de consistencia en el tratamiento y reconocimiento de sus subespecies. Asimismo, la variabilidad genética de sus poblaciones a lo largo de su distribución ha sido poco explorada y los estudios existentes han abordado un número limitado de localidades, con respecto a las subespecies propuestas, obteniendo resultados contrastantes entre la variación genética y la subdivisión taxonómica subespecífica. Lo anterior resalta la necesidad de una investigación que involucre un mayor esfuerzo de muestreo a lo largo de la distribución de *M. velifer* que incluya localidades representativas para todas las subespecies reconocidas

taxonómicamente, para evaluar genéticamente si existe consistencia entre la estructuración genética y la taxonomía subespecífica actual, así como los procesos evolutivos potencialmente asociados.

Pregunta de investigación

¿Existe relación entre la variación y estructura genética de las poblaciones de *Myotis velifer* y las delimitaciones geográficas asociadas con la designación taxonómica de sus subespecies?

Hipótesis

Debido a la amplia distribución geográfica de *Myotis velifer* que abarca parte de las regiones biogeográficas Neártica y Neotropical, caracterizadas por una notable complejidad orográfica y una diversidad de ecorregiones, se esperaría que la variación y estructura genética de sus poblaciones refleje patrones de diferenciación congruentes con las delimitaciones geográficas de las subespecies reconocidas.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la variación y estructura genética de *Myotis velifer* y si tienen congruencia con las delimitaciones geográficas de sus subespecies a lo largo de su intervalo de distribución en Estados Unidos y México.

Objetivos específicos

1. Determinar la estructuración genética entre poblaciones de *M. velifer*.
2. Inferir las relaciones filogenéticas entre las poblaciones de *M. velifer*.
3. Identificar la congruencia entre la estructura genética con la taxonomía a nivel subespecífico de las poblaciones de *M. velifer*.
4. Inferir algunos de los procesos evolutivos asociados a la variación y estructura genética de las poblaciones de *M. velifer.*

Métodos

Colecta de muestras

Se obtuvieron muestras de 234 murciélagos de 38 localidades a lo largo de su intervalo de distribución en Estados Unidos y México (Figura 1), las cuales provinieron de diferentes especímenes depositados en museos y colecciones de ambos países. Para la selección de las muestras se consideró una distancia aproximada de 200 km entre cada localidad, con el objetivo de

garantizar una representación geográfica adecuada de localidades dentro del intervalo de distribución de las subespecies registradas (Anexo 1).

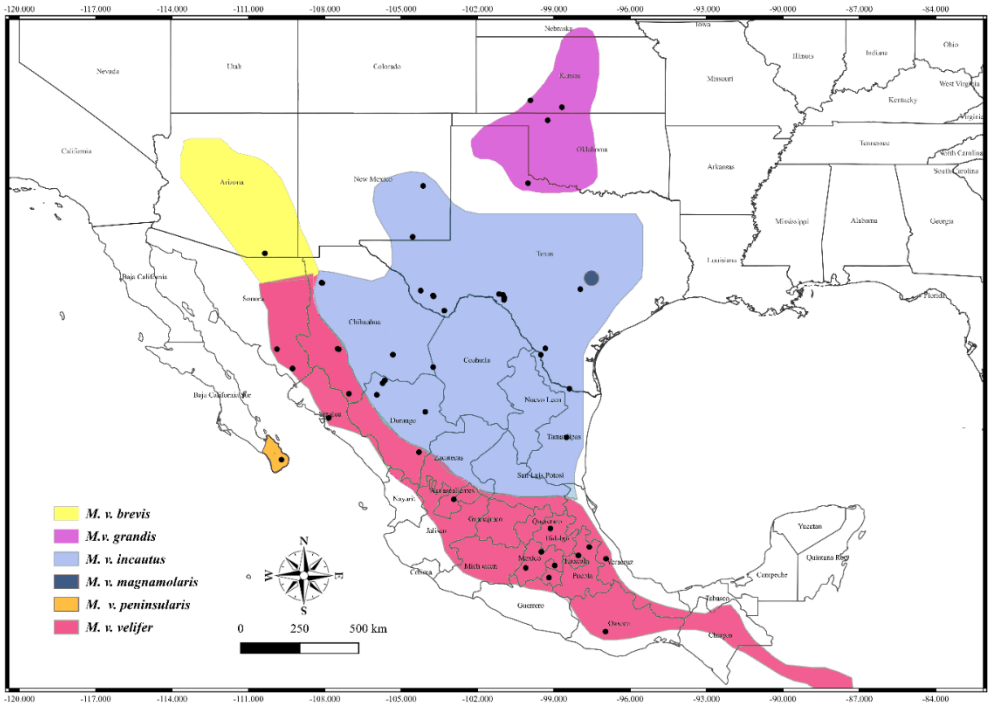


Figura 1. Mapa de la distribución de las seis subespecies de *Myotis velifer*. Los diferentes colores muestran la distribución geográfica de las subespecies de *M. velifer* de acuerdo con Hayward (1970), Fitch *et al.* (1981), y Hall (1982) y los puntos negros corresponden a las localidades de los especímenes analizados en este estudio (Ver Anexo 1).

Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

Se extrajo ADN total a partir de biopsias de alas, tejido de órganos o músculos, utilizando el protocolo de ADN animal de CTAB al 2% y SDS al 10% (Anexo 2) y el kit de tejido Dneasy™ (QIAGEN). La pureza y la concentración de ADN extraído fue cuantificado con el equipo Thermo Scientific NanoDrop 2000. Además, se evaluó la integridad del ADN utilizando la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1%, capturando la imagen mediante un foto documentador MiniLumi.

Se seleccionaron cinco marcadores moleculares, dos mitocondriales (ADNmt): Citocromo Oxidasa Subunidad I (COI) y la Región Control y tres nucleares (ADNn) correspondientes a exones: el Gen de Activación de Recombinación (RAG2), el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) y la Apolipoproteína B (APOB) (Tabla 1).

Tabla 1 *Regiones de ADN y cebadores seleccionados para la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).*

REGIÓN	CEBADOR	SECUENCIA	CITA
COI	FF2	5´CTAACCACAAAGACATTGG 3´	Modificado de Ivanova *et al*. (2007)
	FR1	5´TCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA 3	
REGIÓN CONTROL	L16517	5´CATCTGGTTCTTACTTCAGG 3´	Castella *et al*. (2001)
	SH651	5´AAGGCCAGGACCAAACCT 3´	
RAG2	968R	5´CCCATGTTGCTTCCAAACCATA 3´	Stadelmann *et al*. (2007)
	179F	5´CAGTTTTCTCTAAGGAYTCCTGC 3´	
APOB	APOF	5´GGCTGGACAGTGAAATATTATGAAC 3´	Lack *et al*. (2010)
	APOR	5´AATCAGAGAGTTGGTCTGAAAAAT 3´	
CMH	EX2F	5´TGTCCCCACAGCACATTTC 3´	Richman *et al*. (2010)
	EX2R	5´CACCCCATAGTTGTGTCTGCA 3´	

La amplificación del ADN se llevó a cabo mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un volumen de reacción de 25 ml que contenía: 9.5 µl de agua, 12.5 µl de GoTaq Master Mix de Promega, 1 µl de cada cebador a 10M y 1 µl de ADN que presentaban un intervalo de concentración de entre 1.5 a 50 ng/µl. Estas amplificaciones se realizaron en un termociclador BioRad T100. Los productos amplificados se observaron mediante geles de agarosa al 1%, utilizando una escalera (λ) N3231L de ADN de 100 pb como marcador de referencia. La captura y visualización de las imágenes se realizaron mediante un foto documentador MiniLumi y el programa GelCapture. Las reacciones de secuenciación en una dirección para cada marcador fueron realizadas en Macrogen Inc. (Seoul, Korea) y Eurofins (USA).

Edición y alineamiento de secuencias

Las secuencias fueron editadas con el software Sequencher® v. 4.1.4 (Gene Codes), garantizando la corrección y coherencia de las mismas. Para las secuencias de los genes nucleares diploides, se examinó el conjunto de datos cuidadosamente en cada posición polimórfica para asegurar que los picos dobles fueran identificados correctamente y de manera consistente para todas las muestras. Los sitios heterocigotos fueron codificados utilizando los códigos de ambigüedad de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés). Los haplotipos para cada gen fueron inferidos utilizando PHASE v. 2.1.1 (Stephens *et al*. 2001; Stephens & Donnelly 2003). Para el análisis de los datos, se empleó un modelo de mutación independiente de los progenitores (-d), se realizaron 1000 iteraciones con un intervalo de adelgazamiento de dos y se llevó a cabo una fase de calentamiento (burn-in) de 1000 pasos, seguida de una ejecución prolongada del algoritmo (opción -X5). También se realizaron ejecuciones sin recombinación (-MS) y se consideró la incorporación de información de fase a priori (-k) de individuos heterocigotos para un 'indel'. Las secuencias nucleares y mitocondriales fueron alineadas y se verificaron con base en codones de parada, al traducir a aminoácidos utilizando el software Mesquite v. 3.81 (Maddison y Maddison, 2023). Para confirmar la autenticidad de las secuencias a la especie *Myotis velifer* se realizó un análisis de BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) estándar nucleótido-nucleótido en la base de datos del GenBank, siguiendo la metodología propuesta por Altschul *et al*. (1990).

Análisis de variación y **estructura genética**

Para evaluar niveles de diferenciación genética se utilizaron diferentes métodos. Primero, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con 10,000 permutaciones, utilizando el software

ARLEQUIN v.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). Este análisis se llevó a cabo en dos niveles: 1) para cada uno de los marcadores nucleares y mitocondriales y, 2) de manera concatenada tanto para los tres marcadores nucleares como para los dos marcadores mitocondriales en donde solo se evaluaron los individuos sin datos genotípicos faltantes. Este enfoque permitió evaluar el grado de diferenciación tanto entre poblaciones como dentro de las mismas.

Posteriormente, se realizó un análisis Bayesiano de asignación genética entre poblaciones, utilizando el programa STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al*. 2000), para inferir el número de grupos genéticos más probable (*K*) y las proporciones de asignación individual. Este método asigna individuos de manera aleatoria a un número específico de grupos basándose en las estimaciones de frecuencias alélicas. Con ello, se quería evaluar si la asignación de individuos de las diferentes subespecies era consistente con los patrones de estructura detectados. Se realizaron 10 réplicas probando *K*=1-5, con 50,000 pasos de burnin y 100,000 repeticiones MCMC después del burnin. Para visualizar los resultados e identificar la *K* más probable se utilizó el método de Evanno (Evanno *et al*. 2005), con el programa STRUCTURE HARVESTER (Earl y VonHoldt, 2012). Los resultados de las réplicas fueron combinados y visualizados con el programa CLUMPAK v. beta (Kopelman *et al*. 2015).

Inferencias filogenéticas y redes de haplotipos

Para analizar las relaciones haplotípicas se generaron redes de haplotipos utilizando el método de Median Joining con el software PopArt v.1.7 (Leigh y Bryant, 2015). Este método describe árboles de expansión mínima con secuencias de consenso que representan haplotipos extintos o no

muestreados, además es conocido por construir redes de datos que están libres de recombinación genética.

La inferencia de relaciones filogenéticas se realizó con análisis cladísticos de manera independiente y concatenada con ADNn y ADNmt. Para este propósito, se realizó un análisis Bayesiano utilizando el programa MrBayes v.3.2.7. (Ronquist *et al*., 2012), con un modelo de sustitución que se seleccionó utilizando el Criterio de Información de Akaike tal como se implementa en ModelTest v. 2.1.10 (Posada, 2008). Para los marcadores mitocondriales se emplearon los siguientes modelos y parámetros: COI, modelo K80+G con frecuencia de bases A=0.25, C=0.25, G=0.16, T=0.32; y región control, modelo TrN+I+G con frecuencias de bases A=0.28, C=0.21, G=0.24, T=0.27. Los parámetros para COI fueron: Nst=2, rates =gamma y para región control, Nst=6, Ngen=2000000, Samplefreq=100, printfreq=100, con cuatro cadenas. Después de eliminar los primeros 5000 árboles con "burn-in", se construyó un árbol consenso utilizando probabilidades bayesianas a posteriori para cada nodo. Considerando las relaciones filogenéticas descritas por Korstian *et al*. (2024) y la disponibilidad de individuos previamente secuenciados en Genbank, se emplearon como grupos externos para COI: *Myotis yumanensis* (GenBank GU723131.1), *M. vivesi* (GenBank HQ966967.1) y *M. lucifugus* (GeneBank NC029849.1); para región control: *M. lucifugus* (GeneBank NC029849.1 y KP273591.1). En los árboles concatenados mitocondriales se indicaron las particiones y modelos evolutivos correspondientes empleando Ngen=3000000, Samplefreq=500, printfreq=1000. El grupo externo para la filogenia mitocondrial fue *Myotis lucifugus* (GeneBank NC029849.1 y NC029849.1)

Para los marcadores nucleares los modelos y parámetros fueron: APOB, modelo HKY con frecuencias de bases A=0.33, C=0.20, G=0.20, T=0.27; CMH, modelo GTR+I+G con frecuencias

de bases A=0.24, C=0.25, G=0.36, T=0.14; y RAG2, modelo TIM2+I con frecuencias de bases A=0.27, C=0.22, G=0.21, T=0.29. Los parámetros utilizados fueron: para CMH, Nst=6, rates =gamma; APOB: Nst=2, rates=equal; y RAG2: Nst=6, rates=equal, Ngen=2000000, Samplefreq=100, printfreq=100 y cuatro cadenas. Después de eliminar los primeros 5000 árboles con burn-in, se generó un árbol consenso con probabilidades bayesianas a posteriori para cada nodo. Los grupos externos fueron: para APOB: *Myotis yumanensis* (Genbank GU328178.1); para CMH: *M. vivesi* (Genebank GU012452.1, GU012451.1, GU012450.1, GU012449.1, HM004073.1); y para RAG: *M. lucifugus* (Genebank KC747711.1) y *M. yumanensis* (Genebank AM265700.1). En los árboles concatenados nucleares se emplearon las particiones y modelos evolutivos previamente evaluados. Se emplearon los parámetros Ngen=3000000, Samplefreq=500, printfreq=1000. El grupo externo para la filogenia nuclear fue *M. yumanensis* (Genbank GU328178.1, AM265700.1).

Distancias filogenéticas

La diferenciación genética se midió calculando la distancia genética entre haplotipos para cada marcador mitocondrial y nuclear, utilizando el modelo de sustitución nucleotídica Kimura 2-parámetros (K2P; Kimura, 1980) con el software MEGA v. 11 (Tamura *et al*. 2011). Este modelo se utilizó con el propósito de que los valores pudieran ser comparados con los obtenidos en otras especies de murciélagos. Asimismo, se calcularon las distancias genéticas entre los grupos externos

y la totalidad de las secuencias. En los casos en que se identificaron clados a partir de los análisis filogenéticos, también se midió la diferenciación genética entre ellos.

Aislamiento por distancia

Para explorar si hubo aislamiento por distancia a lo largo de la distribución, se realizó una prueba de Mantel considerando las distancias genéticas y las geográficas con el paquete ade4 (Dray y Dufour, 2007). La significancia estadística se probó creando una distribución nula (una ausencia de estructura espacial; 1000 réplicas) y comparando el valor empírico con esta distribución. Estos análisis se llevaron a cabo en todo el intervalo y con los genes mitocondriales y nucleares concatenados por separado. La distancia genética entre individuos se calculó utilizando el modelo de sustitución nucleotídica Kimura 2-parámetros (K2P; Kimura, 1980) con el software MEGA v.11 (Tamura *et al*. 2011) y la distancia geográfica se estimó como la distancia euclidiana entre localidades.

Flujo génico

Se estimaron los niveles de flujo génico entre los dos grupos genéticos identificados con STRUCTURE (ver resultados), con el programa IMA3 (Hey *et al.* 2018). Para, ello se utilizó el conjunto de datos nucleares, mientras que de mitocondriales sólo se consideraron los de COI ya que el modelo HKY no está diseñado para la variación de tasa externa que ocurre típicamente en la región control. IMA3 implementa una simulación MCMC para un modelo de aislamiento por

migración IM con múltiples poblaciones y sus estimaciones se basan en la distribución posterior marginal de los parámetros; estima filogenias, tasas de migración bidireccionales y unidireccionales, tiempos de divergencia y tamaños poblacionales.

Se aplicaron 50,000 pasos tras un periodo de burnin de 350,000 pasos y se corrieron diferentes análisis (utilizando diferentes semillas iniciales) de 100 cadenas, con términos de calentamiento de 0.99 y 0.65 (opciones –ha y –hb), un valor máximo de 25 en el priori de migración, un máximo de 50 en el priori de tamaño poblacional y un tiempo máximo de separación poblacional de tres. Los datos a priori se estimaron inicialmente a partir de la medida geométrica de la tasa de mutación poblacional 4Nu, para lo cual se eligió la diversidad nucleotídica como estimador para calcular 4Nu para cada gen. La convergencia de las ejecuciones independientes se confirmó al examinar los gráficos de tendencia ASCII de todos los parámetros estimados. Se evaluaron niveles significativos de la tasa de migración poblacional (>0) mediante una prueba de razón de verosimilitud marginal (Nielsen y Wakeley, 2001). Esta tasa se define como M=2Nem, resultado del producto entre el número efectivo de copias de genes y la tasa de migración por copia de gen.

Resultados

Marcadores mitocondriales

Se realizaron análisis independientes de los genes mitocondriales; para COI, se obtuvieron 218 secuencias con una longitud de 623 pares de bases (pb) y se identificaron 57 sitios variables y 44 sitios parsimoniosamente informativos. En total, se encontraron 51 haplotipos, de los cuales 29

fueron compartidos y 22 fueron únicos. El haplotipo 25, fue el más frecuente con un 17.35% (n=36), seguido por el haplotipo 3con el 10 % (n=22) y el haplotipo 9 con el 8.22% (n=18).

Para la región control, se obtuvieron 205 secuencias con una longitud de 197 pb. Se identificaron 22 sitios variables y 18 parsimoniosamente informativos. Se encontraron 93 haplotipos, de los cuales 41 fueron compartidos y 52 fueron únicos. El haplotipo 13, fue el más frecuente con el 9.28% (n=18), seguido por el haplotipo 4 con el 5.15% (n=10). La concatenación de los genes mitocondriales resultó en un conjunto de 203 secuencias, con una longitud total de 820 pares de bases y un total de 79 sitios variables y 63 parsimoniosamente informativos. Se encontraron 105 haplotipos, de los cuales 39 fueron compartidos y 66 fueron únicos. El haplotipo 46, fue el más frecuente con el 6.4% (n=13), seguido por el haplotipo 4 con el 4.4% (n=9).

Variación y estructura genética

Los resultados de varianza molecular (AMOVA) mostraron algunas diferencias en los patrones de variación entre los genes mitocondriales. Para COI se observó el mayor porcentaje de variación distribuido entre las poblaciones (53%), mientras que para la región control el mayor porcentaje se dio dentro de las poblaciones (63%). De igual forma, los valores del índice de fijación (F_{ST}) reflejaron una diferenciación genética alta para COI (F_{ST}=0.5344; p<0.05) y moderada para región control (F_{ST}=0.36797; p<0.05). Los resultados concatenados mostraron una diferenciación moderada de los valores de F_{ST} (Tabla 2).

Tabla 2. *Resultados de AMOVA para datos mitocondriales (COI, Región control) y concatenados.*

Marcador	Fuente de variación	Suma de cuadrados	Varianza	Porcentaje de variación	F_{ST}

COI	EP	413.883	1.70648	53.44319	0.53443*
	DP	270.394	1.48659	46.55681	
Región control	EP	356.709	1.39835	36.79706	0.36797*
	DP	406.079	2.40181	63.20294	
Concatenado	**EP**	**695.787**	**2.91113**	**43.68538**	**0.43685***
	DP	**628.269**	**3.75273**	**56.31462**	

Nota. EP = Entre poblaciones, DP = Dentro de poblaciones. * $p < 0.05$.

Relaciones haplotípicas y filogenéticas

Los resultados de la red de haplotipos y de filogenia para los haplotipos mitocondriales evidenciaron agrupaciones que coinciden parcialmente con regiones geográficas pero, no se obtuvo una estructura clara acorde con la taxonomía a nivel subespecífico de las cinco subespecies descritas, ni con su distribución geográfica reconocida.

El cladograma con COI mostró tres clados, con alto valor de soporte filogenético en las ramas externas e internas (Figura 2). En el clado I, se observó un solo haplotipo (H33), de la región centro-norte de México; el clado II, quedó conformado por nueve haplotipos exclusivamente de las regiones centro-norte, centro-sur y oeste de los Estados Unidos (Kansas, Oklahoma, Texas y Nuevo México); el clado III, agrupó 42 haplotipos correspondientes a la totalidad de regiones muestreadas en México y de Estados Unidos y subdividido, a su vez, en subclados bien definidos que agruparon haplotipos de regiones geográficas específicas.

Los resultados de las filogenias para COI tienen concordancia con la configuración de la red de haplotipos. Los haplogrupos II y III se separaron por doce pasos mutaciones, con el haplotipo 33 (haplogrupo I) situado entre estos dos haplogrupos; éste presentó cinco pasos mutacionales con

respecto al haplogrupo II y cuatro con respecto al haplogrupo III, observándose que el haplogrupo I está más relacionado con el haplogrupo III. En la red, también se encontraron haplotipos no muestreados, sobre todo dentro del haplogrupo III. Es relevante destacar que se observan haplotipos compartidos a lo largo de la topología (Figura 2).

En cuanto a la región control, el cladograma presentó un alto valor de soporte filogenético de la rama externa que agrupa a la totalidad de los haplotipos. A diferencia de la filogenia obtenida en COI, este árbol no mostró resolución de clados, los soportes de las ramas internas fueron menores al 90% en la mayoría de los casos y las ramas bien soportadas agruparon haplotipos de diversas localidades, sin un patrón de agrupamiento regional. La red haplotípica por su parte mostró conexión entre todos los haplotipos sin la formación de haplogrupos específicos. En esta red se observó una alta cantidad de haplotipos no muestreados, así como un alto número de pasos mutaciones entre haplotipos (Figura 3).

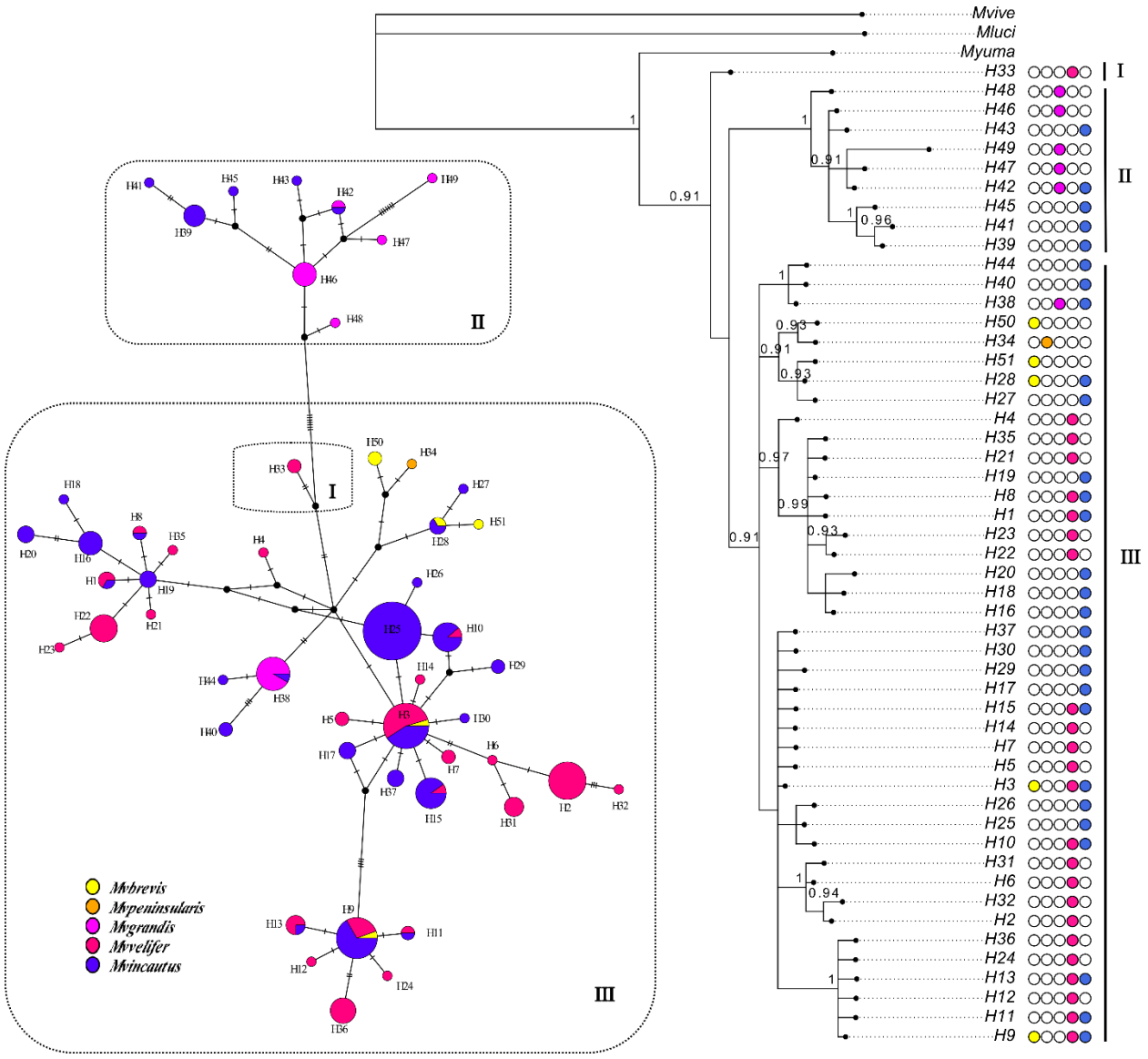


Figura 2. Red haplotípica y cladograma de los 51 haplotipos del locus mitocondrial COI. Izquierda: Red de haplotipos que agrupa a los haplogrupos identificados (I, II, III). Cada línea dentro de la red corresponde a un paso mutacional. La dimensión de los óvalos en la representación refleja la frecuencia haplotípica y los colores corresponden a las distintas subespecies. Derecha: El cladograma derivado de un análisis Bayesiano muestra junto a las ramas los valores de probabilidad posterior. Los círculos al final del cladograma representan las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución correspondientes a distintas subespecies.

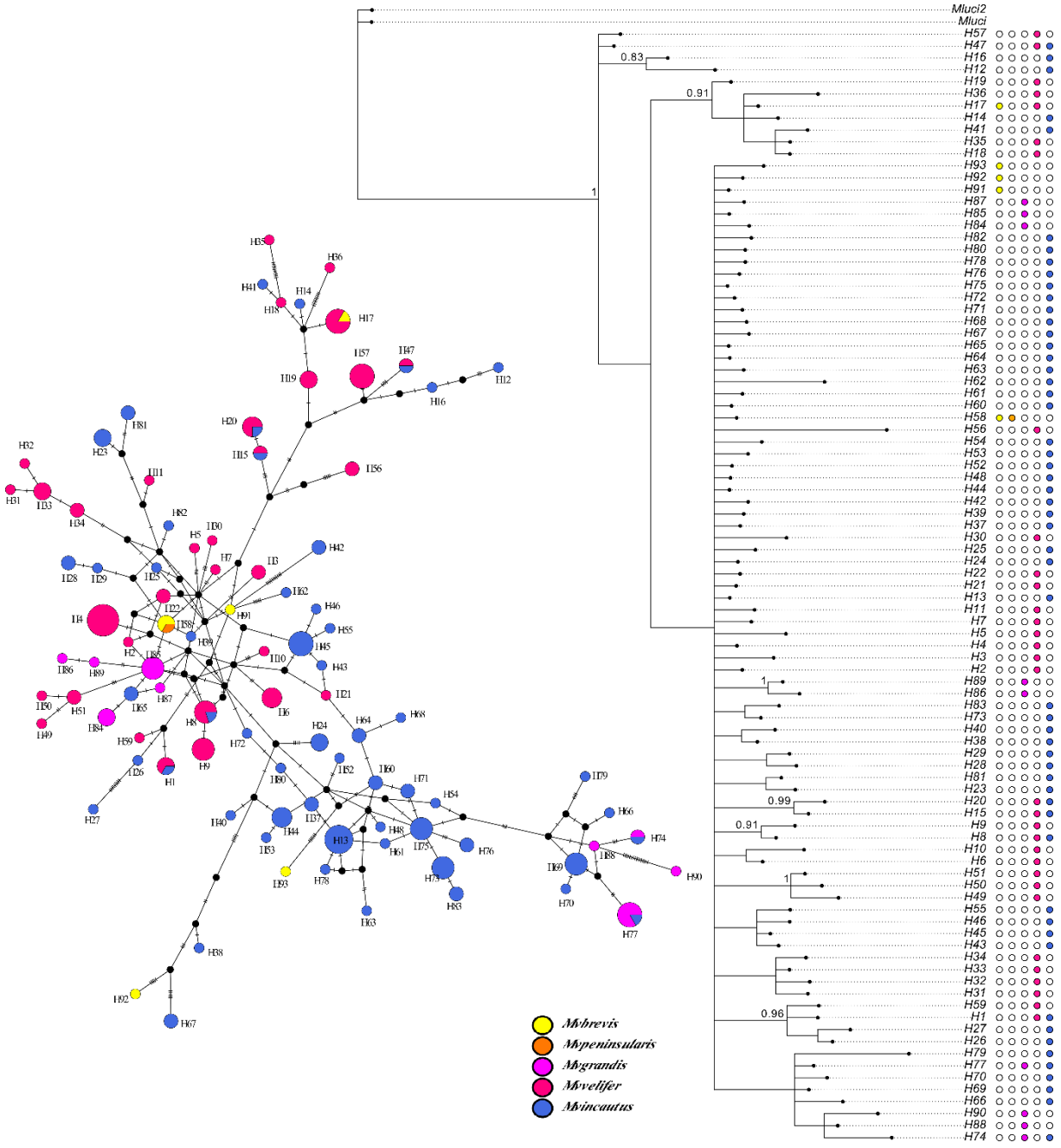


Figura 3. Red haplotípica y cladograma de los 93 haplotipos del locus mitocondrial de la región control. Izquierda: Red de haplotipos donde cada línea dentro de la red corresponde a un paso mutacional. La dimensión de los óvalos en la representación refleja la frecuencia haplotípica y los colores identifican a las distintas subespecies. Derecha: El cladograma derivado de un análisis Bayesiano muestra, junto a las ramas, los valores de probabilidad posterior. Los círculos al final del cladograma representan las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución correspondientes a distintas subespecies.

El análisis concatenado de COI y región control, reveló una filogenia con bajo soporte filogenético en las ramas externas, lo que impidió una resolución clara de las relaciones filogenéticas. No obstante, algunos de los clados internos presentaron un buen soporte filogenético (Figura 4). Se identificaron nueve clados (I al IX) y se pudo observar una tendencia de algunos haplotipos a agruparse en regiones geográficas cercanas y otros distribuidos de manera más extensa. En cuanto a la red de haplotipos, ésta presentó una topología homogénea con haplogrupos estrechamente relacionados entre sí. La mayor separación con respecto a pasos mutacionales fue entre el haplogrupo I, con respecto al IX, con 16 pasos. En general, se observó la presencia de haplotipos no muestreados entre los haplogrupos identificados (Figura 4).

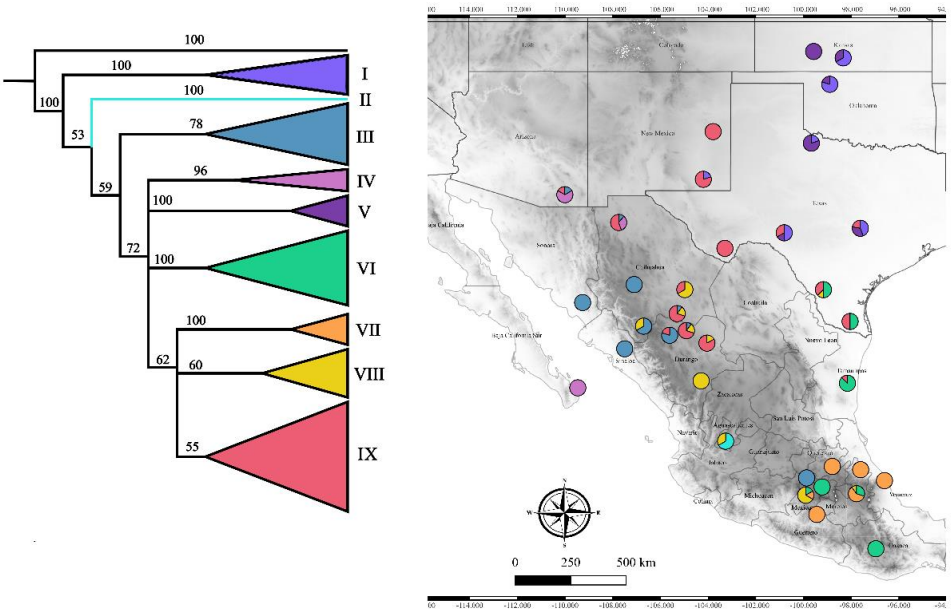


Figura 4. Cladograma de la región mitocondrial concatenada y mapa de distribución de haplogrupos. El cladograma derivado de un análisis Bayesiano representa en triángulos de colores a los haplotipos que se encuentran dentro de los clados del I al XI. En el mapa se observa la distribución geográfica de estos haplogrupos haciendo uso de los mismos colores.

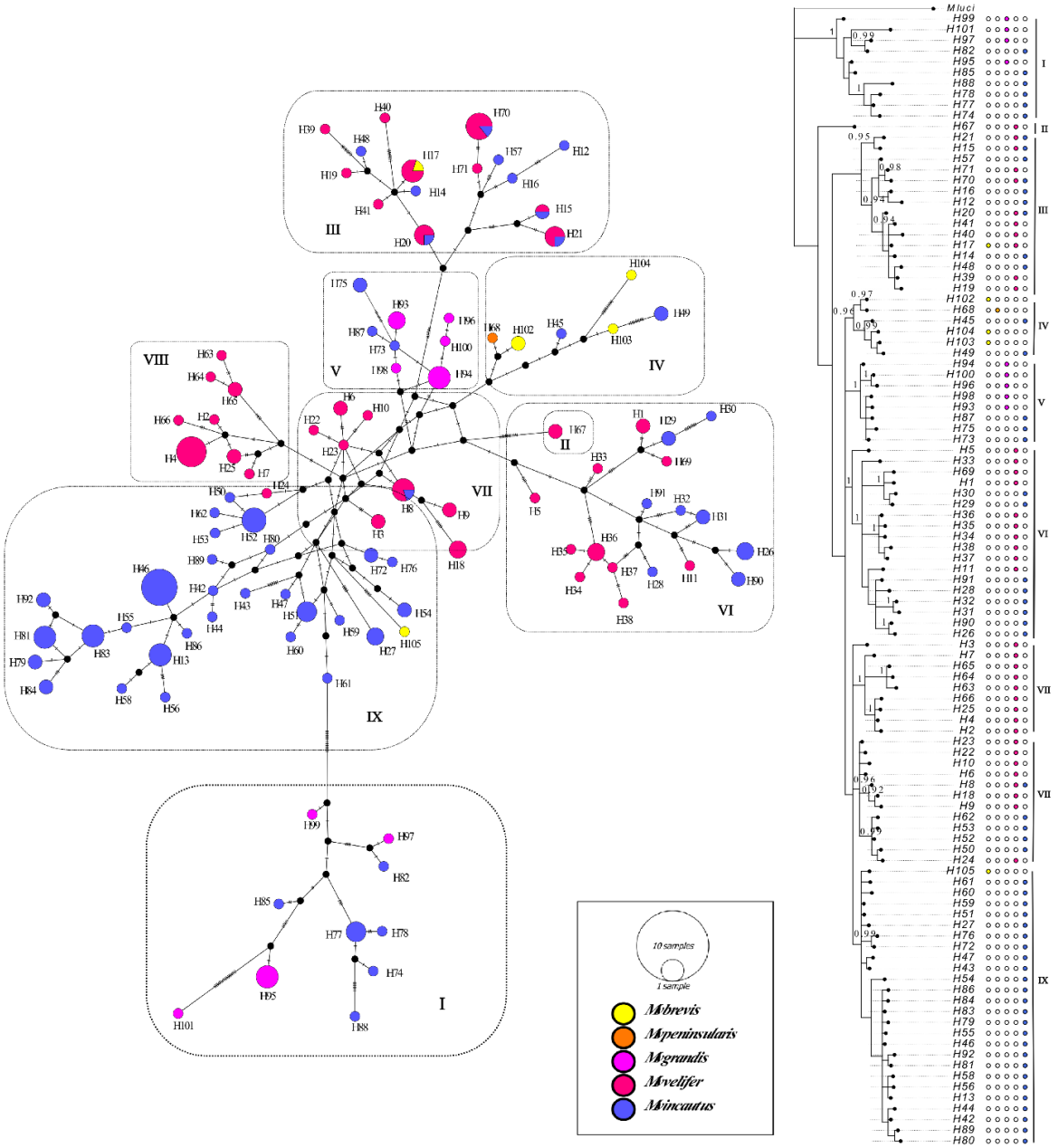


Figura 5. Red haplotípica y cladograma de los 105 haplotipos de la región mitocondrial concatenada. Izquierda: Red de haplotipos con los haplogrupos identificados en diferentes rectángulos (I - IX). Derecha: El cladograma derivado de un análisis Bayesiano muestra los clados I al IX en concordancia con las agrupaciones observadas en la red de haplotipos; arriba de las ramas, se indican los valores de probabilidad posterior mayores al 90%. Los círculos al final del cladograma representan a las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución correspondientes a distintas subespecies.

Distancia genética

La distancia genética entre haplotipos varió entre los genes mitocondriales, con valores de distancia media de 1% para COI y de 4% para la región control; esta misma diferenciación se pudo observar en los rangos de distancia en donde la región control mostró los mayores valores comparativamente con COI (Tabla 3). En el análisis comparativo con los grupos externos, *M. yumanensis* fue la especie genéticamente más cercana a *M. velifer*.

Tabla 3. *Porcentajes de distancias genéticas intraespecíficas por gen mitocondrial analizado.*

	COI	**DLOOP**
Entre haplotipos		
$\bar{X}$	1%	4%
Rango	0.16-3.51%	0-7.8%
***M. velifer* vs Grupo externo**		
M. velifer vs M. yumanensis	4.4%	-
M. velifer vs M. lucifugus	11.8%	9.20%
M. velifer vs M. vivesi	11.7%	-

Nota. Se presentan los valores mínimo y máximo de distancia genética observados entre haplotipos para cada gen, así como las distancias genéticas comparativas con respecto a los grupos externos utilizados.

La mayor divergencia en COI se observó entre los clados II y III con un 2.5%, seguida de la divergencia entre los clados I y III (2%) y la menor entre los clados I y II (1.2%).

Para la filogenia concatenada mitocondrial, la distancia genética entre los clados I y IX fluctuó entre 2.8% y el 3.4%. La distancia más alta se observó entre los haplogrupos I y VII (3.4%) y la más baja entre los haplogrupos VIII y IX (0.8%; Tabla 4).

Tabla 4. *Matriz de distancias genéticas entre haplogrupos identificados en el análisis mitocondrial concatenado.*

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
I	-								
II	3.09	-							
III	3.39	2.47	-						
IV	2.90	2.00	1.86	-					
V	3.18	2.19	2.03	1.13	-				
VI	3.18	2.37	2.34	1.49	1.61	-			
VII	**3.43**	2.45	2.07	1.35	1.29	1.76	-		
VIII	3.06	2.12	1.78	1.08	1.07	1.53	1.08	-	
IX	2.86	2.20	2.05	1.26	1.27	1.52	1.28	**0.88**	-

Nota. Se encuentran ordenados de I a IX. Los valores indican la distancia genética entre cada par de haplogrupos en porcentaje, destacando las diferencias más altas y bajas en negro.

Aislamiento por distancia

La prueba Mantel mostró una correlación positiva significativa (r2=0.2069, p<0.05) entre las distancias genéticas y geográficas (Figura 6).

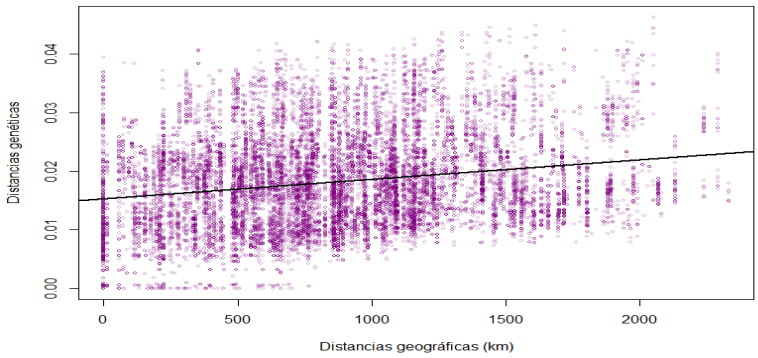


Figura 6. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas concatenadas de la región mitocondrial. La correlación observada es significativa, indicando una relación estadísticamente relevante entre la distancia geográfica y la distancia genética en la región mitocondrial.

Marcadores nucleares

También se analizaron de forma independiente los genes nucleares. Para APOB, se examinaron 332 secuencias provenientes de 166 individuos, con una longitud de 274 pb. Se identificaron 12 sitios variables y seis fueron parsimoniosamente informativos. En total se encontraron nueve haplotipos de los cuales cuatro fueron compartidos y cinco únicos. Entre éstos, el haplotipo 1 fue el más frecuente con el 94% (n=310). Para CMH se evaluaron 348 secuencias de 155 individuos, con una longitud de 185 pb. Se identificaron 27 sitios variables y 21 parsimoniosamente informativos. En total, se encontraron 57 haplotipos, de los cuales 27 fueron compartidos y 30 únicos. El haplotipo 6 fue el más frecuente (41.4%; n=72), seguido por el haplotipo 14, (27.6%; n=48) y el haplotipo 4, (27%; n=47). Para RAG2 se analizaron 342 secuencias provenientes de 171 individuos con una longitud de 693 pb. Se identificaron 34 sitios variables y 19 parsimoniosamente informativos. En total, se encontraron 38 haplotipos, de los cuales 21 fueron compartidos y 17 fueron únicos. El haplotipo 1 fue el más frecuente (68.9%; n=237). La concatenación de los genes nucleares resultó en un conjunto de 218 secuencias, con una longitud de 1,152 pb, un total de 53 sitios variables y 41 parsimoniosamente informativos. Se encontraron 105 haplotipos, de los cuales 21 fueron compartidos y 84 únicos. El haplotipo 1 fue el más frecuente, (15%; n=33), seguido del haplotipo 10, (12%; n=27).

Estructura genética y variación poblacional

Los resultados de AMOVA para cada gen nuclear, indicaron que la mayor parte de la variación se encontró dentro de las poblaciones, mientras que la variación entre poblaciones fue relativamente baja, oscilando entre el 7% y el 16% (Tabla 5). Para el gen CMH, se encontró el mayor porcentaje de variación dentro de las poblaciones, con un 93%, seguido de APOB, con 90% y RAG2, con

84%. Los valores de F_{ST} también reflejaron una baja diferenciación para los genes de manera individual y concatenada (F_{ST}=0,067; p<0.05).

Tabla 5. *Resultados de AMOVA para datos nucleares individuales (APOB, CMH y RAG2), y concatenados.*

Marcador	Fuente de variación	Suma de cuadrados	Varianza	Porcentaje de variación	F_{ST}
APOB	EP	6.492	0.01061	10.13327	0.10133*
	DP	28.035	0.09408	89.86673	
CMH	EP	69.977	0.08808	6.69241	0.06692*
	DP	385.512	1.22811	93.30759	
RAG2	EP	36.397	0.07556	16.02065	0.16021*
	DP	124.256	0.39607	83.97935	
Concatenado	**EP**	**67.078**	**0.12445**	**6.77816**	0.06778*
	DP	**333.638**	**1.71164**	**93.22184**	

Nota. EP = Entre poblaciones, DP = Dentro de poblaciones. * P < 0.05.

Los resultados de STRUCTURE tanto en el análisis sin asignación previa de individuos a poblaciones, como en el análisis considerando asignaciones taxonómicas (5), el número óptimo de *K* fue consistentemente 2 e incluyó individuos de todas las localidades (Figura 7; Anexo 3). De manera que la estructura genética no es coherente con las poblaciones identificadas a priori ni con la taxonomía. Además, las probabilidades de asignación fueron simétricas (Figura 7), lo que indica que el patrón de agrupamiento podría ser un artefacto del análisis, dado que el método delta K de Evanno (2005) no permite calcular valores para K=1.

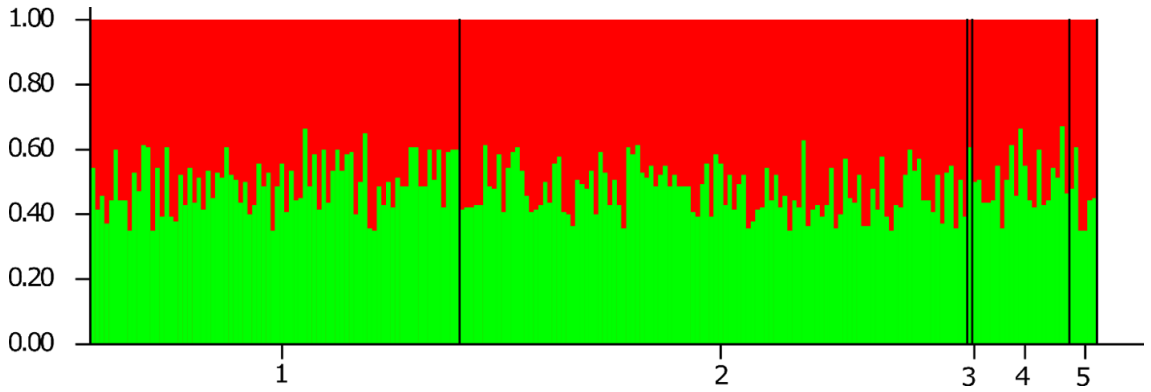


Figura 7. Gráfica de STRUCTURE de 218 individuos muestreados en México y Estados Unidos. Los gráficos de barras corresponden a cinco poblaciones hipotéticas. Los números en el eje Y se refieren a la probabilidad de que un individuo sea asignado a esa población, mientras que los números del eje X se refieren a las subdivisiones taxonómicas subespecíficas de *Myotis velifer* (1=*M. v. velifer*, 2= *M. v. incautus*, 3= *M. v. peninsularis*, 4= *M. v. brevis*, 5 = *M. v. grandis*).

Relaciones haplotípicas y filogenéticas

En los cladogramas y redes haplotípicas con los genes nucleares la agrupación de los haplotipos fue indiferenciada entre localidades de Estados Unidos y México, sin mostrar estructura genética acorde con la taxonomía a nivel subespecífico. Los cladogramas, presentaron un alto soporte de ramas basales para la totalidad de haplotipos. En cuanto a la red haplotípica, el número total de haplotipos fue el doble del número de individuos muestreados y se observaron haplotipos de un mismo individuo en diferentes partes de la red (Figuras 8-10).

Asimismo, se existieron algunas diferencias en cuanto a las relaciones haplotípicas para los diferentes genes. Por ejemplo, tanto en la red de APOB como en RAG2 se obtuvo un haplotipo central con varios nodos conectados a éste, mostrando que la mayoría de los individuos de la población comparten un haplotipo en común con algunos haplotipos derivados; en contraste, CMH

presentó una red con mayor cantidad de haplotipos que se representan en varios nodos separados de diferentes frecuencias haplotípicas (Figura 10).

El cladograma resultante del análisis concatenado de los genes nucleares mostró un bajo soporte en varias de sus ramas, por lo que la resolución del árbol fue insuficiente para identificar relaciones filogenéticas entre poblaciones, sin una separación definida con el grupo externo utilizado (Figura 11).

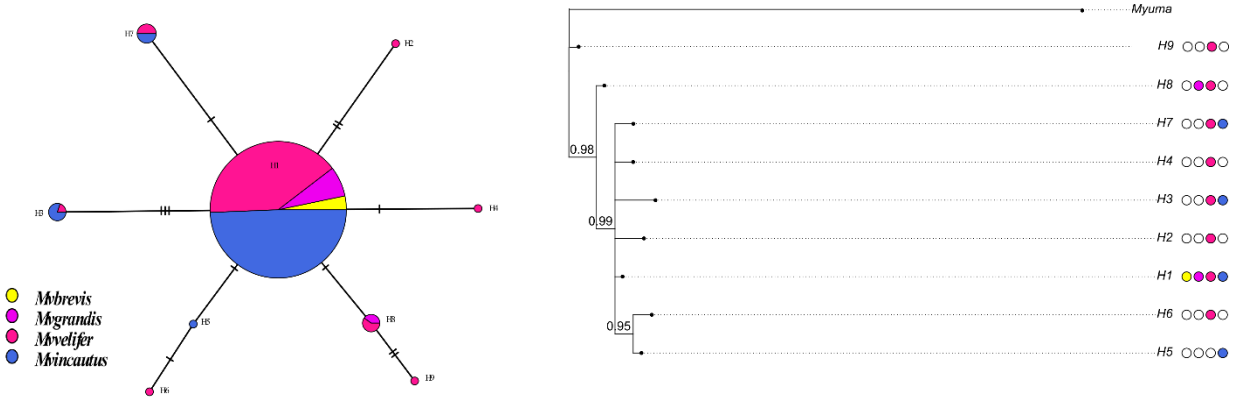


Figura 8. Red haplotípica y cladograma de los nueve haplotipos para el gen nuclear de la Apolipoproteína B (APOB). Izquierda: Red de haplotipos. Cada línea dentro de la red corresponde a un paso mutacional. La dimensión de los óvalos en la representación refleja la frecuencia haplotípica, y los círculos de colores identifican a las distintas subespecies. Derecha: Cladograma derivado de un análisis Bayesiano, donde se muestran los valores de probabilidad posterior arriba de las ramas. Los círculos al final del cladograma representan las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución, correspondientes a distintas subespecies.

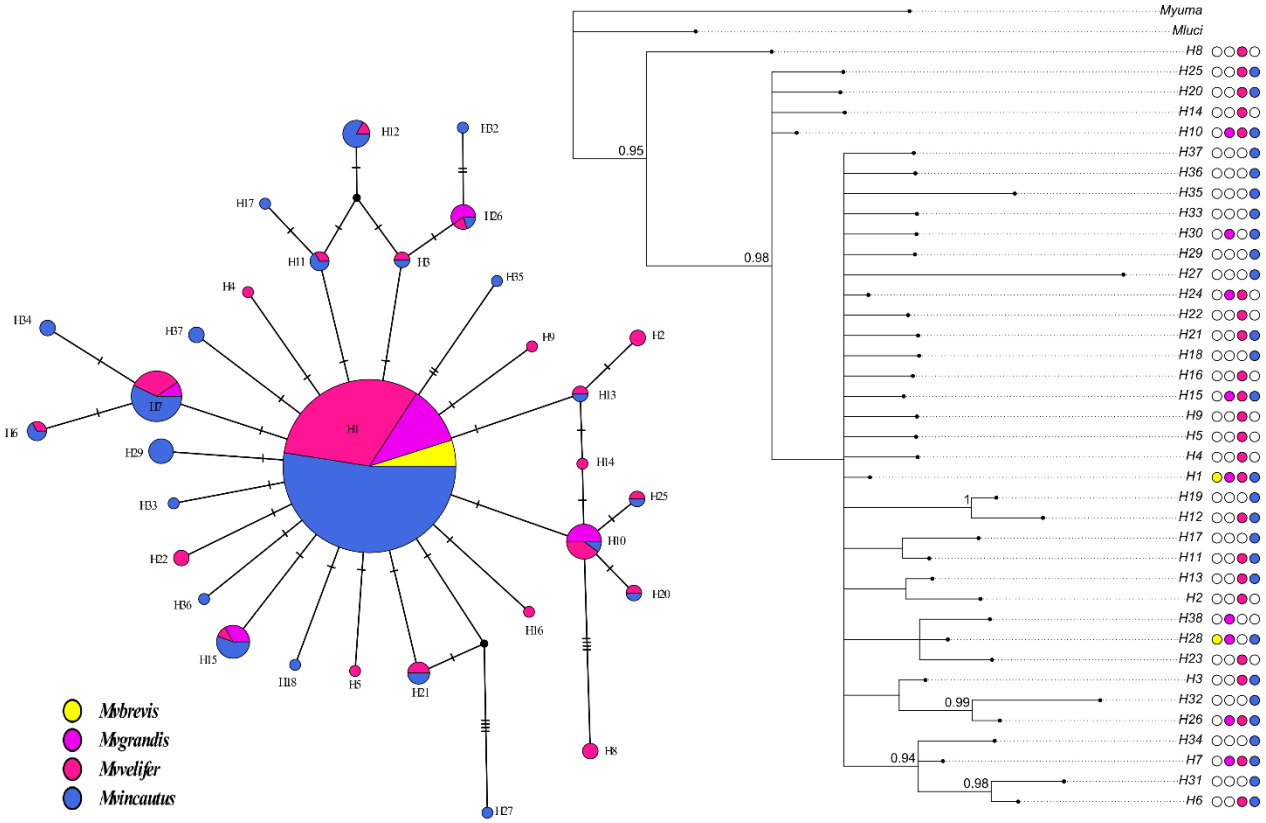


Figura 9. Red haplotípica y cladograma de los 38 haplotipos para el gen nuclear del Gen de Activación de Recombinación (RAG2). Izquierda: Red de haplotipos donde cada línea corresponde a un paso mutacional. La dimensión de los óvalos en la representación refleja la frecuencia haplotípica, y los círculos de colores identifican a las distintas subespecies. Derecha: Cladograma derivado de un análisis Bayesiano donde los valores de probabilidad posterior se presentan arriba de las ramas. Los círculos al final del cladograma representan las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución correspondientes a distintas subespecies.

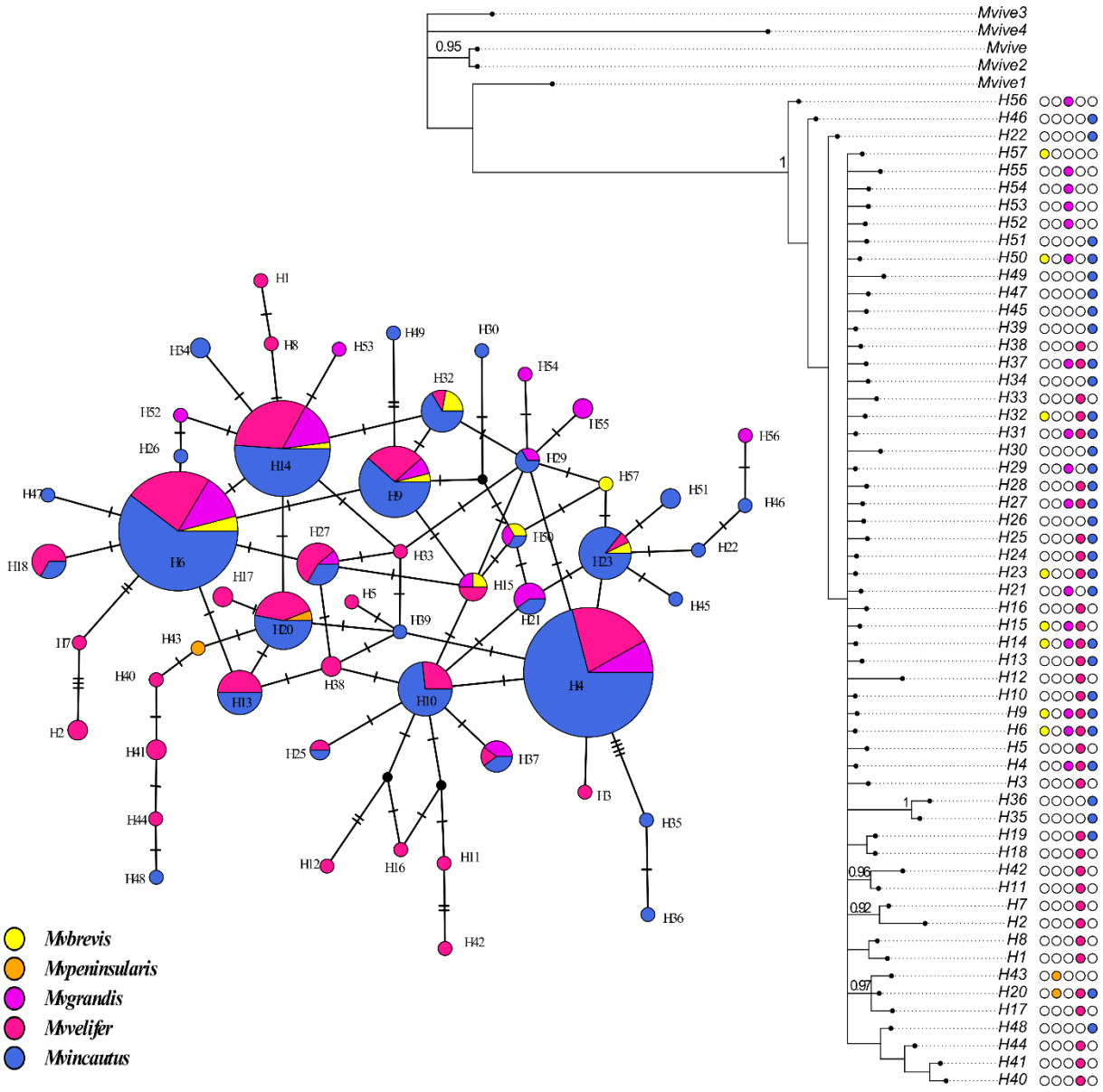


Figura 10. Red haplotípica y cladograma de los 57 haplotipos para el gen nuclear del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Izquierda: Red haplotípica donde cada línea corresponde a un paso mutacional. La dimensión de los óvalos en la representación refleja la frecuencia haplotípica, y los círculos de colores identifican a las distintas subespecies. Derecha: Cladograma derivado de un análisis Bayesiano cuyos valores de probabilidad posterior se presentan arriba de las ramas. Los círculos al final del cladograma representan las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución correspondientes a distintas subespecies.

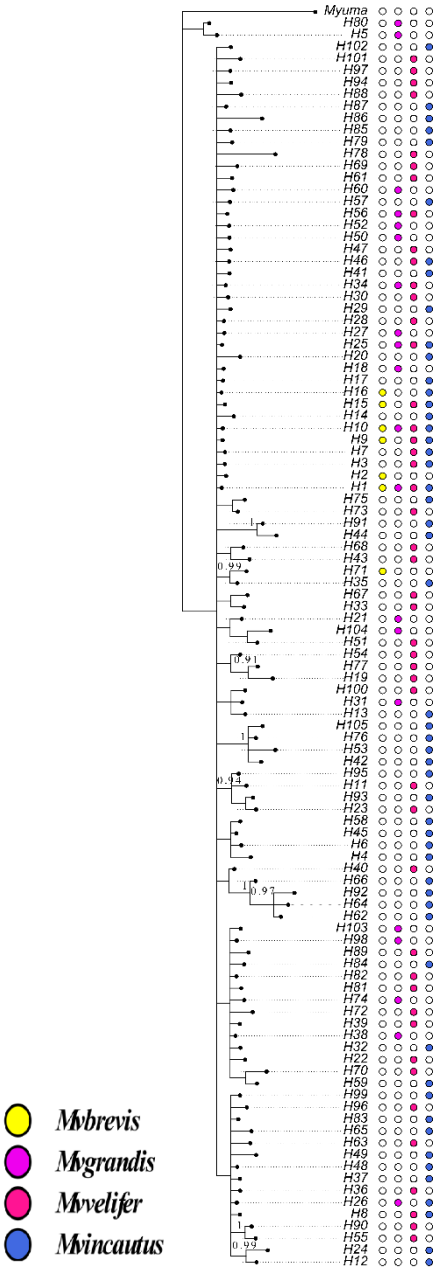


Figura 11. Cladograma de 105 haplotipos de la región nuclear concatenada. Los valores de probabilidad posterior se presentan arriba de las ramas. Los círculos al final del cladograma representan las subespecies de *Myotis velifer*. Los círculos de distintos colores significan que un mismo haplotipo puede estar presente en diferentes áreas de distribución correspondientes a distintas subespecies.

Distancia genética

La distancia genética media entre los haplotipos mostró valores más altos para CMH, con 3% y mayores rangos (0 – 8.36%), comparativamente APOB y RAG2 que presentaron valores bajos de distancia (0 a 1%) y rangos (0 a 1.4%.) Las distancias comparadas con *M. yumanensis* fueron de 1.4% con RAG2 y de 2.1% con APOB (Tabla 6).

Tabla 6. *Porcentajes de distancias genéticas por gen nuclear analizado.*

	APOB	**CMH**	**RAG2**
Entre haplotipos			
X̄	1%	3%	0
Rango	0.33 -1.19%	0 – 8.36%	0 -1.45%
***M. velifer* vs Grupo externo**			
M. velifer vs M. yumanensis	2.10%	-	1.40%
M. velifer vs M. lucifugus	-	-	-
M. velifer vs M. vivesi	-	19.70%	-

Nota. Se presentan la distancia genética media y el rango observados entre haplotipos para cada gen, además de las distancias comparativas respecto a los grupos externos utilizados.

Aislamiento por distancia

La prueba Mantel mostró una correlación negativa y no significativa ($r2 = -4.5536$; $p>0.05$) entre las distancias genéticas y geográficas (Figura 12).

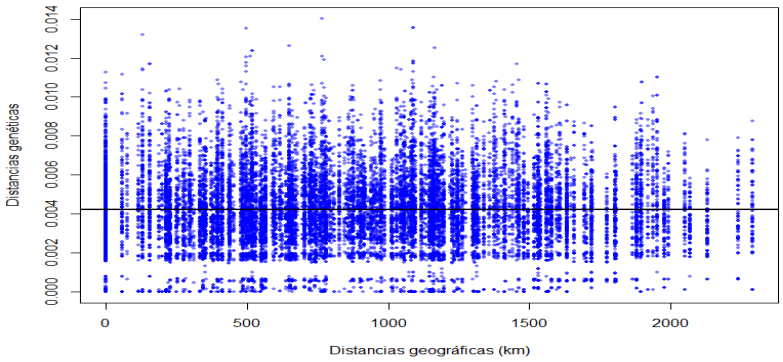


Figura 12. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas concatenadas de la región nuclear. El análisis reveló una correlación no significativa entre las distancias geográficas y las distancias genéticas nucleares.

Flujo génico

Los análisis de aislamiento-migración (IMA3) realizados con los datos nucleares y de COI para los dos grupos genéticos identificados (*K*=2, Anexo 3), revelaron que la tasa de migración (2Nm) en ambas direcciones fue significativamente mayor que cero (>0). Estos resultados se respaldan con la prueba de razón de verosimilitud marginal de Nielsen y Wakeley (2001), obteniendo estimaciones de 2Nm significativos ($p<0.001$). La distribución de las tasas de migración sugiere un nivel flujo génico alto y significativo, desde el grupo genético 1 hacia el grupo 2, (2Nm=12.1), así como en la dirección opuesta (2Nm=81.7).

Discusión

Delimitación molecular de las subespecies de *Myotis velifer*

Este estudio, que incluye el mayor número de muestras y localidades analizadas hasta la fecha para *Myotis velifer* a nivel molecular, no reveló una concordancia entre la variación y estructura genética y las delimitaciones geográficas de las subespecies reconocidas a la fecha (MDD, 2023). Es decir, nuestros resultados genéticos (marcadores nucleares y mitocondriales), considerando toda la distribución, no respaldan la taxonomía subespecífica de *M. velifer*. Estos hallazgos son similares a lo reportado por Parlos (2008) para algunas poblaciones en los Estados Unidos, donde tampoco se encontró un soporte genético a partir de microsatélites y citocromo b mitocondrial consistente con las subespecies de *M. velifer* para esa región.

Nuestros resultados mitocondriales mostraron desde una baja (región control) hasta una moderada estructuración genética (COI y datos concatenados), apoyados también por los valores de FST, así como por los patrones genealógicos y filogenéticos, sin mostrar correspondencia con la distribución geográfica de las subespecies reconocidas de *M. velifer*. Para la región control, no se recuperó ningún tipo de estructura genética y, filogenéticamente, se evidenció la agrupación de todos los haplotipos en un mismo clado monofilético mostrando una homogeneidad genética e interconexión de haplotipos sin un patrón claro. Este patrón es similar al reportado en otras especies de murciélagos, como *Tadarida brasiliensis* (I. Geoffroy, 1824) (Rusell et al., 2005) y *Leptonycteris yerbabuenae* (Trejo-Salazar et al., 2021), las cuales presentan un patrón de distribución similar al de *M. velifer*. Sin embargo, difiere de lo observado en otras especies con distribuciones amplias en México, como *Pteronotus fulvus* (Thomas, 1892) (Guevara-Chumacero

et al., 2010) y *Natalus mexicanus* (López-Wilchis et al., 2021), que sí muestran estructuración genética geográfica.

Con COI, identificamos tres haplogrupos separados por distancias genéticas entre 1.2 y 2.5%, que de acuerdo a Rodríguez y Ammerman (2004) y Baker y Bradley (2006), corresponden a valores dentro del rango de variabilidad intraespecífica para el género *Myotis* con cytb y por Clare *et al*. (2007) respecto a COI. El haplogrupo I incluyó un único haplotipo que correspondió al rango de distribución de la subespecie *M. v. velifer*, el cual se encontró en la zona de Transición Mexicana y, en un principio, podría considerarse endémico de la región. Sin embargo, el análisis genealógico reveló la presencia de varios haplotipos no muestreados que lo separan de los otros dos haplogrupos. Esto sugiere que esta variante genética podría estar presente en otras poblaciones y que no fue detectada debido al muestreo limitado en estas áreas geográficas. El haplogrupo II se integró por nueve haplotipos de las regiones centro-norte, centro-sur y oeste de los Estados Unidos (Kansas, Oklahoma, Texas y Nuevo México), correspondientes a las áreas de distribución de las subespecies *M. v. grandis* y *M. v. incautus*. Este haplogrupo presentó más de 10 pasos mutacionales con respecto a los haplogrupos I y III; sin embargo, también existen varios haplotipos no muestreados que lo separan, por lo que esta separación podría ser producto de una falta de muestreo para individuos de las poblaciones en esta región. Este resultado también podría estar relacionado con los patrones de migración reportados para esta región, donde se han registrado poblaciones residentes durante todo el año, así como otras que presentan migración (Twente 1955b; Hayward, 1970; Humphrey y Oli 2015), dinámica que podría haber generado una posible reducción del flujo genético histórico entre las localidades o poblaciones de hembras no migratorias. Finalmente, el haplogrupo III presentó 42 haplotipos pertenecientes a individuos de toda la región geográfica

muestreada en México y Estados Unidos; incluso agrupó haplotipos con individuos de las localidades identificadas en el haplogrupo II. Además, este haplogrupo incluyó a todas las designaciones taxonómicas subespecíficas de la especie, lo que permite inferir una amplia conectividad genética histórica de las hembras a lo largo de su distribución, sin verse afectada por barreras físicas o conductuales. Limitaciones en el reconocimiento taxonómico subespecífico de murciélagos a partir del COI ya han sido documentadas para algunas especies del género *Myotis* en Norteamérica (e.g., el complejo *M. lucifugus* (Korstian *et al*., 2016), *M. melanorhinus* y *M. californicus* (Vázquez Rueda, 2018), e incluso para otros *Myotis* del paleártico (Kruskop *et al*., 2012; Park *et al*., 2019). Al respecto, estas diferenciaciones estas diferenciaciones entre marcadores podrían atribuirse a las tasas de mutación propias de cada uno (Baker y Marshall, 1997; Clare et al., 2011), especialmente considerando que la región control exhibe una tasa de mutación más alta en comparación con el gen COI (Baker y Marshall, 1997).

Por su parte, los datos concatenados de ADNmt mostraron una mayor resolución, revelando una estructura genética moderada con la presencia de nueve haplogrupos, donde la mayoría se conformaron por individuos encontrados en el área geográfica de dos o tres subespecies diferentes. Por ejemplo, el haplogrupo III presentó individuos de las subespecies *M. v. velifer*, *M. v. incautus* y *M. v. brevis*, mientras que el haplogrupo IV se conformó por individuos de las subespecies *M. v. brevis* y *M. v. peninsularis.* Excepcionalmente, sólo el haplogrupo VII agrupó individuos determinados como *M. v. velifer* que provenían de la región central de México. No obstante, aunque no se encontró una correlación genética entre las designaciones taxonómicas y los haplogrupos recuperados, se identificó que estos últimos presentaron afinidad con regiones geográficas específicas, las cuales pueden asociarse a distintas ecorregiones según la delimitación de CEC

(2021), como ha sido observado en otros murciélagos como *Antrozous pallidus* (Weyandt y Van Den Bussche, 2007), *Myotis davidii* (You *et al*., 2010), *M. pilosus* (Lu *et al*., 2013), *Sturnira parvidens* (Canchola y León-Paniagua, 2017) y otros murciélagos norteamericanos (Patrick y Stevens, 2016), así como en roedores (López-González *et al*., 2024). En detalle, los haplogrupos recuperados con el ADNmt concatenado se encontraron más limitados geográficamente: por ejemplo, en las grandes llanuras del centro en Estados Unidos se presentaron los haplogrupos I-V; en el Eje Neovolcánico se registró el haplogrupo VII; y en la Sierra Madre Occidental (SMO) se detectó el haplogrupo II. Esta distribución podría estar relacionada con la coexistencia de poblaciones migratorias y residentes permanentes en estas regiones (Twente, 1955b; Villa, 1966; Hayward, 1970; Humphrey y Oli, 2015; Flores y Medellín, 2004) y estaría reflejando un flujo génico históricamente limitado entre las poblaciones residentes, que contribuiría a una estructuración más regionalizada. Si bien la mayoría de los registros de poblaciones residentes provienen de Estados Unidos (Twente, 1955b; Hayward, 1970; Humphrey y Oli, 2015), en México solo se ha documentado una colonia en el Estado de México, que permanece en la misma cueva durante todo el año (Flores y Medellín, 2004). Aunque se requiere de más estudios para determinar si este comportamiento es generalizado en la región, estos hallazgos no descartan la posibilidad de que la residencia permanente también ocurra en otras localidades en el Centro de México. En contraste, otros haplogrupos abarcaron rangos de distribución más amplios y heterogéneos, lo que podría dar cuenta de una dispersión mucho más generalizada, como por ejemplo el haplogrupo III que se encontró a lo largo de la SMO y en el Eje Neovolcánico, el haplogrupo IV, que incluyó haplotipos de las llanuras de los cabos y del pie de monte de la SMO, el haplogrupo VI, que abarcó las grandes llanuras, el Eje Neovolcánico y las Sierras de Guerrero y Oaxaca, el haplogrupo VIII, que se ubicó mayormente en el desierto de Norteamérica y, finalmente, el haplogrupo IX, que

coincidió con las áreas del desierto de Norteamérica y las grandes planicies (Fig. 4). Por otra parte, se identificaron otros patrones relevantes en la distribución de los haplogrupos mitocondriales, como lo es la posible influencia de la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre Oriental, ya que algunos de los haplogrupos se mantuvieron exclusivamente en la región al Oeste (III, IV, VIII) y otros restringidos al Este (VI), y que coincide con los hallazgos para otros murciélagos en México (Guevara-Chumcero *et al*., 2010; López-Wilchis *et al*., 2021), así como también del área de la Transición Mexicana, en donde se observó que confluyeron otros haplotipos provenientes de las laderas de las sierras. Al respecto, se puede considerar la importancia que tiene esta región geográfica en el mantenimiento de una amplia diversidad biológica y ecosistémica (Morrone, 2019), similar a lo encontrado en otras especies de murciélagos en las que se han identificado haplogrupos mitocondriales asociados a esta área (*Tadarida brasiliensis* - Morales *et al*., 2016; *Corynorhinus sp*. - López-Cuamatzi *et al*., 2024). Para *M. velifer*, esta región geográfica parece favorecer la presencia de grandes concentraciones poblacionales, evidenciadas en distintas colonias de maternidad e hibernación distribuidas a lo largo de su rango (Villa, 1966; Ávila-Flores y Medellín, 2004; Farfán, 2019; Medina-Bello *et al*., 2023; Ramos-H *et al*., 2024).

Por otro lado, nuestros análisis genéticos con ADNn revelaron en general bajos niveles de diferenciación genética, como lo indican tanto los valores de F_{ST} y los análisis genealógicos y filogenéticos que agruparon todos los haplotipos en un único grupo. Particularmente, las redes haplotípicas mostraron conexiones entre individuos de diversas localidades a lo largo de toda el área de distribución. No obstante, se evidenciaron algunas diferencias entre los marcadores nucleares empleados como lo fue para los genes RAG2 y APOB, con respecto al gen CMH. Para RAG2 y APOB, la estructura genética resultó nula, lo cual se reflejó en la genealogía en forma de

estrella donde predominó un haplotipo central de alta frecuencia unido a otros haplotipos derivados, patrón consistente con los bajos valores de F_{ST}. De igual manera, con el gen CMH se obtuvo ausencia de estructuración genética, a pesar de presentar un mayor número de haplotipos con respecto a RAG2 y APOB. La diferencia en cuanto al número de haplotipos encontrados entre los genes RAG2 y APOB *vs* CMH se debió principalmente a que los primeros dos son genes altamente conservados y presentan una baja tasa de variación intraespecífica (Whitfield *et al*., 2004; de Camargo y Nahum, 2005), lo que explicaría la baja cantidad de haplotipos que mostraron, igualmente congruente con los resultados de otros estudios con murciélagos a nivel de especie (*Desmodus rotundus* (E.Geoffroy, 1810) - Martins *et al*., 2009; *Corynorhinus sp*. H.Allen, 1865 - López-Cuamatzi *et al*., 2024), a pesar de que en otros estudios con mamíferos han ayudado a la identificación de nuevos taxones intraespecíficos o para la delimitación de especies (*e.g.*, murciélagos - Carrión-Bonilla *et al*., 2024; musarañas - Chen *et al*., 2023). Asimismo, han permitido inferir relaciones filogenéticas interespecíficas de murciélagos del género *Myotis* (Stadelmann *et al*., 2007; Marchesin *et al*., 2008; Lack *et al* 2010; Liu *et al*., 2023). Por su parte, el gen CMH, se caracteriza por su alta tasa de evolución, su importancia en la respuesta inmune adaptativa (Spurgin y Richardson, 2010; Richman *et al*., 2010) y por una notable variabilidad intra e interespecífica, que ha sido reportada en diversos estudios de murciélagos (*Saccopteryx bilineata* - Mayer y Brunner, 2007; murciélagos del nuevo mundo - Schad *et al*., 2012; *Artibeus jamaicensis* - Real-Monroy *et al*., 2014; *Carollia perspicillata*, *Desmodus rotundus* y *Molossus molossus* - Salmier *et al*., 2016; *Myotis lucifugus* - Yi *et al*., 2020) y, particularmente para la especie de este estudio (*M. velifer*), donde Richman *et al*. (2010), a partir de este marcador evaluaron el nivel de polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad y la diversidad de secuencias en una muestra de 24 individuos de la localidad Llano Grande, San Luis Potosí (México), en la que

encontraron 28 haplotipos diferentes con un alto nivel de polimorfismo. Cabe señalar que en este último estudio no se evaluaron aspectos de estructura o diferenciación geográfica de la especie.

La falta de congruencia entre los grupos genéticos y las subespecies documentadas para *M. velifer* también se evidenció en los análisis de agrupación bayesiana. Esta ausencia de diferenciación genética sugiere un alto flujo génico dentro de la población, lo que es consistente con las estimaciones de la tasa de migración cuyos valores indican que, el número efectivo de migrantes por generación es lo suficientemente alto para permitir el intercambio genético entre poblaciones y evitar la presencia de estructuración genética (Slatkin, 1985). A su vez, la ausencia de estructura poblacional observada en nuestros datos de ADNn para *M. velifer,* se vería favorecida por las diferencias en el comportamiento reproductivo de la especie. Por ejemplo, aunque la cópula de los machos ocurre principalmente en otoño, en los Estados Unidos se han reportado casos copulas durante el invierno (Fitch *et al*., 1981) o incluso en primavera durante el mes de abril (Dunnigan y Fitch, 1967). En México, especialmente en Veracruz, se ha reportado la presencia de hembras gestantes tanto en diciembre como en marzo (Hall y Dalquest, 1963). Estas observaciones sugieren que la especie podría reproducirse en distintas estaciones, lo que, a su vez facilita la interacción entre grupos reproductores de diversas localidades y por lo tanto el flujo génico dentro de la población. La ausencia de estructuración genética identificada coincide con los hallazgos de investigaciones previas para la especie en las poblaciones de los Estados Unidos, a partir del uso de microsatélites (Parlos, 2008). Este patrón de estructura también ha sido identificado en otros murciélagos norteamericanos, como el murciélago cola peluda rojizo (*Lasiurus borealis*) y el murciélago nevado (*L. cinereus*), (Korstian *et al*., 2015). Sin embargo, esta información contrasta con lo reportado en otras especies de murciélagos norteamericanos que se distribuyen en simpatría

(Weyandt & Van Den Bussche, 2007; Guevara-Chumacero *et al.*, 2010; Hernández-Canchola & León-Paniagua, 2017; Zárate-Martínez *et al*., 2018; López-Wilchis *et al*., 2021; Trejo-Salazar *et al*., 2021).

Estos resultados respaldan la gran adaptabilidad de la especie, que se evidencia a partir de capacidad para ocupar una amplia variedad de hábitats, incluyendo praderas, zonas desérticas, bosques y selvas (Miller y Allen, 1928; Vaughan, 1954; Hayward, 1970, Kunz, 1974), así como su alta capacidad de dispersión que, como se ha documentado, puede ser de cientos de kilómetros cuadrados incluso fuera de los períodos migratorios (Villa, 1966; Hayward, 1970). La inconsistencia genética y taxonómica también ha sido documentada en varias especies de murciélagos, incluyendo *M. lucifugus, M. myotis y Tadarida brasiliensis* (Lausen *et al*., 2008; Furman *et al*., 2014; Morales *et al*., 2016) y demuestra que las variaciones morfológicas tradicionalmente utilizadas para definir subespecies, como en el caso de *M. velifer* (Vaughan, 1954; Allen, 1896; Miller & Allen, 1928; Choate & Hall, 1967), podrían ser en su mayoría rasgos influenciados por factores ambientales que no reflejan una diferenciación genética (Stevens *et al*., 2016; Morales *et al*., 2018; Stevens, 2023). Por lo tanto, considerando la falta de congruencia entre los resultados de estructuración genética mitocondrial y nuclear y las subespecies reconocidas para *M. velifer*, este estudio no sustenta la presencia de subespecies para *M. velifer* y, en su lugar, se sugiere considerarla como especie monotípica.

Hipótesis de filopatría en *Myotis velifer*

Los análisis genéticos mostraron un patrón genético diferencial entre el ADNmt y el ADNn, donde la estructura genética matrilineal fue mayor que la biparental, lo que respaldaría la hipótesis de una evidencia indirecta de que las hembras de *Myotis velifer* han presentado históricamente cierto grado de filopatría natal. Las diferencias a nivel de estructuración genética para ambos marcadores indicaron que, aunque la dispersión de las hembras muestra una tendencia a permanecer en determinadas zonas, los machos estarían promoviendo la mayor parte del flujo genético y minimizando la diferenciación genética, probablemente a partir del apareamiento intercolonial, como se ha reportado típicamente en otras especies de vespertiliónidos. Algunos de ellos como *M. velifer* exhiben comportamientos de agrupamiento (Hayward, 1970; Fitch *et al*., 1981), por ejemplo, *M. lucifugus* y *M. septentrionalis* (Dixon, 2011; Johnson *et al*., 2015) en Norteamérica, y con *M. nattereri* (Rivers *et al*. 2005) y *M. bechsteinii* (Kerth *et al*., 2003) en Europa. Este sesgo en el flujo sexual entre machos y hembras se podría respaldar a través del significativo aislamiento por distancia observado con los marcadores mitocondriales, en contraste con la ausencia de este patrón en los marcadores nucleares, que sugieren una mayor movilidad de los machos.

Esta hipótesis de filopatría en *Myotis velifer* tiene sustento a partir de estudios previos realizados en los Estados Unidos para la especie, donde se han documentado patrones estacionales de movimiento, que indican una mayor probabilidad de regreso de los individuos a las áreas de origen, principalmente en primavera y otoño en comparación con el verano (Hayward, 1970); incluso en áreas que se han caracterizado por ser poblaciones de residentes permanentes, como lo es Oklahoma, donde las congregaciones de hembras en las cuevas de maternidad corresponden tanto

a hembras que provienen de otras áreas, como a aquellas que residen de manera habitual en estas localidades (Humphrey y Oli, 2015).

Esta posibilidad de filopatría femenina y flujo genético mediado por machos podría explicar, adicionalmente, la falta de congruencia entre los patrones de estructuración del ADNmt y ADNn, sin embargo, no se descartan otros factores que podrían estar influyendo en los resultados, como las diferencias en las tasas de mutación y las presiones selectivas inherentes a cada marcador (Baker y Marshall, 1997; Whitfield *et al*., 2004; de Camargo y Nahum, 2005; Kelley *et al.*, 2005; Clare *et al*., 2011). Asimismo, los tiempos de coalescencia y los tamaños efectivos de la población permiten que el ADNmt detecte divergencias poblacionales relativamente recientes, mientras que los genes nucleares empleados requieren mayor tiempo para reflejar dichas diferenciaciones (Zink y Barrowclough, 2008). Esta diferencia en la estructuración genética entre marcadores mitocondriales y nucleares, ya había sido documentada para *M. velifer* en Estados Unidos a partir de otros marcadores moleculares (cytb y microsatélites - Parlos, 2008), y se ha observado en otros estudios con especies del género *Myotis*, como *M. myotis* (Castella *et al*., 2001), *M. septentrionalis* (Arnold, 2007; Johnson *et al*. 2015), *M. nattereri* (Rivers *et al*., 2005), *M. lucifugus* (Burns *et al*., 2014; Vonhof *et al*., 2015; Johnson *et al*. 2015), *M. sodalis* (Vonhof *et al*., 2016), *M. davidii* (You *et al*., 2010), *M. bechsteinii* (Kerth *et al*., 2002), *M. mystacinus, M. davidii* (Çoraman *et al*., 2020) y *M. emarginatus* (Uvizl y Benda, 2021).

A la luz de nuestros resultados, es fundamental profundizar en los análisis genéticos y filogeográficos de *Myotis velifer* mediante el uso de otros marcadores moleculares como SNPs y microsatélites, con el fin de obtener una visión contemporánea de la dinámica poblacional en

términos de la estructura génica y la distribución de la población. Preferiblemente, estos estudios deben complementarse con análisis morfológicos y ecológicos que permitan caracterizar las diferencias entre machos y hembras, proporcionando así una comprensión integral de los procesos influyentes en la estructura genética de la especie.

Conclusiones

Los resultados de los análisis filogenéticos, genealógicos y de estructura genética, con base en dos genes mitocondriales y tres nucleares, no mostraron patrones de diferenciación genética congruentes con las delimitaciones geográficas de las subespecies, actualmente reconocidas, que respalden la hipótesis planteada. En general, se encontró una amplia homogeneidad genética que sugiere altos niveles de flujo génico entre las poblaciones, por lo que no se considera adecuado definir subespecies, en su lugar, se propone tratar *a M. velifer* como una especie monotípica.

La estructuración observada con base en los genes mitocondriales concatenados y patrones filogenéticos y genealógicos fue moderada, mostrando haplogrupos asociados con ciertas ecorregiones. Asimismo, los resultados sugieren tanto cierta fidelidad de las hembras a sus lugares de nacimiento (filopatría) como dispersión, lo cual mantiene flujo génico y reduce la diferenciación genética a lo largo de la distribución.

Los datos nucleares evidenciaron una ausencia de estructuración genética y una amplia mezcla genética atribuible a un flujo génico constante entre poblaciones. Este patrón fue corroborado con los porcentajes simétricos de asignación obtenidos en los análisis de agrupación bayesiana y en las estimaciones de la tasa de migración que indicaron un número efectivo de migrantes por generación suficientemente alto para permitir el intercambio genético entre poblaciones y evitar la presencia de estructuración genética dentro de la especie.

En conjunto, la información contrastante en donde el ADNmt mostró mayor estructuración con respecto al ADNn, podría apoyar la hipótesis de que las hembras de *M. velifer* exhiben cierto grado de filopatría natal y que los machos son los que permiten el flujo genético. Sin embargo, no se descarta que esta diferenciación puede estar influenciada por otros factores que no son excluyentes entre sí, como lo son las tasas de mutación, los tiempos de coalescencia y los tamaños efectivos, los cuales no son mutuamente excluyentes.

Perspectivas

Se recomienda que estudios futuros sobre *Myotis velifer* expandan el muestreo a lo largo de su distribución en Centroamérica e integren marcadores nucleares codominantes (e.g., microsatélites o SNPs) que permitan detectar procesos evolutivos y eventos de flujo génico reciente, con el fin de evaluar si la falta de estructuración genética persiste entre las poblaciones o, por el contrario, se reflejan patrones de diferenciación genética contemporáneos. Además, es indispensable complementar los análisis genéticos con estudios de morfometría geométrica y de nicho ecológico que en conjunto servirán para ver si existe alguna correlación genética con la ambiental.

Bibliografía

Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control, 19*(6), 716–723.

Allen, J. A. (1890). Notes on collections of mammals made in central and southern Mexico by Dr. Audley C. Buller, with descriptions of new species of the genera *Vespertilio*, *Sciurus,* and *Lepus*. *Bulletin of the American Museum of Natural History, 3*, 175–194.

Allen, J. A. (1896). Descriptions of new North American mammals. *Bulletin of the American Museum of Natural History, 8*, 233–240.

Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology, 215*(3), 403–410.

Ammerman, L. K., Hice, C. L., & Schmidly, D. J. (2012). *Bats of Texas* (Vol. 43 de W. L. Moody Jr. Natural History Series). Texas A&M University Press.

Arnold, B. D. (2007). Population structure and sex-biased dispersal in the forest-dwelling vespertilionid bat, *Myotis septentrionalis*. *The American Midland Naturalist, 157*(2), 374–384.

Avila-Flores, R., & Medellín, R. A. (2004). Ecological, taxonomic, and physiological correlates of cave use by Mexican bats. *Journal of Mammalogy, 85*(4), 675–687.

Baker, A. J., Marshall, H. D. (1997). Mitochondrial Control Region Sequences as Tools for Understanding Evolution. In D. P. Mindell (Ed.), *Avian Molecular Evolution and Systematics* (pp. 51-82). Academic Press.

Baker, R. J., & Bradley, R. D. (2006). Speciation in mammals and the genetic species concept. *Journal of Mammalogy*, *87*(4), 643–662.

Bradley, R. D., & Baker, R. J. (2001). A test of the genetic species concept: Cytochrome-b sequences and mammals. *Journal of Mammalogy, 82*(4), 960–973.

Camargo, M. M., & Nahum, L. A. (2005). Adapting to a changing world: RAG genomics and evolution. *Human Genomics, 2*(2), 132–137.

Castella, V., Ruedi, M., & Excoffier, L. (2001). Contrasted patterns of mitochondrial and nuclear structure among nursery colonies of the bat *Myotis myotis*. *Journal of Evolutionary Biology, 14*(5), 708–720.

Carrión Bonilla, C. A., Ron, S., & Cook, J. A. (2024). Species richness in Myotis (Chiroptera: Vespertilionidae): species delimitation and expanded geographic sampling reveal high Neotropical diversity. *Journal of Mammalogy*, *105*(2), 241-258.

Chen, Z., Hu, J., He, K., Zhang, B., Zhang, Y., Chu, J., Zhao, K., Onditi, K., & Jiang, X. (2023). Molecular and morphological evidence support a new species of Asiatic short-tailed shrew (Eulipotyphla: Soricidae). *Journal of Mammalogy*, *104*(6), 1455-1467.

Chesser, R. K., & Baker, R. J. (1996). Effective sizes and dynamics of uniparentally and diparentally inherited genes. *Genetics, 144*(3), 1225–1235.

Choate, J. R., & Hall, E. R. (1967). Two New Species of Bats, Genus Myotis, from a Pleistocene Deposit in Texas. *The American Midland Naturalist, 78*(2), 531–534.

Clare, E. L., Lim, B. K., Engstrom, M. D., Eger, J. L., & Hebert, P. D. (2007). DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Notes, 7*(2), 184–190.

Clare, E. L., Lim, B. K., Fenton, M. B., & Hebert, P. D. (2011). Neotropical bats: Estimating species diversity with DNA barcodes. *PloS One, 6*(7), e22648.

Commission for Environmental Cooperation (CEC). (2021). Terrestrial ecoregions – Level I ecoregions. http://www.cec.org/north-american-environmental-atlas/terrestrial-ecoregions-level-i/. Accessed October 8, 2024.

Çoraman, E., Dundarova, H., Dietz, C., & Mayer, F. (2020). Patterns of mtDNA introgression suggest population replacement in Palaearctic whiskered bat species. *Royal Society Open Science, 7*(6), 191805.

Dalquest, W. W., & Stangl Jr, F. B. (1984). The taxonomic status of *Myotis magnamolaris*, Choate and Hall. *Journal of Mammalogy, 65*(3), 485–486.

Dixon, M. D. (2011). Population genetic structure and natal philopatry in the widespread North American bat *Myotis lucifugus*. *Journal of Mammalogy, 92*(6), 1343–1351.

Doebeli, M., & Dieckmann, U. (2003). Speciation along environmental gradients. *Nature, 421*, 259–264.

Dorsey, S. L. (1977). A reevaluation of two new species of fossil bats from Inner Space Caverns. *Texas Journal of Science, 28*(1–4), 103–108.

Dray, S., & Dufour, A. B. (2007). The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software, 22(4), 1–20.*

Dunnigan, P. B., & Fitch, J. H. (1967). Seasonal movements and population fluctuations of the cave bat (*Myotis velifer*) in south-central Kansas. *Transactions of the Kansas Academy of Science (1903-), 70*(2), 210–218.

Earl, D. A., & VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources, 4*, 359–361.

Eckert, A. J., & Carstens, B. C. (2008). Does gene flow destroy phylogenetic signal? The performance of three methods for estimating species phylogenies in the presence of gene flow. *Molecular Phylogenetics and Evolution, 49*(3), 832–842.

Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software *STRUCTURE*: A simulation study. *Molecular Ecology, 14*, 2611–2620.

Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite v. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources, 10*, 564–567.

Farfan, E. (2019). *Evaluación del estado de conservación de las poblaciones de murciélagos insectívoros de 4 refugios cavernícolas de la Reserva de la Biósfera Sierra de Huautla, México* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México].

Fitch, J. H., Shump, K. A., & Shump, A. U. (1981). *Myotis velifer*. *Mammalian Species, 149*, 1–5.

Fonseca, B. D. S., Soto-Centeno, J. A., Simmons, N. B., Ditchfield, A. D., & Leite, Y. L. (2024). A species complex in the iconic frog-eating bat *Trachops cirrhosus* (Chiroptera, Phyllostomidae) with high variation in the heart of the neotropics. *American Museum Novitates, 2024*(4021), 1–27.

Furman, A., Çoraman, E., Çelik, Y. E., Postawa, T., Bachanek, J., & Ruedi, M. (2014). Cytonuclear discordance and the species status of *Myotis myotis* and *Myotis blythii* (Chiroptera). *Zoologica Scripta, 43*(6), 549–561. https://doi.org/10.1111/zsc.12084

Guevara-Chumacero, L. M., López-Wilchis, R., Pedroche, F. F., Juste, J., Ibáñez, C., & Barriga-Sosa, I. D. (2010). Molecular phylogeography of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico. *Journal of Mammalogy, 91*(1), 220–232.

Hall, E. R., & Dalquest, W. W. (1963). *The mammals of Veracruz*. University of Kansas Press.

Hall, E. R. (1982). *The mammals of North America* (2nd ed.). John Wiley & Sons.

Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series, 41*, 95–98.

Hayward, B. J. (1970). The natural history of the cave bat, *Myotis velifer*. *Western New Mexico Research in Science, 1*, 1–74.

Hernández-Canchola, G., & León-Paniagua, L. (2017). Genetic and ecological processes promoting early diversification in the lowland Mesoamerican bat *Sturnira parvidens* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution, 114*, 334–345.

Ibáñez, C., García-Mudarra, J. L., Ruedi, M., Stadelmann, B., & Juste, J. (2006). The Iberian contribution to cryptic diversity in European bats. *Acta Chiropterologica, 8*(2), 277–297.

Ivanova, N. V., Zemlak, T. S., Hanner, R. H., & Hebert, P. D. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes, 7*(4), 544-548.

Johnson, L. N., McLeod, B. A., Burns, L. E., Arseneault, K., Frasier, T. R., & Broders, H. G. (2015). Population genetic structure within and among seasonal site types in the little brown bat (*Myotis lucifugus*) and the northern long-eared bat (*M. septentrionalis*). *PLoS One, 10*(5), e0126309

Kelley, J., Walter, L., & Trowsdale, J. (2005). Comparative genomics of major histocompatibility complexes. *Immunogenetics, 56*, 683-695.

Kerth, G., Mayer, F., & Petit, E. (2002). Extreme sex- biased dispersal in the communally breeding, nonmigratory *Myotis bechsteinii*. *Molecular Ecology, 11*(8), 1491-1498.

Kerth, G., & Petit, E. (2005). Colonization and dispersal in a social species, the *Myotis bechsteinii*. *Molecular Ecology, 14*(13), 3943-3950.

Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution, 16*, 111-120.

Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & J. L. (2015). Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources, 15*, 1179–1191.

Korstian, J. M., Hale, A. M., & Williams, D. A. (2015). Genetic diversity, historic population size, and population structure in two North American tree bats. *Journal of Mammalogy, 96*(5), 972–980.

Korstian, J. M., Stevens, R. D., Lee Jr, T. E., Baker, R. J., & Ray, D. A. (2024). Unraveling the *Myotis* morass: ultraconserved-element analysis reveals introgression, cryptic diversity, and taxonomic trouble. *Journal of Mammalogy, 105*(2), 259-276.

Kunz, T. H. (1974). Feeding ecology of a temperate insectivorous bat (*Myotis velifer*). *Ecology, 55*(4), 693-711.

Lack, J. B., Roehrs, Z. P., Stanley Jr, C. E., Ruedi, M., & Van Den Bussche, R. A. (2010). Molecular phylogenetics of *Myotis* indicate familial-level divergence for the genus *Cistugo* (Chiroptera). *Journal of Mammalogy, 91*(5), 976-992.

Lausen, C. L., Delisle, I., Barclay, R. M. R., & Strobeck, C. (2008). Beyond mtDNA: Nuclear gene flow suggests taxonomic oversplitting in the little brown bat (*Myotis lucifugus*). *Canadian Journal of Zoology*, *86*(7), 700–713

Leaché, A. D., Harris, R. B., Rannala, B., & Yang, Z. (2014). The influence of gene flow on species tree estimation: a simulation study. *Systematic Biology*, *63*(1), 17–30.

Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, *6*(9), 1110–1116.

Lim, B. K. (2017). Review of genetic diversification of bats in the Caribbean and biogeographic relationships to Neotropical species based on DNA barcodes. *Genome*, *60*(1), 65–73.

Liu, T., Jia, J., Liu, L., Wang, J., Chen, W., Miao, G., ... & Feng, J. (2023). New insights into the taxonomy of *Myotis* bats in China based on morphology and multilocus phylogeny. *Diversity*, *15*(7), 805.

López-Wilchis, R., Méndez-Rodríguez, A., Juste, J., Serrato-Díaz, A., Rodríguez-Gómez, F., & Guevara-Chumacero, L. M. (2021). Genetic consequences of forest fragmentation in a widespread forest bat (*Natalus mexicanus*, Chiroptera: Natalidae). *Diversity*, *13*(4), 140.

López-Cuamatzi, I. L., Ortega, J., Ospina-Garcés, S. M., Zúñiga, G., & MacSwiney G, M. C. (2024). Molecular and morphological data suggest a new species of big-eared bat (Vespertilionidae: *Corynorhinus*) endemic to northeastern Mexico. *PLOS ONE*, *19*(2), e0296275.

López-González, C., García-Mendoza, D. F., Fernández, J. A., & Correa-Ramírez, M. M. (2024). Niche conservatism, clinal variation, and the evolutionary history of the *Peromyscus difficilis* species group (Rodentia: Cricetidae): Untangling the effects of history and ecology. *Biological Journal of the Linnean Society*, blae043.

Lu, G., Lin, A., Luo, J., Blondel, D. V., Meiklejohn, K. A., Sun, K., & Feng, J. (2013). Phylogeography of the Rickett's big-footed bat, *Myotis pilosus* (Chiroptera: Vespertilionidae): A novel pattern of genetic structure of bats in China. *BMC Evolutionary Biology, 13*, 1-11.

Mammal Diversity Database. (2023). Mammal Diversity Database (Version 1.12.1) [Data set]. Zenodo. https://doi.org/10.5281/zenodo.10595931

Marchesin, S., Beguelini, M. R., Faria, K. C., Moreira, P., & Morielle-Versute, E. (2008). Assessing genetic variability in bat species of Emballonuridae, Phyllostomidae, Vespertilionidae, and Molossidae families (Chiroptera) by RFLP-PCR. *Genetics and Molecular Research*, *7*(4), 1164–1178.

Martins, F. M., Templeton, A. R., Pavan, A. C., Kohlbach, B. C., & Morgante, J. S. (2009). Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance, and incongruence between nuclear and mtDNA markers. *BMC Evolutionary Biology, 9*, 1–13.

Mayer, F., & Brunner, A. (2007). Non-neutral evolution of the major histocompatibility complex class II gene DRB1 in the sac-winged bat *Saccopteryx bilineata*. *Heredity, 99*(3), 257–264.

Medellín, R., Arita, H., & Sánchez, O. (2008). *Identificación de los murciélagos de México. Clave de campo* (2nd ed.). Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Medina-Bello, K. I., Orozco-Lugo, C. L., & Ayala-Berdon, J. (2023). Differences in thermal energetics of the cave myotis (*Myotis velifer*) from a cool and a warm environment of central Mexico. *Canadian Journal of Zoology, 101*(12), 1115–1123.

Miller, G. S., & Allen, G. M. (1928). *The American bats of the genera Myotis and Pizonyx*. *Bulletin of the United States National Museum, 144*, 1–218.

Morales, A., Villalobos, F., Velazco, P. M., Simmons, N. B., & Piñero, D. (2016). Environmental niche drives genetic and morphometric structure in a widespread bat. *Journal of Biogeography, 43*(5), 1057–1068.

Morales, A. E., De-la-Mora, M., & Piñero, D. (2018). Spatial and environmental factors predict skull variation and genetic structure in the cosmopolitan bat *Tadarida brasiliensis*. *Journal of Biogeography, 45*(7), 1529-1540.

Moussy, C., Hosken, D. J., Mathews, F., Smith, G. C., Aegerter, J. N., & Bearhop, S. (2013). Migration and dispersal patterns of bats and their influence on genetic structure. *Mammal Review, 43*(3), 183-195.

Nájera-Cortazar, L. A., Álvarez-Castañeda, S. T., & De Luna, E. (2015). An analysis of *Myotis peninsularis* (Vespertilionidae) blending morphometric and genetic datasets. *Acta Chiropterologica, 17*, 37-47.

Novaes, R. L. M., Cláudio, V. C., Wilson, D. E., Weber, M. M., Weksler, M., & Moratelli, R. (2024). Integrative taxonomy and evolutionary history reveal cryptic diversity in *Myotis riparius* (Chiroptera: Vespertilionidae). *Biological Journal of the Linnean Society, 142*(1), 91–112.

Parlos, J. A. (2008). Population genetic structure of a cave-dwelling bat, *Myotis velifer* (Unpublished thesis). Texas State University-San Marcos, San Marcos, Texas.

Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution, 27*, 1253-1256.

Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics, 155*, 945–959.

Ramírez-Pulido, J., González-Ruiz, N., Gardner, A. L., & Arroyo-Cabrales, J. (2014). List of recent land mammals from Mexico, 2014. *Special Publications of the Museum of Texas Tech University, 63*, 1–74.

Ramírez-Chaves, H. E., Alarcón-Cifuentes, M., Noguera-Urbano, E. A., Pérez, W. A., Ossa-López, P. A., Rivera-Páez, F. A., & Morales-Martínez, D. M. (2023). Systematics, morphometrics, and distribution of *Eptesicus fuscus miradorensis*, with notes on baculum morphology and natural history. *Therya, 14*(2), 299–311.

Real-Monroy, M. D., Martínez-Méndez, N., & Ortega, J. (2014). MHC-DRB exon 2 diversity of the Jamaican fruit-eating bat (*Artibeus jamaicensis*) from Mexico. *Acta Chiropterologica, 16*(2), 301–314.

Richman, A. D., Herrera, M. L. G., Ortega- García, S., Flores- Martínez, J. J., Arroyo- Cabrales, J., & Morales- Malacara, J. B. (2010). Class II DRB polymorphism and sequence diversity in two vesper bats in the genus *Myotis*. *International Journal of Immunogenetics, 37*(5), 401-405.

Rivers, N. M., Butlin, R. K., & Altringham, J. D. (2005). Genetic population structure of Natterer's bats explained by mating at swarming sites and philopatry. *Molecular Ecology, 14*(14), 4299-4312.

Rodriguez, R. M., & Ammerman, L. K. (2004). Mitochondrial DNA divergence does not reflect morphological difference between *Myotis californicus* and *Myotis ciliolabrum*. *Journal of Mammalogy, 85*(5), 842-851.

Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology, 61,* 539–542.

Ruedi, M., & Castella, V. (2003). Genetic consequences of the ice ages on nurseries of the bat *Myotis myotis*: A mitochondrial and nuclear survey. *Molecular Ecology, 12*(6), 1527–1540.

Ruedi, M., Walter, S., Fischer, M. C., Scaravelli, D., Excoffier, L., & Heckel, G. (2008). Italy as a major Ice Age refuge area for the bat *Myotis myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Europe. *Molecular Ecology, 17*(7), 1801–1814.

Simmons, N. B. (2005). Order Chiroptera. In D. E. Wilson & D. M. Reeder (Eds.), *Mammal species of the world* (3rd ed., pp. 312–529). The Johns Hopkins University Press.

Salicini, I., Ibáñez, C., & Juste, J. (2013). Deep differentiation between and within Mediterranean glacial refugia in a flying mammal, the *Myotis nattereri* bat complex. *Journal of Biogeography, 40*(6), 1182–1193.

Salmier, A., de Thoisy, B., Crouau-Roy, B., Lacoste, V., & Lavergne, A. (2016). Spatial pattern of genetic diversity and selection in the MHC class II DRB of three Neotropical bat species. *BMC Evolutionary Biology, 16*, 1–19.

Schad, J., Voigt, C. C., Greiner, S., Dechmann, D. K., & Sommer, S. (2012). Independent evolution of functional MHC class II DRB genes in New World bat species. *Immunogenetics, 64*, 535–547.

Solari, S. (2019). *Myotis velifer*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T14208A22063586.https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20191.RLTS.T14208A22063586.en. Accessed on January 30, 2022.

Spurgin, L. G., & Richardson, D. S. (2010). How pathogens drive genetic diversity: MHC, mechanisms and misunderstandings. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1684), 979–988.

Stadelmann, B., Herrera, L. G., Arroyo-Cabrales, J., Flores-Martinez, J. J., May, B. P., & Ruedi, M. (2004). Molecular systematics of the fishing bat *Myotis* (*Pizonyx*) *vivesi*. *Journal of Mammalogy*, *85*(1), 133-139.

Stadelmann, B., Lin, L. K., Kunz, T. H., & Ruedi, M. (2007). Molecular phylogeny of New World Myotis (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, *43*(1), 32-48.

Slatkin, M. (1985). Gene Flow in Natural Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *16*, 393–430.

Stevens, R. D., Johnson, M. E., & McCulloch, E. S. (2016). Geographic variation of wing morphology of great fruit-eating bats (*Artibeus lituratus*): Environmental, genetic, and spatial correlates of phenotypic differences. *Biological Journal of the Linnean Society*, *118*(4), 734–744.

Stevens, R. D., Garcia, C. J., Guest, E. E., Hargrove, A., Krishnamoorthy, M. A., Rickert, C. F., ... & Robertson, S. J. (2021). Seasonal use of bridges as day-roosts by bats in the Trans-Pecos of Texas. *Therya*, *12*(2), 207-212.

Stevens, R. D. (2023). Wither the subspecies? An ecological perspective on taxonomic, environmental and sexual determinants of phenotypic variation in big-eared woolly bats, *Chrotopterus auritus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, *139*(3), 203-213.

Storz, J. F. (2002). Contrasting patterns of divergence in quantitative traits and neutral DNA markers: Analysis of clinal variation. *Molecular Ecology, 11*(12), 2537–2551.

Straney, D. O., Smith, M. H., Baker, R. J., & Greenbaum, I. F. (1976). Biochemical variation and genic similarity of *Myotis velifer* and *Macrotus californicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, *54*(2), 243-248.

Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution, 10*(3), 512-526.

Trejo-Salazar, R. E., Castellanos-Morales, G., Hernández-Rosales, D., Gámez, N., Gasca-Pineda, J., Garza, M. R. M., ... & Eguiarte, L. E. (2021). Discordance in maternal and paternal genetic markers in lesser long-nosed bat *Leptonycteris yerbabuenae*, a migratory bat: Recent expansion to the North and male philopatry. *PeerJ, 9*, e12168.

Twente, J. W. (1955). Some aspects of habitat selection and other behavior of cavern-dwelling bats. *Ecology, 36*(4), 706-732.

Uvizl, M., & Benda, P. (2021). Intraspecific variation of *Myotis emarginatus* (Chiroptera: Vespertilionidae) inferred from mitochondrial and nuclear genetic markers. *Acta Chiropterologica, 23*(2), 285-300.

Vaughan, T. A. (1954). A new subspecies of bat (*Myotis velifer*) from southeastern California and Arizona. *University of Kansas Publications, Museum of Natural History, 7*, 507-512.

Villa, B. (1966). *Los murciélagos de México*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología.

Vonhof, M. J., Russell, A. L., & Miller-Butterworth, C. M. (2015). Range-wide genetic analysis of little brown bat (*Myotis lucifugus*) populations: estimating the risk of spread of white-nose syndrome. *PLoS One, 10(7)*, e0128713.

Vonhof, M. J., Amelon, S. K., Currie, R. R., & McCracken, G. F. (2016). Genetic structure of winter populations of the endangered Indiana bat (*Myotis sodalis*) prior to the white-nose syndrome epidemic: Implications for the risk of disease spread. *Conservation Genetics, 17*, 1025–1040.

Weyandt, S. E., & Van Den Bussche, R. A. (2007). Phylogeographic structuring and volant mammals: The case of the pallid bat (*Antrozous pallidus*). *Journal of Biogeography, 34*(7), 1233–1245.

Whitfield, A. J., Barrett, P. H. R., van Bockxmeer, F. M., & Burnett, J. R. (2004). Lipid disorders and mutations in the APOB gene. *Clinical Chemistry, 50*(10), 1725–1732.

Wilson, D. E., & Mittermeier, R. A. (Eds.). (2019). *Handbook of the Mammals of the World: Volume 9—Bats. Lynx Edicions.*

Wright, P. G., Hamilton, P. B., Schofield, H., Glover, A., Damant, C., Davidson-Watts, I., & Mathews, F. (2018). Genetic structure and diversity of a rare woodland bat, *Myotis bechsteinii*: Comparison of continental Europe and Britain. *Conservation Genetics*, *19*(4), 777–787.

Worthington Wilmer, J., & Barratt, E. (1996). A non-lethal method of tissue sampling for genetic studies of chiropterans. *Bat Research News*, *37*, 1–3.

Yi, X., Donner, D. M., Marquardt, P. E., Palmer, J. M., Jusino, M. A., Frair, J., Lindner, D. L., & Latch, E. K. (2020). Major histocompatibility complex variation is similar in little brown bats before and after white-nose syndrome outbreak. *Ecology and Evolution*, *10*(18), 10031–10043.

You, Y., Sun, K., Xu, L., *et al*. (2010). Pleistocene glacial cycle effects on the phylogeography of the Chinese endemic bat species, *Myotis davidii*. *BMC Evolutionary Biology, 10*, 208.

Zárate-Martínez, D. G., López-Wilchis, R., Ruiz-Ortíz, J. D., Barriga-Sosa, I. D., Díaz, A. S., Ibáñez, C., ... & Guevara-Chumacero, L. M. (2018). Intraspecific evolutionary relationships and diversification patterns of the Wagner's mustached bat, *Pteronotus personatus* (Chiroptera: Mormoopidae). *Acta Chiropterologica, 20*(1), 51–58.

Anexo 1

Tabla. Localidades de las muestras de *Myotis velifer* utilizadas en este estudio.

Subespecies	Pais	Estado	Localidad/ Condado	Latitud	Longitud	Colección	Tamaño de muestra
M. v. peninsularis	MX	Baja California Sur	Santa Rita	23,4721	-109,808	1*	1
M. v. velifer	MX	Chihuahua	Bocoyna	27,7198	-107,444	2	8
	MX	Chihuahua	Guadalupe y Calvo	25,9721	-107,046	2	4
	MX	Ciudad de México	Mixquic	19,2261	-98,9661	1*	1
	MX	Durango	Mezquital	23,6795	-104,297	2	8
	MX	Durango	Ocampo	26,5010	-105,639	2	10
	MX	Estado de México	Cascadas	19,7614	-99,4900	1	7
	MX	Estado de México	Peña Blanca	19,1294	-100,101	1	7
	MX	Hidalgo	Cardonal	20,6799	-99,1342	2	1
	MX	Morelos	Tlaltizapan	18,7501	-99,1898	2	5
	MX	Oaxaca	San Sebastián	26,9648	-109,265	1*	10
	MX	Puebla	Nauzontla	19,9486	-97,6063	1*	10
	MX	Sinaloa	Mocorito	25,0236	-107,840	2	4
	MX	Sonora	Cajeme	27,731	-109,875	2	1
	MX	Sonora	Navojoa	26,9648	-109,265	2	3
	MX	Tlaxcala	Tlaxco	19,6205	-98,0338	1*	10
	MX	Veracruz	Coatepec	19,4903	-96,9464	2	1
	MX	Zacatecas	Tabasco	21,8253	-102,928	2	3
M. v. incautus	MX	Chihuahua	Casas Grandes	30,325	-108,095	2	9
	MX	Chihuahua	San Francisco de Conchos	27,5097	-105,319	2	8
	MX	Coahuila	Sierra Mojada	27,0213	-103,739	2	1
	MX	Durango	Guanaceví	25,9305	-105,955	2	5
	MX	Durango	Nazas	25,262	-104,050	2	8
	MX	Durango	San Bernando	26,3916	-105,727	2	10
	MX	Tamaulipas	Jiménez	19,9486	-97,60633	1*	10
	USA	Nuevo México	Lincoln			3	10
	USA	Nuevo México	Eddy			4	10
	USA	Texas	Brewster			5	5

	USA	Texas	Presidio	5	2
	USA	Texas	Val Verde	5	7
	USA	Texas	Webb	5	8
	USA	Texas	Hidalgo	5	4
	USA	Texas	Hays	6	10
	USA	Texas	Cottle	7	10
	USA	Oklahoma	Woodward	8	5
M. v. grandis	USA	Kansas	Barber	9	5
	USA	Kansas	Ford	9	2
	USA	Arizona	Cochise	10, 11	8

1. Laboratorio de Biología y Ecología de Mamíferos de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I). *Estas muestras fueron colectadas siguiendo el método de Worthington y Barratt (1996).
2. Colección Regional Durango- Mammalia (CRD) del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), Unidad Durango (CIDIIR)
3. Bureau of Land Management- New Mexico (BLM)
4. Carlsbad Caverns National ParkCarlsbad
5. Angelo State Natural History Collection (ASNHC)
6. Texas Parks and Wildlife Department
7. Bat Conservation International
8. University of Oklahoma
9. Kansas Parks and Wildlife Department
10. Department of Defense- Fort Huachuca
11. University of Arizona

Anexo 2

Protocolo de extracción de ADN animal, CTAB 2%-SDS 10%

Día 1

1. Enjuagar las muestras de tejido utilizando micro tubos de 500 µl y agua inyectable, se recomienda repetir al menos una vez para eliminar tanto etanol como sea posible y utilizar un tubo para cada muestra.
2. Colocar cada muestra de tejido en micro tubos de 1.5 µl debidamente rotulados, la muestra deberá quedar cerca de la boca del tubo para facilitar el secado. Dejar reposando por 5 minutos o hasta que se haya evaporado la mayor cantidad de agua posible.
3. Una vez seca, la muestra deberá ser pesada en una balanza analítica, anotar la masa indicada por la balanza en la bitácora. Es importante manipular la muestra de tejido con cuidado para evitar contaminación. En caso de que la muestra de tejido sea muy pequeña o frágil omita este paso.
   Colocar la muestra de tejido en el fondo de su respectivo tubo y añadir 900 µl de CTAB 2% y 65 µl de SDS 10%, agitar para homogeneizar. Posteriormente, añadir 20 µl de RNAsa y colocar los tubos en incubadora (37-60° C/agitación moderada/30 min).
4. Agregar 20 µl de proteinasa K y dejar incubando (50-56°C/Agitación moderada) durante el transcurso de la noche.

Día 2

1. Retirar los tubos de la incubadora y esperar a que se enfríen a temperatura ambiente, posteriormente añadir 500 µl de solución cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) a cada tubo. Centrifugar los tubos a 10,000 rpm por 10 minutos. *Extremar precauciones al manipular cloroformo, evitar respirar los vapores y tener contacto directo con el líquido.
2. Retirar los tubos de la centrífuga y recuperar el sobrenadante, hecho esto, trasladar el volumen recuperado en tubos debidamente marcados. Agregar 2/3 del volumen recuperado de isopropanol frío y 325 µl de acetato de sodio 3M. Homogeneizar invirtiendo cuidadosamente los tubos y almacenarlos a -20°C por 24 horas.

Día 3

1. Centrifugar los tubos a 12,000 rpm por 10 minutos. Retirar los tubos cuidadosamente y recuperar el tampón o pellet de ADN vaciando cuidadosamente el contenido líquido de los tubos (podría ser no visible, pero se deduce que se encuentra en el fondo).
2. Resuspender el pellet de ADN añadiendo 1 ml de etanol al 70%, posteriormente, centrifugar los tubos a 14,000 rpm por 10 minutos.
3. Retirar cuidadosamente los tubos de la centrífuga y eliminar el etanol, inclinando los tubos y vaciando su contenido líquido cuidadosamente para evitar perder el pellet de ADN. (Este paso puede repetirse)
4. Secar el pellet de ADN colocando los tubos en la centrífuga de vacío con las tapas abiertas, retirar los tubos hasta que se haya eliminado cualquier rastro de etanol.
5. Resuspender ADN agregando 20-50 µl de agua destilada, agitar suavemente para favorecer la dilución, también se recomienda calentar los tubos a temperatura moderada (30-40°C).

Anexo 3

Tabla. Tabla con los grupos genéticos K=2 con sus respectivos porcentajes de asignación.

N. individuos	Subespecie	Localidad	Grupo genetico 1	N. individuos	Subespecie	Localidad	Grupo genetico 2
1	*M. v. velifer*	Tlax2a	0.5900	1	*M. v. velifer*	Tlax1a	0.5480
2	*M. v. velifer*	Tlax3a	0.5444	2	*M. v. velifer*	Tlax6a	0.6154
3	*M. v. velifer*	Tlax4a	0.6370	3	*M. v. velifer*	Tlax10a	0.5296
4	*M. v. velifer*	Tlax5a	0.5594	4	*M. v. velifer*	Casc4a	0.6272
5	*M. v. velifer*	Tlax7a	0.5602	5	*M. v. velifer*	Casc5a	0.6206
6	*M. v. velifer*	Tlax8a	0.5592	6	*M. v. velifer*	Casc9a	0.5470
7	*M. v. velifer*	Tlax9a	0.6678	7	*M. v. velifer*	Gpe2a	0.6248
8	*M. v. velifer*	Casc1a	0.5128	8	*M. v. velifer*	Mcto4a	0.5478
9	*M. v. velifer*	Casc8a	0.6664	9	*M. v. velifer*	Mzt2a	0.5222
10	*M. v. incautus*	Gcvi1a	0.5898	10	*M. v. velifer*	Mzt4a	0.5440
11	*M. v. incautus*	Gcvi2a	0.5898	11	*M. v. velifer*	Mzt6a	0.5348
12	*M. v. incautus*	Gcvi3a	0.5812	12	*M. v. velifer*	Mzt7a	0.5226
13	*M. v. incautus*	Gcvi4a	0.5780	13	*M. v. velifer*	Mzt8a	0.6244
14	*M. v. incautus*	Gcvi5a	0.5788	14	*M. v. velifer*	Chzt1a	0.5398
15	*M. v. velifer*	Gpe1a	0.6142	15	*M. v. velifer*	Chzt2a	0.5196
16	*M. v. velifer*	Gpe3a	0.6136	16	*M. v. velifer*	Chzt4a	0.5104
17	*M. v. velifer*	Mcto1a	0.6368	17	*M. v. velifer*	Chzt7a	0.5646
18	*M. v. velifer*	Mcto2a	0.4760	18	*M. v. velifer*	Chzt9a	0.5348
19	*M. v. velifer*	Mcto3a	0.5788	19	*M. v. incautus*	Jmz2a	0.6300
20	*M. v. velifer*	Mzt1a	0.5698	20	*M. v. incautus*	Jmz5a	0.6010
21	*M. v. velifer*	Mzt3a	0.5894	21	*M. v. incautus*	Jmz8a	0.5462
22	*M. v. velifer*	Mzt5a	0.5546	22	*M. v. incautus*	Jmz9a	0.6084
23	*M. v. velifer*	Chzt3a	0.5756	23	*M. v. incautus*	Jmz10a	0.6218
24	*M. v. velifer*	Chzt5a	0.6078	24	*M. v. velifer*	Grs2a	0.5668
25	*M. v. velifer*	Chzt6a	0.5784	25	*M. v. velifer*	Grs4a	0.5376
26	*M. v. velifer*	Chzt8a	0.5130	26	*M. v. velifer*	Grs7a	0.6858
27	*M. v. velifer*	Chzt10a	0.6646	27	*M. v. velifer*	Grs9a	0.6002
28	*M. v. incautus*	Jmz3a	0.5120	28	*M. v. velifer*	Njoa1a	0.6166
29	*M. v. incautus*	Jmz4a	0.5076	29	*M. v. velifer*	Njoa3a	0.5410
30	*M. v. incautus*	Jmz6a	0.6030	30	*M. v. velifer*	Caj1a	0.6146
31	*M. v. velifer*	Grs1a	0.5132	31	*M. v. velifer*	Boc1a	0.5442
32	*M. v. velifer*	Grs3a	0.5992	32	*M. v. velifer*	Boc2a	0.5990
33	*M. v. velifer*	Grs5a	0.5634	33	*M. v. velifer*	Boc3a	0.6106
34	*M. v. velifer*	Grs6a	0.5518	34	*M. v. velifer*	Boc5a	0.5112
35	*M. v. velifer*	Grs8a	0.5130	35	*M. v. velifer*	Boc6a	0.6768
36	*M. v. velifer*	Grs10a	0.5896	36	*M. v. incautus*	CGr1a	0.5408
37	*M. v. velifer*	Njoa2a	0.5720	37	*M. v. incautus*	CGr2a	0.4516
38	*M. v. velifer*	Boc4a	0.6098	38	*M. v. incautus*	CGr6a	0.5016
39	*M. v. velifer*	Boc7a	0.6564	39	*M. v. incautus*	CGr8a	0.5762
40	*M. v. velifer*	Boc8a	0.6662	40	*M. v. incautus*	CGr9a	0.5974
41	*M. v. incautus*	CGr3a	0.6010	41	*M. v. incautus*	SFch3a	0.5156

42	*M. v. incautus*	CGr4a	0.5896	42	*M. v. incautus*	SFch6a	0.5410
43	*M. v. incautus*	CGr5a	0.5782	43	*M. v. incautus*	SFch8a	0.6106
44	*M. v. incautus*	CGr7a	0.5712	44	*M. v. incautus*	SBdo1a	0.5378
45	*M. v. incautus*	Coah1a	0.5814	45	*M. v. incautus*	SBdo3a	0.5156
46	*M. v. incautus*	SFch1a	0.6122	46	*M. v. incautus*	SBdo6a	0.6226
47	*M. v. incautus*	SFch2a	0.6458	47	*M. v. incautus*	SBdo7a	0.5968
48	*M. v. incautus*	SFch4a	0.5024	48	*M. v. incautus*	SBdo8a	0.6318
49	*M. v. incautus*	SFch5a	0.5204	49	*M. v. incautus*	SBdo9a	0.5352
50	*M. v. incautus*	SFch7a	0.6108	50	*M. v. incautus*	SBdo10a	0.5216
51	*M. v. incautus*	SBdo2a	0.5804	51	*M. v. velifer*	Zta3a	0.5004
52	*M. v. incautus*	SBdo4a	0.5780	52	*M. v. velifer*	Zta5a	0.5384
53	*M. v. incautus*	SBdo5a	0.6582	53	*M. v. incautus*	UGda1a	0.5624
54	*M. v. velifer*	Zta1a	0.5032	54	*M. v. incautus*	UGda3a	0.5280
55	*M. v. velifer*	Zta2a	0.5792	55	*M. v. incautus*	UGda4a	0.5618
56	*M. v. velifer*	Zta4a	0.5844	56	*M. v. incautus*	UGda6a	0.5230
57	*M. v. incautus*	UGda2a	0.5122	57	*M. v. velifer*	Tab1a	0.6248
58	*M. v. incautus*	UGda5a	0.5132	58	*M. v. velifer*	Tab2a	0.6236
59	*M. v. incautus*	UGda7a	0.5132	59	*M. v. velifer*	Pbca2a	0.6158
60	*M. v. incautus*	UGda9a	0.5124	60	*M. v. velifer*	Pbca3a	0.5156
61	*M. v. incautus*	UGda10a	0.5136	61	*M. v. velifer*	Pbca4a	0.6140
62	*M. v. velifer*	Cdnal1a	0.5130	62	*M. v. velifer*	Pbca6a	0.6044
63	*M. v. velifer*	Cpec1a	0.5136	63	*M. v. velifer*	Pbca7a	0.6144
64	*M. v. velifer*	Tab3a	0.5126	64	*M.v.peninsularis*	SRta1a	0.6242
65	*M. v. velifer*	Pbca1a	0.5130	65	*M. v. velifer*	Mxq1a	0.6156
66	*M. v. velifer*	Pbca5a	0.5870	66	*M. v. incautus*	Naz4a	0.5772
67	*M. v. incautus*	Naz1a	0.5996	67	*M. v. incautus*	Naz6a	0.6002
68	*M. v. incautus*	Naz2a	0.6156	68	*M. v. incautus*	Naz7a	0.5776
69	*M. v. incautus*	Naz3a	0.5016	69	*M. v. incautus*	Hays1a	0.5316
70	*M. v. incautus*	Naz5a	0.6160	70	*M. v. incautus*	Hays3a	0.5126
71	*M. v. incautus*	Naz8a	0.5832	71	*M. v. incautus*	Hays4a	0.5312
72	*M. v. incautus*	Hays2a	0.5892	72	*M. v. incautus*	Hays9a	0.5528
73	*M. v. incautus*	Hays5a	0.6560	73	*M. v. incautus*	Eddy1a	0.5536
74	*M. v. incautus*	Hays6a	0.6366	74	*M. v. incautus*	Eddy7a	0.6464
75	*M. v. incautus*	Hays7a	0.5892	75	*M. v. incautus*	Brew3a	0.5466
76	*M. v. incautus*	Hays8a	0.5800	76	*M. v. incautus*	Verd1a	0.5800
77	*M. v. incautus*	Hays10a	0.5618	77	*M. v. incautus*	Verd4a	0.5246
78	*M. v. incautus*	Eddy2a	0.5802	78	*M. v. incautus*	Webb4a	0.5984
79	*M. v. incautus*	Eddy3a	0.5438	79	*M. v. incautus*	Hlgo1a	0.5288
80	*M. v. incautus*	Eddy4a	0.6668	80	*M. v. incautus*	Hlgo2a	0.6192
81	*M. v. incautus*	Eddy5a	0.5572	81	*M. v. incautus*	Hlgo3a	0.5462
82	*M. v. incautus*	Eddy6a	0.5836	82	*M. v. incautus*	Hlgo4a	0.5838
83	*M. v. incautus*	Eddy8a	0.6548	83	*M. v. incautus*	Linc4a	0.5240
84	*M. v. incautus*	Eddy9a	0.5922	84	*M. v. incautus*	Linc6a	0.5378
85	*M. v. incautus*	Eddy10a	0.5764	85	*M. v. incautus*	Linc7a	0.5562
86	*M. v. incautus*	Brew1a	0.6052	86	*M. v. incautus*	Linc9a	0.5120
87	*M. v. incautus*	Brew2a	0.5782	87	*M. v. grandis*	Cott1a	0.5020
88	*M. v. incautus*	Brew4a	0.6562	88	*M. v. grandis*	Cott2a	0.5150
89	*M. v. incautus*	Brew5a	0.5910	89	*M. v. grandis*	Cott6a	0.5546

90	*M. v. incautus*	Verd2a	0.5514	90	*M. v. grandis*	Cott8a	0.5144
91	*M. v. incautus*	Verd3a	0.5642	91	*M. v. grandis*	Cott9a	0.6310
92	*M. v. incautus*	Verd6a	0.6482	92	*M. v. grandis*	Wood1a	0.6858
93	*M. v. incautus*	Verd7a	0.6546	93	*M. v. grandis*	Wood2a	0.5536
94	*M. v. incautus*	Webb1a	0.5048	94	*M. v. grandis*	Wood5a	0.6150
95	*M. v. incautus*	Webb3a	0.5996	95	*M. v. grandis*	Barb3a	0.5488
96	*M. v. incautus*	Webb5a	0.6154	96	*M. v. grandis*	Barb4a	0.5220
97	*M. v. incautus*	Webb6a	0.6596	97	*M. v. grandis*	Barb5a	0.6976
98	*M. v. incautus*	Webb7a	0.5784	98	*M. v. brevis*	Coch4a	0.6258
99	*M. v. incautus*	Webb8a	0.5830				
100	*M. v. incautus*	Linc1a	0.5668				
101	*M. v. incautus*	Linc2a	0.5572				
102	*M. v. incautus*	Linc3a	0.6022				
103	*M. v. incautus*	Linc5a	0.6376				
104	*M. v. incautus*	Linc8a	0.6560				
105	*M. v. incautus*	Linc10a	0.6042				
106	*M. v. grandis*	Cott3a	0.5724				
107	*M. v. grandis*	Cott4a	0.5720				
108	*M. v. grandis*	Cott5a	0.5566				
109	*M. v. grandis*	Cott7a	0.6588				
110	*M. v. grandis*	Cott10a	0.5486				
111	*M. v. grandis*	Wood3a	0.5648				
112	*M. v. grandis*	Wood4a	0.5852				
113	*M. v. grandis*	Barb1a	0.5722				
114	*M. v. grandis*	Barb2a	0.5582				
115	*M. v. grandis*	Ford2a	0.5338				
116	*M. v. brevis*	Coch1a	0.5172				
117	*M. v. brevis*	Coch5a	0.6670				
118	*M. v. brevis*	Coch6a	0.6678				
119	*M. v. brevis*	Coch7a	0.5640				
120	*M. v. brevis*	Coch8a	0.5522				

Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00243
Matrícula: 2223803747

Variación Genética del Murciélago *Myotis velifer* (Chiroptera: Vespertilionidae)



LAURA YANETH BOLIVAR HOYOS
ALUMNA

En la Ciudad de México, se presentaron a las 13:00 horas del día 16 del mes de julio del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MARIA LUISA NUÑEZ RESENDIZ
DRA. TANIA GARRIDO GARDUÑO
DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA
DRA. VERONICA ZAMORA GUTIERREZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA

DE: LAURA YANETH BOLIVAR HOYOS

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. MARIA LUISA NUÑEZ RESENDIZ

VOCAL

DRA. TANIA GARRIDO GARDUÑO

VOCAL

DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA

SECRETARIA

DRA. VERONICA ZAMORA GUTIERREZ