



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

TÍTULO DE LA TESIS

Variación y estructura genética de *Pteronotus parnellii* (Mormoopidae: Chiroptera) en México, con base en las secuencias del dominio HVII de la región control del ADN mitocondrial

Que para obtener el grado de
Maestro en Biología

PRESENTA

Biólogo, Ruiz Ortiz José Domingo

Fecha

La Maestría en Biología de la
Universidad Autónoma Metropolitana
pertenece al Padrón de
Postgrados de Calidad del CONACyT.

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Ruiz Ortiz José Domingo

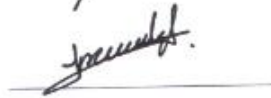
El día 21 de 07 del año de 2014.

Comité Tutorial y Jurado:

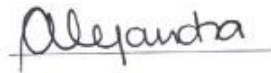
Tutor: Dr. Ricardo López Wilchis



Co-tutor: Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero



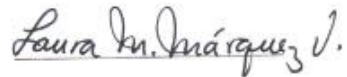
Asesor: Dra. Alejandra Serrato Díaz



Dr. Miguel Angel Armella Vittalpardo.
Sinodal: Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza



Sinodal: M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar



Sinodal: Dra. Jhoana Díaz Larrea



La presente investigación se realizó en:

El laboratorio de Biología de mamíferos del Departamento de Biología de la Universidad

Autónoma Metropolitana Iztapalapa bajo la dirección del

Dr. Ricardo López Wilchis y el Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero

El Laboratorio Divisional de Biología Molecular (LDBM)

Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa bajo la coordinación de la

Dra. Alejandra Serrato Díaz

DEDICATORIA

Al suceso más sublime de mi vida; mi amado hijo y súper héroe “**Santiaguito**” **Ruiz Almaraz** y a su hermosa madre **Berenice**, por su amor, paciencia y comprensión, pero sobre todas las cosas, por ser esos motores de vida y las luciérnagas que iluminan mi camino cuando más oscuro se torna.

A mis amados padres **Jovita Ortiz Rodríguez** y **Ramiro Ruiz Torres**, por sus sutiles cuidados, su inmenso amor, comprensión y apoyo en todos los momentos de mi vida. Pero lo mejor, por haberme permitido crecer en el mundo de la música, el deporte y el estudio.

A mis amados hermanos **Luciano** y **Ramiro**, por compartir su música, su amistad, compañía y cariño incondicional. A mi sobrino “**Lucianito**” por ser esa parte tan sensible de nuestras vidas.

A mi padrino **Gilberto Sierra**, por su amistad, cariño y esos gratos momentos y pláticas constructivas.

A mis ángeles de la guarda: “**Lucianita**”, “**Laurita**”, “**Ana Karen**”, a mi tías “**Lety**” y “**Lolita**”, a mis abuelos, “**Petrita**” **Torres**, **Domingo Ruiz** y **Cándido Ortiz**, y de manera muy especial a la Sra. **Lourdes Almaraz**, por que siempre los llevo en mi pensamiento y en lo más profundo de mi corazón, con gran admiración, amor y respeto.

A mi couch “**BODEGA, el Tigrillo de educación**” por haberme formado con pasión y potencia, y enseñarme el valor del honor, el coraje y la valentía.

A todos ustedes y aquellos que me apoyaron y que saben que los quiero y aprecio

GRACIAS

Por compartir junto conmigo, “ÉSTA FORMA TAN EXTRAÑA DE VIVIR”.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sin orden de distinción: al Dr. Ricardo López Wilchis, al Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero, a la Dra. Alejandra Serrato Díaz y al Dr. Javier Juste Ballesta, por brindarme una oportunidad única y compartir su experiencia, conocimientos y valiosos puntos de vista para la realización de este trabajo. En especial, por contribuir de manera significativa en mi formación académica, profesional y personal. Por su inmenso apoyo, amistad y sus sabios comentarios cuando más lo necesité.

A los miembros del jurado: al Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza, la Dra. Jhoana Díaz Larrea, la Dra. Alejandra Serrato Díaz y a la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar, por su gran disponibilidad y apoyo, pero sobre todo por imprimir sus valiosos comentarios a este trabajo.

Al Dr. Gerardo Figueroa Lucero y las Dra. Irene Barriga Sosa por compartirme sus conocimientos, por su amistad y apoyo constante.

A la familia Almaraz y a la familia Gallardo; en especial a mis suegros Gonzalo Almaraz y Luz Gallardo, por su constante apoyo, comprensión, amistad y respeto.

A la Secretaría de Salud Pública y a la comisión mixta de capacitación; al Lic. Ricardo Carmona, por su apoyo incondicional, amistad y confianza depositada.

A mi grandes amigos: Gabino, Gibran, Iván Pastrana, Enrique (KIKE), Octavio (Neza), Iván Flores, José (pepino) y Michelle Pereyda, Dafne Gri, Angélica Colín y José Carlos por su invaluable amistad y su apoyo constante en este trayecto llamado vida, por hacerme creer que un mundo diferente es posible.

Al CONACyT, por la beca otorgada para la realización del presente trabajo.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABLAS	11
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
MARCO TEÓRICO	15
1. Genética de poblaciones.....	15
2. Variación genética	15
3. Marcadores moleculares	16
3.1. ADN mitocondrial	17
4. Índices de diversidad genética	18
ESTRUCTURA GENÉTICA	19
1. Índice de diferenciación genética	19
2. Análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA)	20
3. Flujo génico (<i>Nm</i>)	20
4. Distancias genéticas	21
5. Aislamiento por distancia	21
6. Red de haplotipos	22
7. Distribución Mismatch.....	23
8. Relaciones toco genéticas.....	24
ANTECEDENTES	25
1. Familia Mormoopidae.....	25
2. Posición taxonómica.....	25
3. Especie de estudio.....	27
4. Antecedentes sobre estudios moleculares.....	31
JUSTIFICACIÓN	33
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	34
OBJETIVOS	34
1. Objetivo general.....	34

2. Objetivos particulares.....	34
HIPÓTESIS.....	35
MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
1. Colecta de muestras.....	36
2. Extracción de ADN, amplificación y secuenciación del dominio HVII de la región control mitocondrial.....	38
3. Edición y alineamiento de secuencias.....	40
4. Diversidad y estructura genética.....	40
5. Relaciones tocogenéticas e historia demográfica.....	42
RESULTADOS.....	43
1. Trabajo de campo.....	43
2. Patrones generales de variación en las secuencias.....	43
3. Diversidad haplotípica.....	45
4. Diversidad nucleotídica.....	45
5. Índice de diferenciación genética.....	47
6. Varianza genética debida a las diferencias entre grupos de poblaciones.....	47
7. Índice de diferenciación genética entre grupos.....	48
8. Flujo génico.....	50
9. Distancias genéticas.....	51
10. Aislamiento por distancia.....	53
11. Red de haplotipos.....	54
12. Distribución mismatch.....	55
13. Análisis tocogenéticos.....	57
DISCUSIÓN.....	61
CONCLUSIONES.....	75
LITERATURA CITADA.....	75
ANEXOS.....	90
Anexo 1.....	90
Extracción de ADN total	
Anexo 2.....	91
Gel agarosa	
Anexo 3.....	91

Cuantificación	
Anexo 4	92
Fragmento amplificado del dominio HVII de la región control mitocondrial	
Anexo 5	92
Purificación	
Anexo 6	93
Sitios polimórficos de los 79 haplotipos en el dominio HVII de la región control mitocondrial	
Anexo 7	96
Tabla de distribución de haplotipos	
Anexo 8	99
Valores pareados de F_{ST}	
Anexo 9	100
Valores pareados de flujo génico (Nm)	
Anexo 10	101
Distancias genéticas en porcentaje de acuerdo a modelo de Tamura y Nei (1993).	
Anexo 11	102
Comparación en porcentaje de las distancias genéticas entre las poblaciones de Pedro Antonio de los Santos-Quinta Roo (GS) y El Tigre-Sonora (PN-DB) de acuerdo a modelo de Tamura y Nei (1993).	
Anexo 12	103
Tabla de los haplotipos indicando su ubicación geográfica.	

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1	Esquema general de la región control del ADNmt en mamíferos.... 18
2	Murciélago bigotudo de Parnell (<i>Pteronotus parnellii</i>) 28
3	Mapa de distribución de <i>Pteronotus parnellii</i> y sus subespecies basado en Smith (1972) 30
4	Distribución geográfica de <i>P. parnellii</i> en México y sitios de colecta..... 38
5	Distribución de la frecuencia y número de haplotipos del dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial en México.... 44
6	Estructura genética/geográfica de <i>Pteronotus parnellii</i> en México de acuerdo al análisis SAMOVA..... 48
7	Correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas entre las 21 poblaciones de <i>Pteronotus parnellii</i> para la región control..... 53
8	Red haplotípica de <i>Pteronotus parnellii</i> con base en el dominio HVII de la región control mitocondrial..... 54
9	Distribución mismatch de todos los haplotipos de <i>Pteronotus parnellii</i> 56
10	Distribución mismatch de los haplotipos pertenecientes al grupo PN-DB de <i>Pteronotus parnellii</i> 56
11	Distribución mismatch de los haplotipos pertenecientes al grupo GS de <i>Pteronotus parnellii</i> 57
12	Árbol neighbor-joining de los 79 haplotipos de <i>Pteronotus parnellii</i> , utilizando el modelo Tamura y Nei (1993) 58
13	Distribución geográfica de los haplogrupos de <i>P. parnellii</i> en México..... 60

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Posición taxonómica de la familia Mormoopidae de acuerdo a Smith (1972)	27
2	Localidades de colecta de <i>Pteronotus parnellii</i> en México.....	37
3	Índices de diversidad genética.....	46
4	Resultado de los estadísticos <i>F</i>	49
5	Intervalos y promedios de las distancias genéticas de acuerdo al modelo de Tamura y Nei (1993)	52

RESUMEN

Se secuenció el segundo dominio hipervariable (HVII) de la región control mitocondrial (271 pares de bases) de 200 individuos del murciélago bigotudo de Parnell (*Pteronotus parnellii*) a lo largo de su intervalo de distribución en México, con la finalidad de evaluar si sus poblaciones presentan un alto grado de diferenciación genética asociado con los principales sistemas montañosos del país como barreras efectivas al flujo génico. Se encontraron valores bajos y altos de diversidad genética (h ; intervalo: 0.38-1.00 y π ; intervalo: 0.0014-0.0517). El análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) muestra dos grupos de poblaciones ($F_{CT}=0.395$, $P<0.05$), uno constituido por las poblaciones localizadas en las planicies del Pacífico Norte y en Depresión del Balsas (grupo PN-DB) y otro por las localizadas en las planicies del Golfo de México y Sureste del país (grupo GS), los cuales muestran un alto nivel de estructuración ($F_{ST} \text{ (PN-DB vs. GS)} = 0.465$, $P<0.05$). El bajo número de migrantes ($Nm_{\text{PN-DB vs. GS}} = 0.67$), las distancias genéticas (PN - DB vs. GS=4.5%) y la no correlación significativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas ($P > 0.05$) indican que la diferenciación entre ambos grupos podría ser resultado de la influencia de la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre del Sur. La red de haplotipos muestra la presencia de tres haplogrupos A, B y C, donde B pertenece al grupo PN-DB y A y C al grupo GS. Sin embargo, los análisis toco genéticos indican la presencia de dos clados: I) que incluye a A y el II) que incluye a B y C. Esto significa que dentro del grupo GS existe un alto nivel de disimilitud genética. Al respecto e interesantemente, en la zona centro del Golfo de México y en la Península de Yucatán, se presentan en una misma localidad haplotipos de distintos haplogrupos, lo cual sugiere la presencia de un mayor número de linajes para la especie.

ABSTRACT

The second hypervariable domain HVII of the mitochondrial control region of 200 individuals Parnell's mustached bat (*Pteronotus parnellii*) throughout its range of distribution in Mexico was sequenced, in order to assess whether their populations have a high degree of genetic differentiation associated with major mountain systems of the country as effective barriers to gene flow. High and low levels of genetic diversity were found (h ; range: 0.38-1.00 y π ; range: 0.0014-0.0517). Spatial analysis of molecular variance (SAMOVA) shows two groups of populations ($F_{CT} = 0.395$, $P < 0.05$), one consisting of populations located in the plains of the North Pacific and Depression del Balsas (PN-DB group) and another those located in the plains of the Gulf of Mexico and Southeast of the country (GS group), which show a high level of structure ($F_{ST} \text{ (PN-DB vs. GS)} = 0.465$, $P < 0.05$). The low number of migrants ($Nm_{\text{PN-DB vs GS}} = 0.67$), genetic distances (PN -. DB vs GS = 4.5%) and no significant correlation between genetic distances and geographical distances ($P > 0.05$) indicate that differentiation between the two groups could be a result of the influence of the Sierra Madre Oriental and Sierra Madre del Sur. Haplotype network shows the presence of three haplogrupos A, B and C, where B belongs to group PN-DB and A and C to group GS. However, genealogical analyzes indicate the presence of two clades: I) that includes A and II) which includes B and C. This means that within the group GS there are a high level of genetic dissimilarity. Regard and interestingly, in the central Gulf of Mexico and the Yucatan Peninsula, haplotypes from different haplogroups are presented in the same locality, suggesting the presence of a greater number of lineages for the species.

INTRODUCCIÓN

Los marcadores moleculares constituyen una valiosa herramienta que ha demostrado ser de gran utilidad en especies donde el uso de métodos tradicionales de estudio, tales como la observación directa de individuos o poblaciones está altamente restringida. Un grupo de mamíferos el cual se ve beneficiado de este uso es el orden Chiroptera, debido a sus hábitos de vida nocturna y otros aspectos ecológicos (Burland y Worthington, 2001).

El ADN mitocondrial ha sido ampliamente utilizado en estudios de genética de poblaciones debido a que presenta una alta tasa de mutación y polimorfismo, y a su herencia estrictamente materna con pocas excepciones (Avise, 2000; Lanteri y Confalonieri, 2001; Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005). Uno de los marcadores más utilizados para evaluar las diferencias genéticas e historia poblacional en una gran variedad de taxones es la región control mitocondrial, ya que muestra una rápida y excepcional tasa de sustitución nucleotídica y un alto nivel de polimorfismo a nivel intraespecífico (Wilkinson y Chapman, 1991; Wilkinson *et al.*, 1997; Avise, 2000; Frankham *et al.*, 2002).

La importancia de la variabilidad genética como componente de la diversidad y base de la evolución, puede revelar la historia evolutiva de las especies, la descripción de nuevas especies crípticas (Juste *et al.*, 2009) así como brindar datos útiles sobre su distribución y la velocidad con la que ésta se pierde, además de aportar datos útiles para la conservación (Frankham *et al.*, 2002; Piñero *et al.*, 2008). Sin embargo, a pesar de la gran diversidad del orden Chiroptera en México los estudios genéticos son escasos y pocos se enfocan a la variabilidad genética de las especies (Piñero *et al.*, 2008).

MARCO TEÓRICO

1. Genética de poblaciones

El principal objetivo de la genética de poblaciones es describir los niveles de variación genética a través del análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas, y tratar de explicar esta variación en términos de las fuerzas evolutivas (mutación, flujo genético, selección natural y deriva génica). La manera como se distribuye esta variación dentro y entre las poblaciones constituye su estructura genética e involucra el estudio espacial y temporal de las frecuencias alélicas. La aplicación de los principios mendelianos al análisis de la estructura genética de las poblaciones es el principal objeto de estudio de la genética de poblaciones, que analiza los factores y fuerzas evolutivas en los sistemas biológicos mediante modelos matemáticos sofisticados (Hartl y Clark, 2007; Rodríguez *et al.*, 2009).

2. Variación genética

La variación genética podría definirse como aquellas variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población, y entre las poblaciones de una especie (Piñero *et al.*, 2008). La magnitud que cuantifica la cantidad de esta variación dentro de una población o especie se conoce como diversidad genética (Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005; Hughes *et al.*, 2008). En las poblaciones, ésta variación se ve afectada por diferentes procesos o fuerzas evolutivas tales como: 1) cualquier forma de apareamiento no aleatorio, que altera sólo las frecuencias genotípicas y deja a las frecuencias alélicas constantes, 2) la deriva génica, que cambia al azar las frecuencias alélicas llevando finalmente a la fijación o a la pérdida de alelos, 3) el flujo génico, que es el movimiento de genes entre poblaciones, 4) la mutación, que actúa en la incorporación permanente de cambios aleatorios en el ADN y es la fuente de toda variación genética, 5) la

Selección Natural, que favorece a ciertos genotipos y 6) la recombinación, que conduce a nuevas combinaciones de genes a lo largo de un cromosoma y que contribuye a la diversidad genética de taxones con reproducción sexual (Frankham *et al.*, 2002; Scott y Herron, 2002; Freeland, 2005; Futuyma, 2005; Hamilton, 2009).

Su conocimiento brinda datos importantes para la genética evolutiva y la conservación de las especies mediante los cuales se pueden evaluar la pérdida de poblaciones, especies y recursos genéticos, la capacidad de respuesta de las poblaciones y especies ante los cambios ambientales, así como conocer la riqueza genética y su distribución geográfica, además de entender la velocidad y las causas de la pérdida de la diversidad genética (Eguiarte, 1999; Moreno, 2001; Frankham *et al.*, 2002; Piñero *et al.*, 2008b).

3. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares constituyen una valiosa herramienta que nos permite, entre otras cosas, cuantificar la variación genética y la biodiversidad dentro y entre poblaciones, rastrear los movimientos de los individuos, medir el grado de endogamia, volver a trazar patrones históricos de dispersión y caracterizar nuevas especies. Esto nos permite determinar qué alelos están presentes en las poblaciones y con qué frecuencia se encuentran. Dichos marcadores se clasifican principalmente en dos tipos: marcadores nucleares y mitocondriales. Los marcadores de ADN mitocondrial que se utilizan con mayor frecuencia en estudios microevolutivos de genética de poblaciones son: ADNr 12S > ADNr 16S > citocromo b > región de control; donde el marcador 12S es más conservado y la región control más variable (Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005; Arif y Khan 2009).

3.1. ADN mitocondrial

El ADN mitocondrial (ADNmt) es una molécula ideal en estudios de genética de poblaciones debido a su alta tasa de mutación y polimorfismo en vertebrados (la cual es mayor en comparación a la del ADN nuclear); su recombinación prácticamente nula; su gran variación intraespecífica y su herencia estrictamente materna (con pocas excepciones) (Awise, 2000; Lanteri y Confalonieri, 2001; Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005).

En todos los vertebrados el ADNmt es una molécula circular (16kb) compuesta por 37 genes. Dos genes de ARNr (ribosomal), 22 ARNt (de transferencia) y 13 ARNm (mensajeros) además de una región en vertebrados y equinodermos conocida como región control (*ca.* 1 kb), un fragmento no codificante del genoma mitocondrial que contiene la mayoría de los elementos reguladores para la transcripción y replicación del genoma mitocondrial (Wilkinson y Chapman, 1991; Sbisà *et al.*, 1997; Wilkinson *et al.*, 1997; Lunt *et al.*, 1998).

La estructura general de la región control consiste de un dominio central, que muestra gran similitud de nucleótidos entre especies y diverge no más que los genes mitocondriales codificantes (Gemmell *et al.*, 1996; Sbisà *et al.*, 1997) y dos dominios en ambos extremos que difieren tanto en longitud como en la composición de bases. El dominio ETAS adyacente al ARNt^{Pro} caracterizado por presentar altos contenidos de adenina y bajos contenidos de guanina, y el dominio CSB o Hipervariable II adyacente al ARNt^{Phe} que tiene altos contenidos de adenina relacionados con una alta variabilidad y un bloque de secuencias conservadas (Figura 1). También incluye una región más pequeña dentro de la misma región control, que muestra una rápida y excepcional tasa de sustitución nucleotídica y un alto nivel de polimorfismo a nivel intraespecífico, conocida en vertebrados como Loop de desplazamiento o D-Loop (Saccone *et al.*, 1987; Sbisà *et al.*,

1997; Wilkinson *et al.*, 1997; Avise, 2000). Estas características hacen que la región control mitocondrial sea útil para estudios microevolutivos en genética de poblaciones.

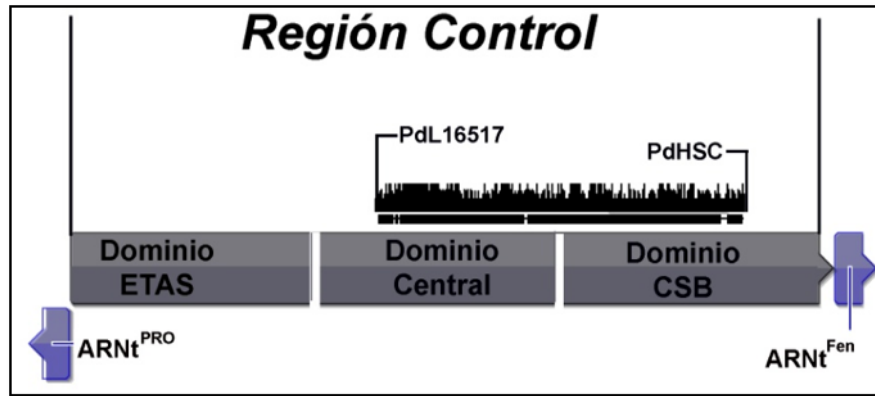


Figura 1. Esquema general de la región control del ADNmt. Se muestran los dos dominios hipervariables a los extremos y un dominio conservado al centro (modificada de Avise, 2000).

4. Índices de diversidad genética

Las estimaciones de diversidad genética basadas en datos mitocondriales consisten de los sitios segregados (s), que representan el número de sitios que difieren entre las secuencias alineadas, la diversidad haplotípica de Nei (h) (Nei, 1972) que describe el número y la frecuencia de los haplotipos, y la diversidad nucleotídica (π) (Nei, 1978) que refleja la frecuencia de haplotipos y la divergencia de las secuencias entre todos los haplotipos (Nei, 1972; Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005). Estos índices proporcionan una medida de la cantidad de variación de una población, siendo útiles para realizar comparaciones entre poblaciones.

Estructura Genética

1. Índice de diferenciación genética F_{ST}

El método más común para cuantificar el nivel de diferenciación genética entre poblaciones está basado en los estadísticos F , desarrollados por Wright (1951). El índice F_{ST} provee una estimación de la diferenciación genética entre poblaciones. Ésta es una medida del grado de endogamia dentro de una población con relación a la población total (todas las subpoblaciones combinadas) y refleja la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de una población, ya sea de individuos diferentes o del mismo individuo sean idénticos por descendencia. De acuerdo con la definición de Nei (1973), $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$, donde H_T es el promedio de la heterocigosis esperada de la población total para todos los loci y H_S es el promedio de la heterocigosis esperada dentro de subpoblaciones para todos los loci (Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005; Allendorf y Luikart, 2007; Hartl y Clark, 2007).

Su significancia se estima a través de un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) análogo al análisis de varianza ANOVA. Generalmente los valores de F_{ST} disminuyen con tasas altas de flujo génico y aumentan con tasas bajas de flujo génico entre poblaciones. Sin embargo, los efectos del flujo génico también se relacionan con la deriva génica y la selección natural, debido a que éstos tres procesos determinan el grado por el cual las poblaciones pueden converger o divergir genéticamente (Freeland, 2005). Sus valores van de 0 a 1, por lo tanto si $F_{ST}=0$, no existe diferenciación entre las poblaciones (estructura nula), si $F_{ST}=1$ cada población está fija en alelos diferentes (alta estructura) (Allendorf y Luikart, 2007).

2. Análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA)

A menudo un conjunto de criterios ecológicos, morfológicos y físicos son empleados *a priori* para definir grupos de poblaciones sobre los cuales se aplica un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992). Sin embargo, cuando no existe algún criterio obvio para la definición de grupos de poblaciones, la investigación de la estructura genética puede tornarse difícil, por lo que es recomendable recurrir a un Análisis Espacial de Varianza Molecular (Spatial Analysis of Molecular Variance - SAMOVA) (Dupanloup *et al.*, 2002), el cual utiliza datos genéticos y geográficos (coordenadas geográficas) para definir grupos de poblaciones que son tanto genética como geográficamente homogéneas y que se diferencian fuertemente entre si. Lo anterior es representado por el máximo valor obtenido para el índice F_{CT} , definido como la proporción total de varianza genética debida a las diferencias entre grupos de poblaciones (Dupanloup *et al.*, 2002).

3. Flujo génico

El flujo génico incluye todos los mecanismos resultantes en el movimiento de genes de una población a otra (Slatkin, 1987). Este puede ser inferido indirectamente por patrones de diferenciación entre poblaciones por el cálculo de los estadísticos F de Wright (1951). De la estimación de F_{ST} relacionada con el tamaño poblacional (N) y la tasa de migración (m), el nivel de flujo génico medido por el producto Nm puede ser computado para datos mitocondriales con base en el modelo de islas, el cual asume: 1) que las tasas de migración sean iguales entre poblaciones o fragmentos, 2) que las poblaciones posean tamaños poblacionales idénticos y estructuras ideales, 3) que tanto los migrantes como los residentes tengan la misma probabilidad de reproducirse y dejar descendencia y 4) que las poblaciones

se encuentren en equilibrio migración - deriva, lo cual significa, que un solo migrante por generación entre poblaciones ideales es suficiente para evitar una completa diferenciación. La población se acerca al equilibrio únicamente cuando el tamaño de la población y la tasa de migración permanecen más o menos constantes. De tal manera que poblaciones con tasas de migración de más de un migrante por generación ($Nm > 1$) no muestran fijación alguna, mientras que aquellas con menos de un migrante por generación ($Nm < 1$) muestran fijación por algún alelo (Hudson *et al.*, 1992; Slatkin, 1999; Frankham *et al.*, 2002; Freeland, 2005).

4. Distancias genéticas

Una forma en la cual se puede medir el grado de similitud genética, aislamiento reproductivo y diferenciación entre dos poblaciones, es por medio de la estimación de las distancias genéticas entre ellas. Uno de los métodos más utilizado es el de las distancias genéticas de Nei (1972) D . Los valores de D van de 0 a infinito. Si dos poblaciones tienen frecuencias alélicas similares, entonces la distancia genética (D) tiende a cero. Por el contrario si dos poblaciones no tienen alelos en común, (D) es infinito (Nei, 1972; Frankham *et al.*, 2002; Avise, 2004; Freeland, 2005).

5. Aislamiento por distancia

La frase aislamiento por distancia fue introducida por Sewall Wright (1943) para describir la acumulación de diferencias genéticas locales bajo una restringida dispersión geográfica. Cuando una especie presenta una distribución geográfica amplia, la probabilidad de flujo génico entre las poblaciones disminuye al incrementarse la distancia espacial, es decir, que los individuos tienden a aparearse más con aquellos más cercanos

geográficamente de lo que se esperaría si los cruzamientos fueran al azar en toda la distribución de la especie. El aislamiento por distancia es evaluado utilizando estimaciones de regresión log-transformadas del flujo génico entre pares de poblaciones contra las respectivas distancias geográficas log-transformadas. La significancia de esta relación puede ser evaluada utilizando una prueba de Mantel, la cual evalúa la correlación entre las distancias genéticas y geográficas. La prueba de Mantel es apropiada para esta comparación por que ésta no asume que las comparaciones entre pares de poblaciones sean independientes. La pendiente y el intercepto de la regresión del aislamiento por distancia se pueden utilizar para probar la fuerza de la relación, definida como significativa con un valor de $P \leq 0.05$ (Slatkin, 1993; Freeland, 2005).

6. Red de haplotipos

Una red haplotípica representa gráficamente linajes que incluyen a los ancestros y sus descendientes. Consiste de nodos y conexiones que los unen, los nodos representan las secuencias analizadas y las conexiones las diferencias mutacionales entre los nodos. Un vector medio es una secuencia hipotética, que es requerida para conectar secuencias existentes dentro de la red a través de máxima parsimonia de Farris (1970). El método median-joining (MJ) para construir una red de haplotipos, comienza por la combinación de árboles de mínima expansión (MSTs) dentro de una sola red. Con un criterio de parsimonia, los vectores medios son añadidos a la red (Bandelt *et al.*, 1999). Las redes MJ pueden manejar grandes conjuntos de datos y caracteres multiestado. Se trata de un método extremadamente rápido que puede analizar miles de haplotipos en un plazo razonable de tiempo (Posada y Candrall, 2001).

La interpretación de las redes se basa en la teoría de la coalescencia debido a que las conexiones entre haplotipos a través de la red representan eventos coalescentes, por lo tanto se debe tomar en cuenta que: 1) la frecuencia alta de un haplotipo es probable que represente alelos ancestrales, 2) dentro de la red, los alelos ancestrales se encuentran al interior, mientras que los recientes regularmente se encuentren en la periferia, 3) los haplotipos con múltiples conexiones probablemente son portadores de alelos ancestrales, 4) se espera que los alelos ancestrales muestren una amplia distribución geográfica debido a que sus portadores han tenido un periodo de tiempo más prolongado para dispersarse y 5) haplotipos con únicamente una conexión es probable que estén conectados a haplotipos de la misma población, debido a que han evolucionado recientemente y sus portadores no han tenido el suficiente tiempo para dispersarse (Freeland, 2005).

7. Distribución mismatch

La distribución “mismatch” es un método basado en distancias genéticas (Rogers y Harpending, 1992) que evalúa si la distribución observada entre los pares de secuencias (haplotipos) es estadísticamente diferente de la esperada bajo la hipótesis de crecimiento poblacional. Estas distribuciones tienen formas características para poblaciones con diferentes historias demográficas tales como; poblaciones con tamaños poblacionales estables a lo largo de su historia evolutiva, crecimiento poblacional, poblaciones que han experimentado cuellos de botella o poblaciones que han experimentado un contacto secundario (Frankham, 2002). Un crecimiento exponencial es representado por una distribución unimodal, mientras que poblaciones estables presentan una distribución geométrica. Los cuellos de botella conducen a distribuciones bimodales o cercanas a cero, dependiendo si el cuello de botella reduce la diversidad genética, o bien, la diversidad ha

sido completamente removida de la población (Frankham, 2002).

8. Relaciones tocogenéticas

Existen diferentes métodos para construir filogenias a partir de datos genéticos como: el método de distancia, máxima parsimonia, máxima verosimilitud y el enfoque Bayesiano. Estos análisis son empleados en grupos taxonómicos a nivel de especie y entre especies que han experimentado un período de aislamiento reproductivo por un largo periodo como para permitir la fijación de diferentes alelos (Freeland, 2005). La aplicación más apropiada en estudios a nivel de especie, es cuando el grado de polimorfismo (e.g. región control mitocondrial) es lo suficiente como para comparar secuencias entre individuos (Holder y Lewis, 2003; Freeland, 2005). Uno de los métodos empleados es el de distancia, el cual se basa en medidas de diferenciación evolutiva entre todos los pares de taxones, calculadas a partir del número de diferencias nucleotídicas. El algoritmo más utilizado es el método Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) o vecino más cercano, debido a que las longitudes de las ramas reflejan la distancia evolutiva entre dos puntos dentro de estos árboles. Este enfoque garantiza que las ramas vecinas en el árbol, sean ocupadas por aquellos linajes que han descendido recientemente a partir de un ancestro común (Holder y Lewis, 2003; Avise, 2004; Freeland, 2005).

ANTECEDENTES

1. Familia Mormoopidae

Mormoopidae es una pequeña familia de microquirópteros insectívoros que actualmente incluye los géneros *Mormoops* (Leach, 1821) y *Pteronotus* (Gray, 1838) y ocho especies (Smith, 1972; Lewis-Oritt *et al.*, 2001; Simmons y Conway, 2001; Van Den Bussche *et al.*, 2002). Comúnmente son reconocidos como murciélagos bigotudos, de espalda desnuda y rostro de fantasma. Se caracterizan por presentar el labio superior no dividido y el labio inferior con pliegues marcados o excrecencias (verrugas). Son murciélagos de tamaño pequeño a mediano (por ejemplo: con una longitud del antebrazo entre 35 y 66 mm, Herd, 1983; Simmons y Conway, 2001). Su patrón de distribución abarca desde el Suroeste de los Estados Unidos (Texas) a través de México y Centro América, hasta el Sur de Brasil, también se encuentran en las Antillas Mayores y Menores. Las asociaciones ecológicas de las especies incluidas en esta familia, muestran una amplia distribución desde los bosques tropicales húmedos, bosques tropicales áridos, semiáridos y matorrales, los cuales son utilizados para alimentación, reproducción y descanso (Smith 1972; Herd, 1983; Lewis-Oritt *et al.* 2001; Simmons y Conway 2001).

2. Posición taxonómica

Desde el descubrimiento de los mormoópidos en el siglo XIX, su tratamiento taxonómico ha sido variado y muchas veces controversial. La historia taxonómica de la familia Mormoopidae comienza en 1821 cuando William Elford Leach describió el género *Aello* (Leach, 1821) y *Mormoops* (Leach, 1821). En los inicios de la clasificación taxonómica de los quirópteros, la familia Mormoopidae fue incluida en varias ocasiones con las familias Noctillionidae (Gray, 1839; Gray, 1866) y Phyllostomidae (Flower y

Lydekker, 1891; Miller, 1907), las cuales mantienen límites bien establecidos actualmente, lo anterior se consideró porque la familia Mormoopidae parece estar más estrechamente relacionada con estas familias que con otras del Nuevo Mundo (Smith, 1972). Gray (1866) reconoció a la familia Mormoopidae e incluyó en dicha familia cuatro géneros, *Phyllodia* (Gray, 1843), *Chilonycteris*, *Pteronotus* y *Mormoops* (Miller, 1907; Rehn, 1902). Posteriormente Miller (1907) reconoció únicamente tres géneros (*Chilonycteris*, *Pteronotus* y *Mormoops*) en dicha familia. Las clasificaciones previamente mencionadas fueron basadas principalmente en la morfología del cráneo y el grado de fusión de la membrana alar en la región dorsal (Lewis-Oritt *et al.*, 2001). Por su parte, Smith (1972) construyó una clasificación para la familia Mormoopidae basada por primera vez en análisis filogenéticos con caracteres morfológicos y análisis de taxonomía numérica. El resultado de dicha clasificación corresponde con resultados publicados posteriormente para otros estudios comparativos que incluyen la ecolocación, estructura del pelaje, cariotipos entre otros caracteres (Lewis-Oritt *et al.*, 2001). Smith (1972) concluyó que los mormópidos eran suficientemente diferentes de otros filostómidos, por lo que debían ser removidos de la familia Phyllostomidae y otorgarles el estatus de familia como Mormoopidae. En esta familia incluyó los géneros *Mormoops*-Leach, 1821 y *Pteronotus*-Gray, 1838, este último con tres subgéneros: *Phyllodia* (Gray, 1843) que incluye únicamente a *Pteronotus parnellii* (Gray, 1843), *Chilonycteris* (Gray, 1839) que incluye a *Pteronotus macleayii* (Gray, 1839), *P. fuliginosus*, (Gray, 1843) y *P. personatus* (Wagner, 1843) y *Pteronotus*-Gray, 1838, que incluye a *P. davyi*-Gray, 1838 y *P. gymnonotus*-Natterer, 1843.

Aunque la clasificación de Smith (1972) ha prevalecido relativamente intacta desde los años 90s (Tabla 1), numerosos trabajos que se han realizado posteriores a su publicación, han sugerido inconsistencias (Lewis-Oritt *et al.*, 2001; Simmons y Conway

cola está incluida en un uropatagio, el cual es amplio y carece de pelo. El pelaje es generalmente oscuro, marrón o negruzco, a medida que envejece se vuelve más pálido (café) o puede progresar a un leonado brillante o naranja (Herd, 1983).



Figura 2. Murciélago bigotudo de Parnell (*Pteronotus parnellii*) (Foto tomada por Ricardo López Wilchis).

Su área de distribución abarca desde el Sur de Sonora y Tamaulipas a lo largo de las planicies del Pacífico y Golfo de México a través de Centroamérica y Sudamérica, donde se localizan a lo largo de la costa del Caribe (incluyendo Trinidad y Tobago) extendiéndose hasta la región del Matto Grosso en el Sur de Brasil. Las asociaciones ecológicas de *P. parnellii* muestran una amplia distribución, desde selvas tropicales húmedas, semiáridas, áridas subtropicales, matorrales áridos y en las tierras bajas de la costa hasta los 3000 msnm, donde utiliza cuevas profundas y húmedas que a menudo comparten con otras especies de murciélagos, para descanso, reproducción y alimentación (Smith, 1972; Herd, 1983).

Los pocos registros fósiles datan del Pleistoceno y fueron encontrados en Puerto Rico. Depósitos recientes se han encontrado en cuevas de Jamaica, Cuba y México (Herd, 1983). Actualmente se reconocen nueve subespecies, *Pteronotus parnellii fuscus* (Allen, 1911), *P. p. gonavensis* (Koopman, 1955), *P. p. mesoamericanus* (Smith, 1972), *P. p. mexicanus* (Miller, 1902), *P. p. paraguayensis* (Linares y Ojasti, 1974), *P. p. parnellii*

(Gray, 1843), *P. p. portoricensis* (Miller, 1902), *P. p. pusillus* (Allen, 1917) y *P. p. rubiginosus* (Wagner, 1843) (Smith, 1972; Herd, 1983; Simmons y Conway, 2001) (Figura 3). En México se reconocen dos; 1) *Pteronotus parnellii mexicanus* (Miller, 1902) cuya distribución abarca desde el Sur de Sonora y Tamaulipas a lo largo de las planicies del Océano Pacífico y Golfo de México hasta el Norte del Istmo de Tehuantepec. Es de tamaño pequeño tanto el cuerpo como el cráneo, con una longitud total promedio entre 89.2-89.9 mm; una longitud promedio de las vertebras de la cola de 21.6-21.0 mm; longitud promedio del retropie de 13.6-13.8 mm; la longitud de la oreja desde la muesca de 22.0-21.6 mm. El pelaje es de color canela en la zona media del cuerpo y parduzco en las zonas basales y terminales. Los especímenes examinados en el Occidente de México son notablemente de color más pálido (marrón) que algunas otras subespecies de las tierras continentales. La cabeza y la nuca son del mismo color. Ventralmente la región pectoral y abdominal son de color gris llegando a ser ligeramente más pálido en la garganta y la barbilla. En esta subespecie las poblaciones del Occidente llegan a ser progresivamente más grandes y oscuros al aproximarse a la región del Istmo de Tehuantepec (Smith, 1972); 2) *Pteronotus parnellii mesoamericanus* (Smith, 1972) cuya distribución abarca el Sur del Istmo de Tehuantepec desde Chiapas al Este de Panamá, y de Veracruz y Yucatán hasta Honduras (Simmons y Conway 2001) (Figura 3). Es de tamaño mediano tanto el cuerpo como el cráneo, con una longitud total promedio entre 96-95.9 mm; una longitud promedio de las vertebras de la cola de 26-224.5 mm; longitud promedio del retropie de 14 mm; la longitud de la oreja desde la muesca de 22-21.8 mm. El pelaje es de color café oscuro dorsalmente sin un cambio marcado de color en la cabeza y la nuca. Ventralmente en la región pectoral y abdominal, la porción basal del pelaje es marrón dando una apariencia de color café oscuro, las puntas del pelaje son de color pálido canela (Smith, 1972). Entre *P. p.*

mexicanus y *P. p. mesoamericanus*, esta última puede ser distinguida por presentar un tamaño más grande tanto en el cuerpo como en el cráneo, el color de *P. p. mesoamericanus* es más oscuro en promedio que el de *P. p. mexicanus*. La zona de intergradación entre las dos subespecies se da al Norte de Chiapas, Tabasco y Sur de Veracruz. Smith (1972) menciona, que el flujo génico entre las dos subespecies probablemente decreció debido a condiciones ecológicas a través del Sur de la costa del Pacífico del Istmo de Tehuantepec (Smith, 1972).



Figura 3. Distribución de *Pteronotus parnellii* y sus subespecies basado en Smith (1972): 1) *P. p. fuscus*; 2) *P. p. gonavensis*; 3) *P. p. mesoamericanus*; 4) *P. p. mexicanus*; 5) *P. p. paraguayensis*; 6) *P. p. parnellii*; 7) *P. p. portoricensis*; 8) *P. p. pusillus* y 9) *P. p. rubiginosus* [tomado de Herd (1983)].

4. Estudios moleculares

Kennedy *et al.* (1999) utilizaron secuencias del gen *citocromo b* para evaluar las relaciones entre 34 especies de murciélagos incluyendo a *Mormoops megalophylla*, *Pteronotus parnellii* y *Pteronotus davyi*, sugiriendo que la familia Mormoopidae no era monofilética. En contraste Van Den Bussche y Hooper (2002) utilizaron secuencias de los genes mitocondriales *12S* y *16S* de 11 noctilionidos y 17 especies más como grupo externo. Los análisis de parsimonia soportaron la monofilia de la familia Mormoopidae representada por *Mormoops megalophylla* y *Pteronotus parnellii*.

Lewis-Oritt *et al.* (2001), con base en los genes citocromo *b* y *RAG2* evaluaron las relaciones intragenéricas e intraespecíficas dentro de la familia Mormoopidae. Los resultados arrojaron la existencia de cuatro subgéneros: *Phyllodia* (*P. parnellii*), *Pteronotus* (*P. davyi* y *P. gymnonotus*), *Chilonycteris* (*P. quadridens* y *P. macleayii*) y un subgénero que hasta ese momento no se había descrito (*Pteronotus personatus*). Los análisis mostraron además, que *Pteronotus parnellii* es la especie más divergente dentro del género *Pteronotus*.

Dávalos (2006) al evaluar la diversificación de la familia Mormoopidae con marcadores moleculares *12S*, *ARNtval*, *16S*, citocromo *b* y *RAG2*, propone que las divergencias entre las poblaciones de las Antillas y Centroamérica son mayores que las registradas entre México/América Central y Sudamérica, sugiriendo que los mormópidos se diversificaron en el Norte de los neotrópicos (Sur de México, América Central y/o las Antillas Mayores) antes de entrar a Sudamérica.

Guevara-Chumacero *et al.* (2010) utilizaron datos de la región control (RC) mitocondrial para determinar los patrones filogeográficos de *Pteronotus davyi* en México a

partir de 105 especímenes de 18 poblaciones. Los autores proponen la presencia de dos refugios pleistocénicos en el sur de México y una separación de las poblaciones del Sureste de México con respecto a las de las planicies del Pacífico y Golfo de México promovida por la presencia del Istmo de Tehuantepec como barrera geográfica.

Guevara-Chumacero *et al.* (2013) con base en la región control (RC) mitocondrial, proponen la presencia de tres unidades de manejo para la especie (Golfo Norte, Pacífico-Veracruz y Sureste) e identifican además ocho poblaciones prioritarias para su conservación con base en la diversidad genética y la alta proporción de haplotipos únicos.

Clare *et al.* (2011), con base en el marcador citocromo *c* oxidasa sub-unidad I (*COI*), proponen la existencia de cuatro linajes dentro de *Pteronotus parnellii*, un linaje alopátrico en Centro América y tres simpátricos en Sudamérica (Guyana).

Los marcadores moleculares *COI*, *DBY* y *RAG2*, soportan la ausencia de flujo génico, un alto grado de aislamiento reproductivo y divergencia, que sugiere la existencia de cuatro linajes para *P. parnellii* en Centro y Sur de Sudamérica; además de proponer una zona potencialmente simpátrica en el país de Guyana (Clare *et al.*, 2013), pero sin tomar en cuenta las poblaciones distribuidas en el Centro y Norte de México.

JUSTIFICACIÓN

México es un país megadiverso que ocupa el cuarto lugar mundial en diversidad de mamíferos (Mittermeier y Goettsch Mittermeier, 1997) con 450 especies (Ramírez-Pulido *et al.*, 1996). Uno de los grupos con mayor número de especies y endemismos es el orden Chiroptera (Escalante *et al.*, 2003), con 140 especies de murciélagos. Sin embargo a pesar de la gran riqueza de este orden los estudios genéticos son escasos, y pocos se enfocan a la variabilidad genética de las especies, cuya importancia como componente de la diversidad y base de la evolución pueden revelar la historia evolutiva del grupo, la descripción de nuevas especies para el orden (Juste *et al.*, 2009) así como brindar datos útiles sobre la distribución de la variación genética y la velocidad con la que ésta se pierde, y aportar datos para generar estrategias de conservación (Piñero *et al.*, 2008b).

El área de distribución de los mormóopidos mexicanos se localiza dentro de una de las regiones biológicas más complejas del mundo, la cual ha generado patrones de estructuración genética diferenciados en especies que se distribuyen parcial o totalmente dentro de ésta. Debido a su ubicación latitudinal, en ésta área se sobreponen y entrelazan dos grandes regiones biogeográficas, la Neártica y la Neotropical. A esta condición se suman eventos climáticos históricos que incluyen fluctuaciones ambientales, una historia biogeográfica y geológica compleja que comprende el origen de una extensa y accidentada orografía que han influido en los altos niveles de diversificación y endemismo para múltiples taxones, y que involucra eventos de intercambio biótico y extensa diversificación *in situ* (Conabio, 2000; Escalante *et al.*, 2003; León-Paniauga *et al.*, 2007; Morrone, 2010).

Las relaciones intraespecíficas del murciélago bigotudo de Parnell (*Pteronotus parnellii*) en México no han sido evaluadas, por lo tanto, los datos generados en el presente trabajo permitirán determinar los patrones de estructuración genética entre sus poblaciones,

cuantificar la magnitud y describir la distribución geográfica actual de la diversidad genética de sus poblaciones, así como sentar la base de futuros estudios para describir la historia evolutiva de la especie.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿En que magnitud se presenta y cómo se distribuye geográficamente la variabilidad genética dentro y entre las poblaciones de *Pteronotus parnellii*?

¿Cuál será el grado de diferenciación genética entre las poblaciones geográficamente distantes?

¿Los sistemas montañosos ubicados a lo largo del área de distribución de *P. parnellii* en México funcionan como barreras físicas al flujo génico?

OBJETIVOS

1. Objetivo general

Describir los patrones de diversidad y estructura genética de *Pteronotus parnellii* (Chiroptera: Mormoopidae) en México

2. Objetivos particulares

- ❖ Analizar y describir como se distribuye geográficamente la diversidad nucleotídica y haplotípica de las poblaciones y proponer diferentes escenarios evolutivos
- ❖ Describir la estructura genética dentro y entre las poblaciones
- ❖ Inferir si los principales sistemas montañosos del país funcionan como barreras físicas al flujo génico

HIPÓTESIS

Si los principales sistemas orográficos de México han funcionado históricamente como barreras efectivas al flujo génico entre las poblaciones de *Pteronotus parnellii*, entonces, aquellas poblaciones separadas por estos sistemas presentan un alto nivel de diferenciación genética, y por lo tanto, evidencia de un mayor número de linajes para la especie, similar a lo reportado para Centro y Sudamérica.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Colecta de muestras

Se visitaron 21 localidades representativas dentro del área de distribución de *Pteronotus parnellii* en México (Tabla 2; Figura 4). La captura se realizó mediante redes de arpa en la boca de cada una de las cuevas activadas en la tarde-noche durante aproximadamente 4-5 horas. La identificación de esta especie en el campo se efectuó con ayuda de las claves de Medellín *et al.* (1997). La toma de la muestra se realizó mediante una biopsia de la membrana alar de 3mm de diámetro con un sacabocado (biopsy-punch). Las biopsias se guardaron en tubos para microcentrífuga previamente etiquetados y se conservaron en etanol al 70%. Se registró el sexo, peso y la longitud del antebrazo de cada uno de los organismos y posteriormente fueron liberados. Las muestras conservadas se trasladaron para su resguardo al laboratorio de Biología y Ecología de Mamíferos en el Departamento de Biología en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Tabla 2. Localidades de colecta de *Pteronotus parnellii* en México. Se presenta el nombre de la localidad (acrónimo), ubicación, altitud, localización geográfica y tamaño de muestra (n) en cada una de las cuevas.

Localidad	Estado	Altura (msnm)	Coordenadas Geográficas	N
Planicie del Pacífico y Depresión del Balsas				
El Tigre (TI)	Sonora	508	29°34.527'N, 110°49.192'O	10
Frontera (FR)	Sinaloa	630	23°25.188'N, 105°54.615'O	10
El Rosario (RO)	Sinaloa	100	23°04.326'N, 105°58.039'O	16
Amatlán (AM)	Nayarit	810	20°48.462'N, 104°23.546'O	8
La Tigra (TGA)	Nayarit	25	21°13.106'N, 105°09.97'O	10
Los Ortices (OR)	Colima	270	19°04.81'N, 103°43.59'O	17
Mina América (MA)	Morelos	913	18°37.733'N, 99°9.617'O	7
Justlahuaca (JU)	Guerrero	960	17°25.683'N, 99°8.824'O	8
Piaxtla (PX)	Puebla	1158	18°11.316'N, 98°16.875'O	10
San Sebastián (SE)	Oaxaca	1712	16°37.830'N, 96°58.140'O	9
Lázaro Cárdenas (LC)	Oaxaca	263	16°55.400'N, 95°15.210'O	8
Tapanatepec (TA)	Oaxaca	59	16°22.151'N, 94°11.670'O	9
San Francisco (FO)	Chiapas	1400	16°5.896'N, 92°02.751'O	10
Planicie del Golfo de México y Sureste				
Troncones (TR)	Tamaulipas	450	23°46.33'N, 99°12.29'O	10
Ciudad Valles (CV)	S.L.P	42	21°56.11'N, 98°53.16'O	8
Arroyo del Bellaco (ABE)	Veracruz	227	19°13.32'N, 96°38.34'O	11

Agua Blanca (AB)	Tabasco	117	17°37.204'N, 92°28.349' O	9
Calakmul (CA)	Campeche	205	18°31.373' N, 89°49.422' O	10
Bolonchén (BO)	Campeche	120	19°59.424' N, 89°45.837' O	5
Kantemó (KO)	Q. Roo	39	19°55.846' N, 88°47.460' O	5
P. A. de los Santos (PA)	Q. Roo	10	18°57.558' N, 88°12.351' O	10
Total				200

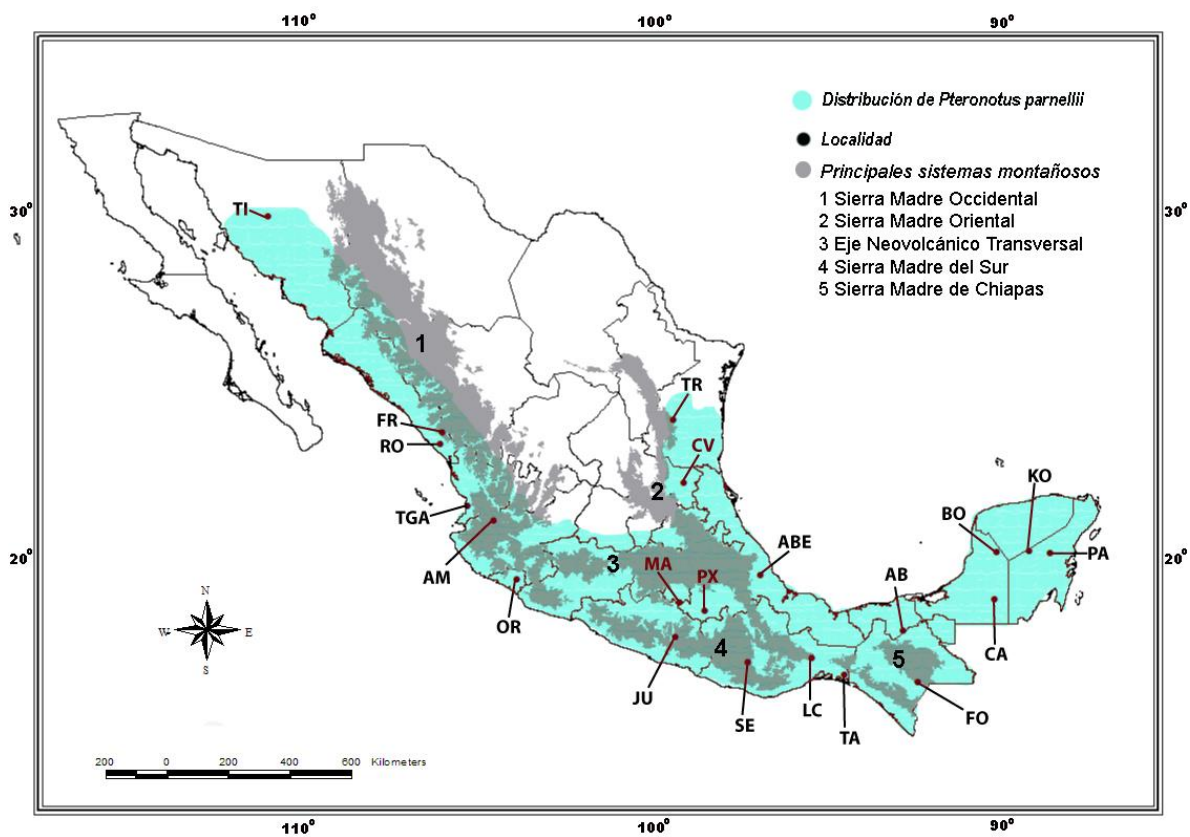


Figura 4. Sitios de colecta de las poblaciones de *Pteronotus parnellii*. En color verde se muestra la distribución geográfica de la especie y en gris los principales sistemas montañosos. Los acrónimos de las localidades se presentan en la Tabla 2.

2. Extracción de ADN, amplificación y secuenciación del dominio HVII de la región control mitocondrial

El ADN genómico fue extraído de los tejidos membranosos mediante el estuche comercial Wizard® SV Genomic DNA Purification System (PROMEGA) de acuerdo con el protocolo sugerido por el fabricante (Anexo 1). Para estimar la calidad y la amplificación de las muestras, se realizó una electroforesis en geles de agarosa al 0.8% (Anexo 2), posteriormente se cuantificó su concentración y el grado de pureza en un espectrofotómetro NanoDrop™2000-Thermo Scientific (Anexo 3).

Se amplificó el dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial por PCR, usando los cebadores L16517 (5'-CAT CTG GTT CTT ACT TCA GG-3') y PdHSCb (5'-TGT TTT AGG GGT TTG GCA-3') (Figura 1) diseñados por Fumagalli *et al.* (1996) para amplificar aproximadamente 700 pb (Anexo 4). Se empleó el estuche comercial PCR Master mix (M7502-PROMEGA) de acuerdo al protocolo sugerido por el fabricante. Cada reacción se realizó a un volumen final de 25 µl conteniendo: 9.6 µl de ddH₂O, 12.5 µl de PCR Master Mix, 0.7 µl de cada primer o cebador y 1.5 µl de templado con al menos 10 ng/µl de ADN genómico. Los ciclos de temperatura consistieron de un ciclo de 94°C 45s; 35 ciclos a 94°C 30s, 62°C 30s, 72°C 70s; y un ciclo final a 72°C 4min, se utilizó un termociclador PXE 0.2 Thermo Cycler (Thermo Electron Corporation). Los productos amplificados fueron purificados mediante el estuche comercial Amicon Ultra-0.5 mL Centrifugal Filters for DNA Purification and Concentration - UFC503096 (Millipore) de acuerdo al protocolo sugerido por el fabricante (Anexo 5). Los productos purificados fueron sometidos a una electroforesis en geles de agarosa al 0.8% y fotodocumentados en un equipo Gel Logic 2200 Pro (Carestream).

La reacción de secuenciación se llevó a cabo con Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer) de acuerdo con el protocolo sugerido por el fabricante. El producto se purificó en columnas Centri Sep (Invitrogen) con sephadex. Las muestras fueron secuenciadas automáticamente en sentido 3'-5' y 5'-3' en el equipo ABI PRISM 3130XL (Applied Biosystems Hitachi) ubicado en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular (LDBM) de la UAM-Iztapalapa.

3. Edición y alineamiento de las secuencias

Se obtuvieron 200 secuencias del dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial de *Pteronotus parnellii* [~700 pares de bases (pb)]. Cada una de éstas fue sometida a un análisis BLASTN (Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide por sus siglas en Inglés) (Altschul *et al.*, 1990) en el banco de datos National Center for Biotechnology Information (NCBI GenBank). Posteriormente fueron alineadas en una matriz con el algoritmo Clustal W mediante el programa Geneious® R6 V. 6.0.1 (Biomatters, Ltd) y analizadas visualmente. En este trabajo se utilizó un fragmento de 271 pares de bases, ya que a partir de la posición 272 se identificó una región de 10 repeticiones en tándem (GTGCACACACCCACGT) con ausencia de polimorfismo.

4. Diversidad y estructura genética

La diversidad nucleotídica (π) y haplotípica (h) así como el número de sitios polimórficos (s) para cada población fueron calculados mediante el programa DNAsp V 5.0 (Librado y Rozas, 2009).

Para determinar el nivel de estructura genética entre poblaciones se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) en el programa Arlequin V.3.5 (Excoffier *et al.*, 2010). Debido a que no se empleó algún criterio *a priori* para definir grupos de poblaciones para identificar el nivel de diferenciación entre éstas, se realizó un Análisis Espacial de Varianza Molecular (Spatial Analysis of Molecular Variance - SAMOVA) en el programa SAMOVA V 1.0 (Dupanloup *et al.*, 2002). Este método maximiza la proporción de varianza genética debido a diferencias entre un número de grupos definidos (K) y asigna localidades a grupos, considerando que éstas deben ser geográficamente adyacentes y genéticamente homogéneas (Dupanloup *et al.*, 2002). Se utilizó un número de grupos entre $K=2$ hasta $K=6$ y se calculó la significancia estadística con 1000 permutaciones. El flujo génico (Nm) entre poblaciones y entre grupos de acuerdo a Hudson *et al.*, (1992) y con base en el modelo de islas (Hudson *et al.*, 1992) fue calculado en el programa DNAsp V 5.0 (Librado y Rozas, 2009). Las distancias genéticas entre individuos, poblaciones y grupos de poblaciones fueron estimadas por el método de Tamura y Nei (1993) en el programa MEGA V. 5.05 (Tamura *et al.*, 2011). Para evaluar la correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas, se empleó el programa Mantel 2.0 (Liedloff, 1999). Las distancias geográficas (en Km) fueron calculadas dentro del programa ArcView V. 3.2. (ESRI, 1999), tomando en cuenta la presencia de los extensos sistemas montañosos a lo largo del área de distribución de *Pteronotus parnellii* en México.

5. Relaciones toco genéticas e historia demográfica

Para evaluar las relaciones genealógicas entre haplotipos y su distribución geográfica con el fragmento del dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial, se construyó una red de haplotipos mediante el método Median-Joining (Bandelt *et al.*, 1999) implementado en el programa Network V.4.6.1 (<http://www.fluxus-engineering.com/index.htm>). Para inferir eventos relacionados con la historia demográfica de *Pteronotus parnellii*, se utilizó la distribución de desigualdad de pares de bases (“mismatch” distribution) que es la frecuencia observada de las diferencias entre pares de haplotipos. El análisis se efectuó a nivel general y a nivel de cada grupo poblacional (PN-DB y GS). El ajuste entre la distribución observada y la esperada fue probada usando el índice de Raggedness (Harpending, 1994).

El análisis toco genético entre haplotipos se realizó con el método Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) y el modelo de Tamura y Nei (1993) en el programa PAUP v4.0b10 (Swofford, 2002). El apoyo interno de los clados se evaluó mediante un análisis de Bootstrap con 10,000 réplicas. Para cada análisis se utilizó a *Pteronotus personatus* (Smith, 1972) y *Artibeus jamaicensis* (Van Den Bussche y Hooper, 2004) como grupos externos.

RESULTADOS

1. Trabajo de campo

Se colectaron un total de 200 muestras de *Pteronotus parnellii* provenientes de 21 localidades representativas de su área de distribución en México (ver Figura 4).

2. Patrones generales de variación en las secuencias

El porcentaje en la composición de los 271 pares de bases del dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial resultó en: A: 26.8%, C: 22.8%, G: 25.7% y T: 24.7%. El número de sitios idénticos entre secuencias fue de 224 (82.7%) y el de sitios variables (polimórficos) fue de 47 (17.3%) (Anexo 6). Se detectaron un total de 79 haplotipos, 50 únicos y 29 presentes en más de un individuo. Todos los haplotipos fueron designados con la letra H seguido de su número correspondiente, donde la frecuencia está representada por el número total de individuos que presenta ese haplotipo en cada una de las localidades (Anexo 7). Las poblaciones con el mayor número de haplotipos fueron: TGA, Nay. (9); PX, Pue. (9); CA, Camp. (10) y PA, QR. (9); mientras que las poblaciones que presentaron el menor número fueron: TI, Son. (3); TR, Tamps. (3); AM, Nay. (4); CV, SLP. (4); JU, Gro. (4) (Figura 5). El haplotipo H12 (AM-Nay.) fue el que presentó la frecuencia haplotípica más alta lo que representa el 15.5% (n=31) de la población total (Anexo 7). Este haplotipo se encuentra compartido entre las poblaciones de: TI, Son. (n=8); FR, Sin. (n=5); RO, Sin. (n=11); TGA, Nay. (n=1); AM, Nay. (n=3) y OR, Col. (n=3), localidades pertenecientes a la planicie del Pacífico Norte (Figura 5). Los haplotipos H9 (n=10); H10 (n=7) y H11 (n=10) predominan en las localidades de: TR, Tamps; CV, SLP. y ABE, Ver. pertenecientes a la planicie del Golfo de México (Figura 5). Hacia el Centro del país, se localizan aquellos haplotipos con frecuencias intermedias y ≥ 2 , en cuyo caso los haplotipos H15 (n=12) y H32 (n=8) fueron los que presentaron las frecuencias más altas.

Hacia el Sur del país se localizan gran parte de los haplotipos únicos, principalmente en las localidades del Sureste: CA, Camp. (n=6) y PA, QR. (n=5), y al Suroeste en la localidad de TA, Oax. (n=5) (Figura 5).

Mediante un mapa de distribución de haplotipos y sus frecuencias, se identificó un patrón que muestra un aumento en la diversidad de haplotipos en sentido Norte-Sur, desde las planicies del Pacífico y Golfo de México hacia el Sureste y Suroeste del País (Figura 5).

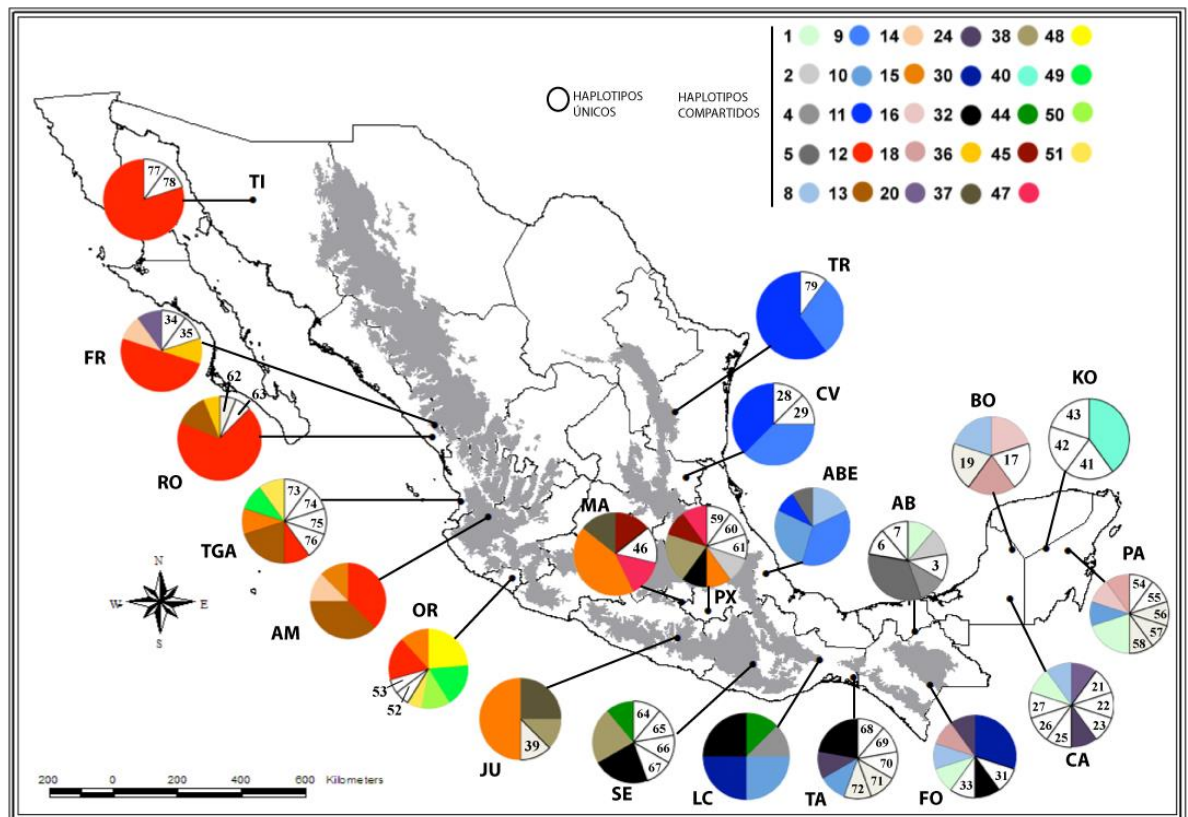


Figura 5. Distribución y frecuencia haplotípica del dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial de *Pteronotus parnellii*. Los haplotipos compartidos (presentes en más de una población) se indican con colores. Los haplotipos únicos se muestran de color blanco con su número de haplotipo correspondiente (ver Anexo 7).

3. Diversidad haplotípica

La diversidad haplotípica (h) promedio que representa el número y frecuencia de haplotipos fue de 0.961 para las 21 localidades de colecta, con un intervalo de 0.38 - 1.00 (Tabla 3). La diversidad haplotípica en las poblaciones más noroñas [TI, Son. ($h=0.38$); RO, Sin. ($h=0.53$) y TR, Tamp. ($h=0.60$)] fue aproximadamente la mitad de la diversidad haplotípica que presentan las poblaciones del Centro y el Sureste [PX, Pue. ($h=0.98$); CA, Camp. ($h=1.0$) y BO, Camp. ($h=1.0$)] del país. Con base en lo anterior se observó un aumento gradual de la diversidad haplotípica latitudinalmente en sentido Norte-Sur (Tabla 3).

4. Diversidad nucleotídica

La diversidad nucleotídica (π) promedio que refleja la frecuencia de haplotipos y la divergencia de las secuencias entre todos los haplotipos fue de 0.033 para las 21 localidades, con un intervalo de 0.0014-0.0517. Una disminución en la diversidad nucleotídica en las poblaciones del Norte [TI, Son. ($\pi=0.0014$); RO, Sin. ($\pi=0.0026$) y AM, Nay. ($\pi=0.0038$)] con respecto a las poblaciones del Sureste [BO, Camp. ($\pi=0.0517$); KO ($\pi=0.0465$) y PA, QR. ($\pi=0.0454$)] también fue evidente, ya que los valores de π incrementan latitudinalmente en sentido Norte-Sur. Sin embargo, cabe mencionar que los valores más bajos se presentan en las poblaciones ubicadas al Norte de la planicie del Pacífico (Tabla 3).

Tabla 3. Índices de diversidad genética para las 21 poblaciones de *P. parnellii* en México. Se representa el tamaño de la muestra (n), el número de haplotipos (k), número de sitios polimórficos (s), la diversidad haplotípica de Nei (h) y la diversidad nucleotídica (π) de las 200 secuencias mitocondriales.

Localidad	Estado	n	k	S	h	π
Planicie del Pacífico y Depresión del Balsas						
El Tigre (TI)	Sonora	10	3	2	0.38	0.0014
Frontera (FR)	Sinaloa	10	6	6	0.78	0.0080
El Rosario (RO)	Sinaloa	16	5	4	0.53	0.0026
Amatlán de Cañas (AM)	Nayarit	8	4	3	0.79	0.0038
La Tigra (TGA)	Nayarit	10	9	7	0.98	0.0080
Los Ortices (OR)	Colima	17	8	9	0.90	0.0097
Mina América (MA)	Morelos	7	5	4	0.86	0.0060
Piactla (PX)	Puebla	10	9	18	0.98	0.0217
Justlahuaca (JU)	Guerrero	9	4	5	0.75	0.0053
San. Sebastián (SE)	Oaxaca	9	7	19	0.94	0.0282
Lázaro Cárdenas (LC)	Oaxaca	8	5	21	0.89	0.0312
Tapanatepec (TA)	Oaxaca	9	8	31	0.97	0.0420
Sn. Francisco (FO)	Chiapas	10	8	28	0.93	0.0399
Planicie del Golfo de México y Sureste						
Los Troncones (TR)	Tamaulipas	9	3	10	0.60	0.0185
Ciudad Valles (CV)	S.L.P	8	4	16	0.79	0.0248
Arroyo del Bellaco (ABE)	Veracruz	11	5	22	0.82	0.0304
Agua Blanca (AB)	Tabasco	9	7	22	0.92	0.0394
Calakmul (CA)	Campeche	10	10	27	1.00	0.0432
Bolonchén (BO)	Campeche	5	5	25	1.00	0.0517
Kantemó (KO)	Q. Roo	5	4	22	0.90	0.0465
Pedro A. de los Santos (PA)	Q. Roo	10	9	28	0.98	0.0454
Total					0.961	0.033

Estructura genética

Coefficientes de variación

El resumen de resultados para los estadísticos F , la fuente de variación, la suma de cuadrados, el porcentaje de variación y la probabilidad asociada se presentan en la Tabla 4.

5. Índice de diferenciación genética

El análisis de varianza molecular (AMOVA) indicó que la mayor proporción de varianza genética se debe a diferencias entre individuos dentro de las poblaciones (64.5%) y únicamente el 33.6% ocurre entre las poblaciones. La magnitud de la diferenciación genética promedio entre poblaciones indicó un nivel moderado de estructura genética ($F_{ST}=0.336$, $P<0.05$; intervalo -0.003 a 0.709, ver Anexo 8).

6. Varianza genética debida a las diferencias entre grupos de poblaciones

Debido a que la diferenciación genética no fue homogénea entre las 21 localidades, se consideró tratarlas en grupos (K) tanto genética como geográficamente homogéneos. El resultado de SAMOVA indicó que la varianza total es mayor cuando el número de grupos (K) es igual a dos ($K=2$, $F_{CT}=0.395$, Tabla 4). El primer grupo fue designado como: Grupo Pacífico Norte y Depresión del Balsas (PN-DB) cuyas poblaciones se ubican a lo largo de la planicie del Pacífico y también penetran al Centro del país a través de la depresión del Balsas. El segundo grupo se denominó Grupo Golfo-Sur (GS) cuyas poblaciones se localizan a lo largo de la planicie del Golfo de México, Sureste y el Sur del país (Figura 6).

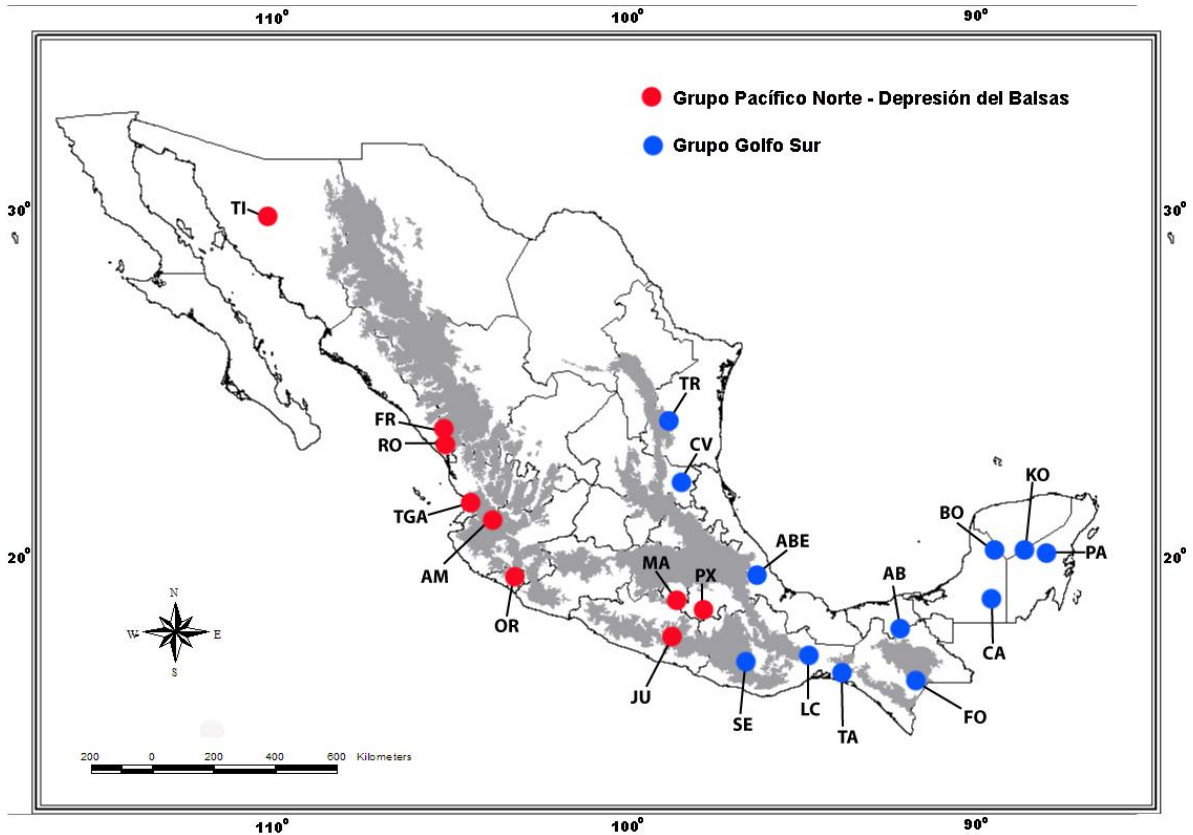


Figura 6. Estructura genética/geográfica de *Pteronotus parnellii* en México definida por el análisis SAMOVA. En color rojo se representan las localidades que conforman al Grupo Pacífico Norte-Depresión del Balsas (PN-DB) y de color azul las pertenecientes al Grupo Golfo Sur. Los acrónimos de las localidades se presentan en la Tabla 2.

7. Índice de diferenciación genética entre grupos

Un segundo análisis AMOVA indicó un mayor nivel de diferenciación entre los grupos PN-DB vs. GS ($F_{ST(PN-DB \text{ vs. GS})} = 0.465, P < 0.05$). El grupo PN-DB mostró un mayor nivel de estructura genética ($F_{ST(PN-DB)} = 0.192, P < 0.05$) con respecto al grupo GS ($F_{ST(GS)} = 0.060, P < 0.05$, Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de los análisis de varianza molecular (AMOVA y SAMOVA) realizados para el dominio hipervariable HVII de la región control del ADNmt. Entre poblaciones (EP), dentro de las poblaciones (DP), entre grupos (EG) y entre poblaciones dentro de grupos (EPDG) (* $P < 0.05$).

Grupo	Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Componente de variación	Porcentaje de Variación	Índice
General	EP	364.336	1.572	33.60	F_{ST} 0.336*
	DP	529.548	2.86242	64.55	
	EG	230.5	2.25	39.53	
SAMOVA	EPDG	120.2	0.344	6.04	F_{CT} 0.395*
	DP	551.9	3.100	54.43	
GS vs	EP	236.604	2.30795	41.10	F_{ST} 0.465*
	EPDG	111.664	0.30460	5.42	
PN-DB	DP	537.592	3.00331	53.48	
GS	EP	83.164	0.31000	5.97	F_{ST} 0.060*
	DP	449.394	4.88471	94.03%	

PN-DB	EP	28.5	0.24183	19.26	F_{ST} 0.192*
	DP	88.198	1.01377	80.74%	

8. Flujo génico

El flujo génico estimado por el número de migrantes entre ambos grupos utilizando el modelo de islas de Hudson *et al.* (1992) fue menor a uno ($Nm_{PN-DB \text{ vs. GS}} = 0.67$). Sin embargo, la población de PX, Pue. del grupo PN-DB presentó valores de flujo génico mayores a uno con nueve de las doce poblaciones del grupo GS [(CV, SLP. (1.07); SE, Oax. (3.03); TA, Oax. (2.58); AB, Tab. (1.63); FO, Chis. (1.21); CA, Camp. (1.72); BO, Camp. (2.05); KO, Yuc. (1.52) y PA, QR. (1.15)]. También la población de OR, Col. presentó un valor de flujo génico mayor a uno con dos de las poblaciones del grupo GS [(TA, Oax. (1,0) y BO, Camp. (1.07))] (Anexo 9).

Los valores de flujo génico en el grupo PN-DB fueron variables con un intervalo de 0.4 - 64. Los valores más altos se presentaron entre poblaciones geográficamente cercanas [(OR, Col. vs. TGA, Nay. (52.0); TI, Son. vs. FR, Sin. (28.8); RO, Sin. vs. TI, Son. (16.8) y MA, Mor. vs. JU, Gro. (64.0)] mientras que los valores menores a uno se presentaron entre las poblaciones de: [(TI, Son. vs. MA, Mor. (0.4); TI, Son. vs. JU, Gro. (0.4); RO, Sin. vs. MA, Mor. (0.5); RO, Sin. vs. JU, Gro. (0.5); AM, Nay. vs. MA, Mor. (0.6); AM, Nay. vs. JU, Mor. (0.7)] (Anexo 9). Sin embargo, la localidad de PX, Pue. nuevamente presentó valores mayores a uno con todas las poblaciones del grupo PN-DB.

Los valores de flujo génico en el grupo GS resultaron en su mayoría diferentes de cero, con un intervalo de 1.12 - 86. Los valores más altos se presentaron entre las poblaciones de AB, Tab. vs. PA, QR. (86.0), ABE, Ver. vs. PA, QR. (81.6); AB, Tab. vs.

ABE, Ver. (38.0); ABE, Ver. *vs*. CV, SLP. (29.0). Únicamente entre las poblaciones de TR, Tamps. *vs* SE, Oax. el resultado fue menor a uno (0.93) (Anexo 9).

9. Distancias genéticas

Las distancias genéticas en el dominio HVII de la región control mitocondrial entre los grupos PN-DB *vs* GS fue alta (4.5%). Sin embargo, entre poblaciones fueron variables en un intervalo de 0.2 - 5.9%. El valor más alto se presentó entre las poblaciones de PA, QR. *vs* TI, Son. (5.9%) mientras que el menor fue entre las poblaciones de TI, Son. *vs* RO, Sin. (0.2%) (Anexo 10).

Dentro del grupo PN-DB, las distancias genéticas entre las poblaciones que lo conforman presentó un intervalo de 0.2 - 2%. Por ejemplo, entre las poblaciones de TI, Son., FR, Sin., RO, Sin., TGA, Nay., AM, Nay., OR, Col., MA, Mor. y JU, Gro. el intervalo fue de 0.2–1.1%, mientras que la población de PX, Pue. presentó los valores de divergencia más altos con las poblaciones de este grupo, con un intervalo de 1.7–2%.

Con respecto al grupo GS, las poblaciones que lo conforman presentaron un intervalo de similitud genética de 2.3 – 5.2%. El menor valor se presentó entre las poblaciones de TR, Tamps. *vs* CV, SLP. (2.3%), los valores más altos entre las poblaciones restantes se presentaron en un intervalo de 3.1 – 5.2% (Anexo 10).

De manera análoga, un patrón similar ocurre entre los individuos dentro de cada población. Por un lado, dentro de las poblaciones del grupo PN-DB los individuos presentaron mayor grado de similitud genética (Tabla 5). Por ejemplo, la población de TI, Son. presentó un intervalo entre 0 – 0.7%, n=10 (Anexo 11); sin embargo, la población de PX, Pue. presentó individuos con baja y alta diferenciación con un intervalo de 0-5.7%, n=10.

En contraste, dentro de las poblaciones del grupo GS los individuos presentaron distancias genéticas considerablemente variables. Por ejemplo, la población de PA, QR. (n=10) presentó individuos con baja diferenciación genética con un intervalo de 0 – 0.4% e individuos con alta diferenciación genética (intervalo: 8.1 – 11.4%) (Anexo 11).

Tabla 5. Intervalos y promedios de las distancias genéticas del dominio HVII entre los individuos de *Pteronotus parnellii* de cada localidad, de acuerdo al modelo de Tamura y Nei (1993).

Localidad	Estado	n	Intervalo %	Media
Grupo PN-DB				
El Tigre	Sonora	10	0 – 0.7	0.001
Frontera	Sinaloa	10	0 – 3.2	0.008
El Rosario	Sinaloa	16	0 – 0.8	0.002
Amatlán de Cañas	Nayarit	8	0 – 0.7	0.004
La Tigra	Nayarit	10	0 – 1.6	0.008
Los Ortices	Colima	17	0 – 1.9	0.01
Mina América	Morelos	7	0 – 1.5	0.006
Piaxtla	Puebla	10	0 – 5.3	0.023
Justlahuaca	Guerrero	9	0 – 1.6	0.004
Grupo GS				
San. Sebastián	Oaxaca	9	0 – 5.8	0.030
Lázaro Cárdenas	Oaxaca	8	0 – 6.6	0.034
Tapanatepec	Oaxaca	9	0 – 7.7	0.047
Sn. Francisco	Chiapas	10	0 – 8.1	0.045
Los Troncones	Tamaulipas	9	0 – 4.1	0.02
Ciudad Valles	S.L.P	8	0 – 6.2	0.027
Arroyo del Bellaco	Veracruz	11	0 – 9.2	0.034
Agua Blanca	Tabasco	9	0 – 8.6	0.045
Kalakmul	Campeche	10	0 – 9.2	0.049
Bolonchén	Campeche	5	0 – 9.8	0.06
Kantemó	Q. Roo	5	0 – 8.5	0.053
P. A. de los Santos	Q. Roo	10	0 – 11.4	0.053

10. Aislamiento por distancia

No se observó una correlación significativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre las poblaciones de *Pteronotus parnellii* incluidas en el estudio ($g = 0.8361$, $z = 148465.37$, $r = 0.055$, $P > 0.05$ con 1000 permutaciones, $R^2 = 0.084$) (Figura 7). Los resultados para el grupo GS ($g = -1.2319$, $z = 23117.29$, $r = -0.1528$, $P > 0.05$ con 1000 permutaciones, $R^2 = 0.007$) y PN-DB ($g = 0.2695$, $z = 563.494$, $r = 0.0713$, $P > 0.05$ con 1000 permutaciones, $R^2=0.004$) tampoco mostraron correlación alguna, por lo tanto, los tres casos anteriores no se ajustan al modelo de aislamiento por distancia ya que el modelo únicamente explica el 8.4, 0.7 y 0.4% de la variación respectivamente.

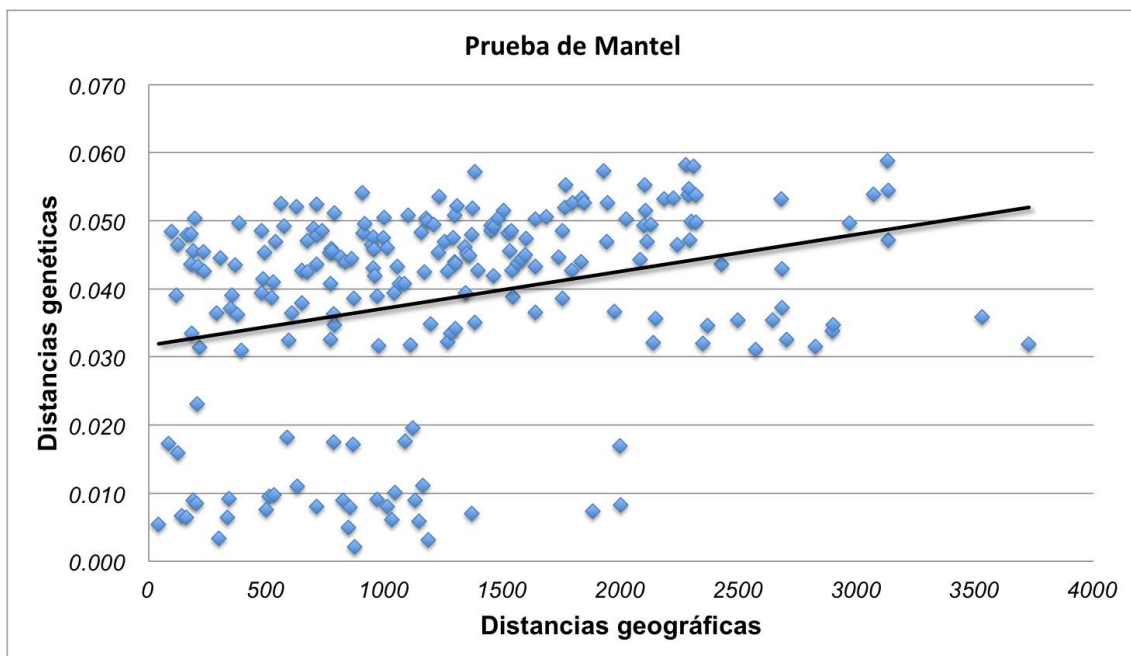


Figura 7. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas entre las poblaciones de *Pteronotus parnellii* para el dominio HVII de la región control.

11. Red de haplotipos

La red haplotípica presentó una serie de relaciones complejas entre los haplotipos. El número de pasos mutacionales entre los haplotipos es muy variable, ya que se observaron asociaciones desde un solo paso mutacional hasta seis (Figura 8). La configuración de la red muestra la presencia de tres haplogrupos designados como A, B y C, los cuales son consistentes con los análisis tocogénicos (ver Figura 12). De manera general la asociación entre haplotipos dentro de cada haplogrupo está dada por su proximidad geográfica (Anexo 12), sin embargo, algunos haplotipos mantuvieron una asociación con haplotipos de poblaciones lejanas, por ejemplo, los haplotipos H11* (Ver.) y H20* (Yuc.) (Figura 8).

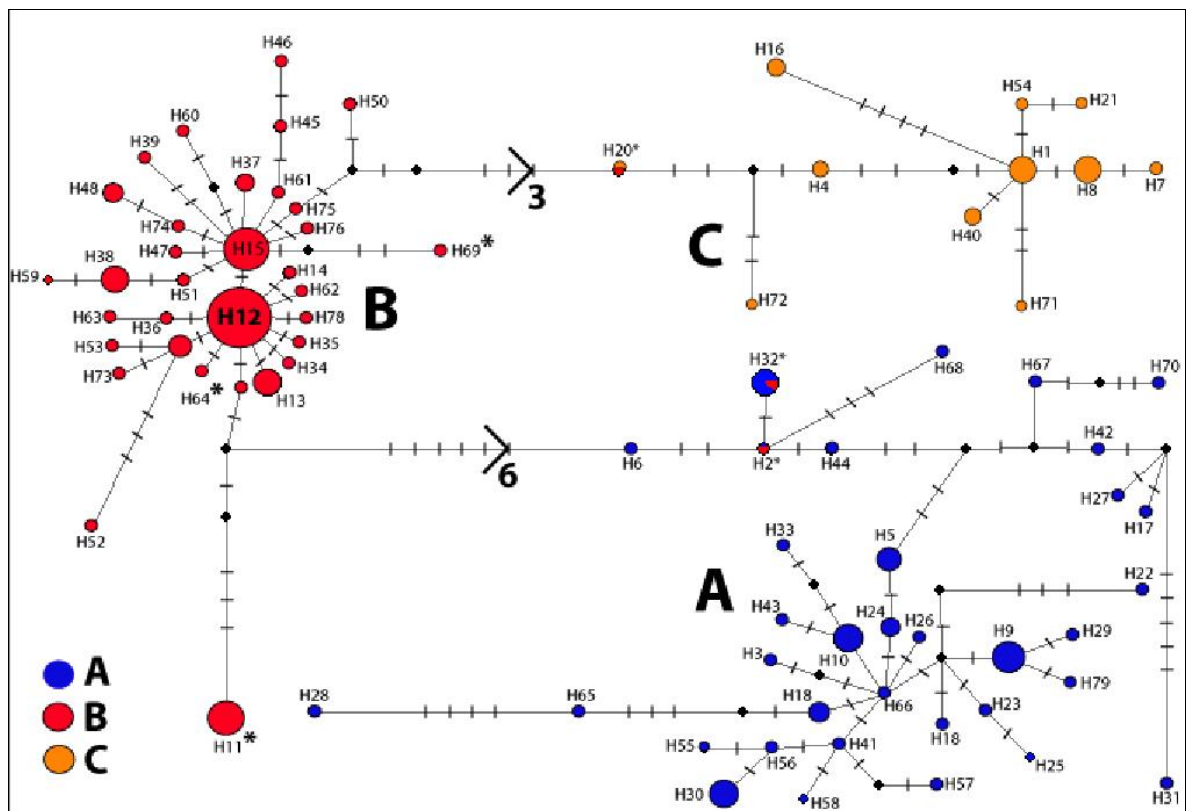


Figura 8. Red de los 79 haplotipos de *Pteronotus parnellii* de la región control mitocondrial, inferida con el criterio Median-joining con el programa Network. Cada línea

en la red representa un simple cambio mutacional. Cada haplotipo está representado por la letra H y su número correspondiente al costado. El tamaño de los óvalos representa las frecuencias haplotípicas. Los rombos de color negro representan haplotipos intermedios que no fueron muestreados (hipotéticos). En azul, rojo y anaranjado se presentan los haplotipos pertenecientes a los haplogrupos A, B y C respectivamente.

12. Distribución mismatch

La distribución mismatch para la población total presentó una distribución bimodal (Figura 9). Los valores del índice de Rugosidad ($r = 0.0065$) y la desviaciones de la suma de cuadrados [SDD] = 0.007, $P = 0.62$) no fueron significativos. Por lo tanto no se puede rechazar la hipótesis de expansión poblacional. A nivel de cada grupo de población, el grupo PN-DB presentó una distribución unimodal ($r = 0.034$, desviaciones de la suma de cuadrados [SDD] = 0.001, $P = 0.6$) (Figura 10), mientras que el grupo GS presentó una distribución multimodal ($r = 0.0095$, desviaciones de la suma de cuadrados [SDD] = 0.005, $P = 0.5$), sin embargo, ambos fueron consistentes con el modelo de expansión poblacional (Figura 11).

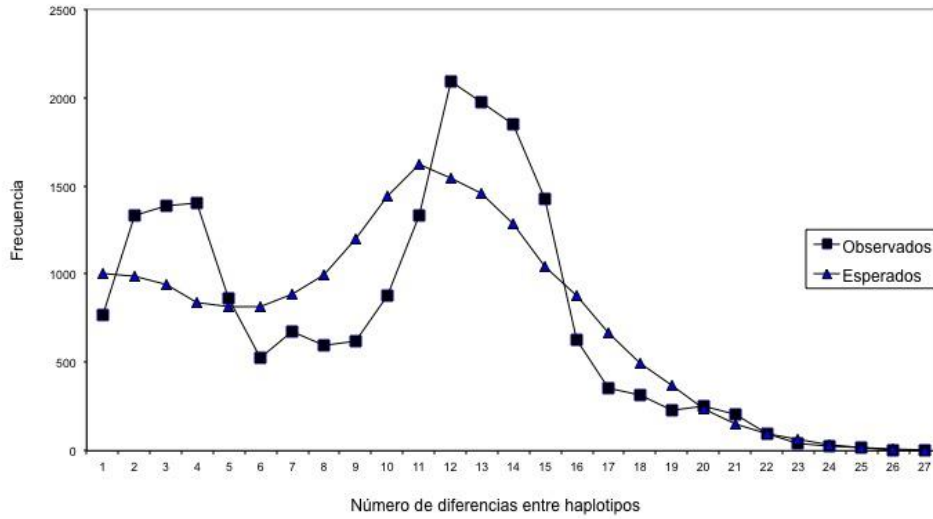


Figura 9. Distribución mismatch de todos los haplotipos de *Pteronotus parnellii*. Las líneas con cuadros indican la distribución observada y las líneas con triángulos indican la distribución esperada bajo un modelo de expansión.

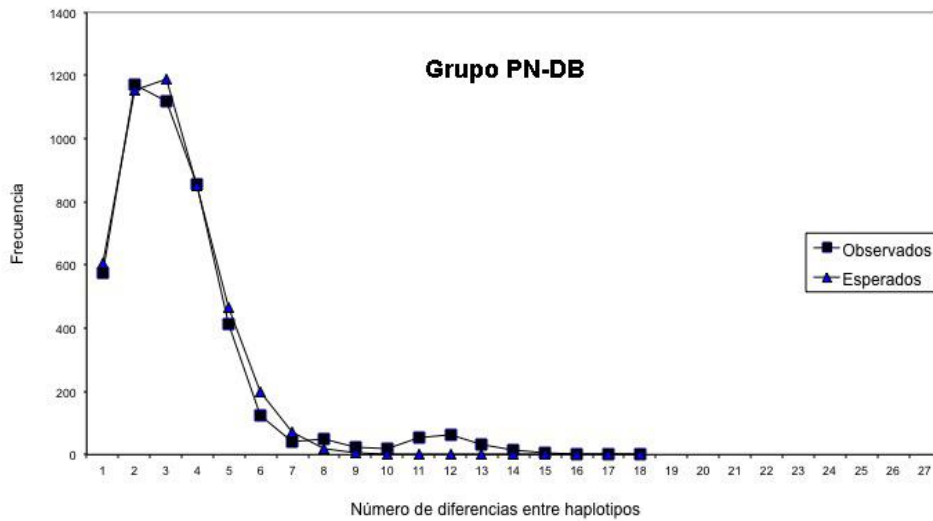


Figura 10. Distribución mismatch de los haplotipos pertenecientes al grupo PN-DB de *Pteronotus parnellii*. Las líneas con cuadros indican la distribución observada y las líneas con triángulos indican la distribución esperada bajo un modelo de expansión.

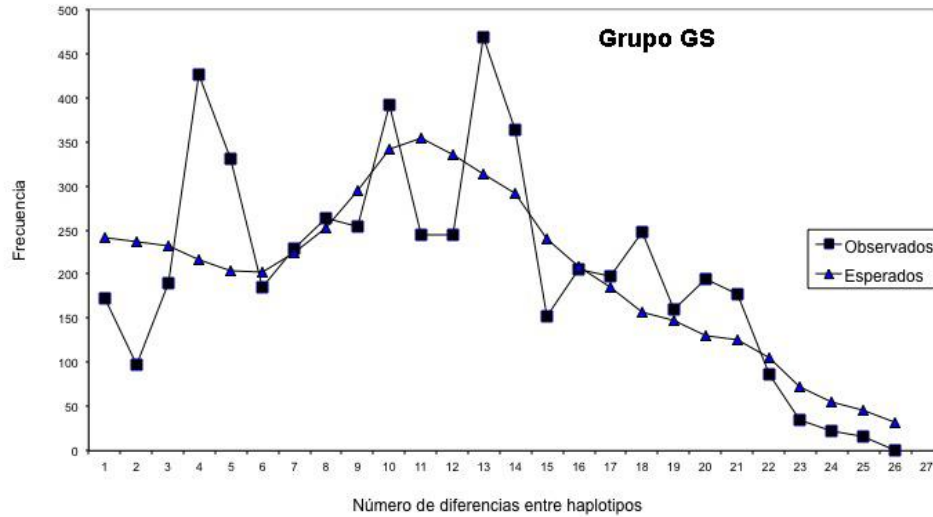


Figura 11. Distribución mismatch de los haplotipos pertenecientes al grupo GS de *Pteronotus parnellii*. Las líneas con cuadros indican la distribución observada y las líneas con triángulos indican la distribución esperada bajo un modelo de expansión.

12. Análisis toco genético

El análisis toco genético de distancias entre los 79 haplotipos de *P. parnellii* resolvió una topología que muestra la presencia de dos clados (I y II) cuyos valores de soporte fueron I=53% y II=73% respectivamente. El clado I está integrado por 35 haplotipos pertenecientes al grupo GS. El clado II incluye 30 haplotipos del grupo PN-DB y 14 haplotipos del grupo GS (Figura 9).

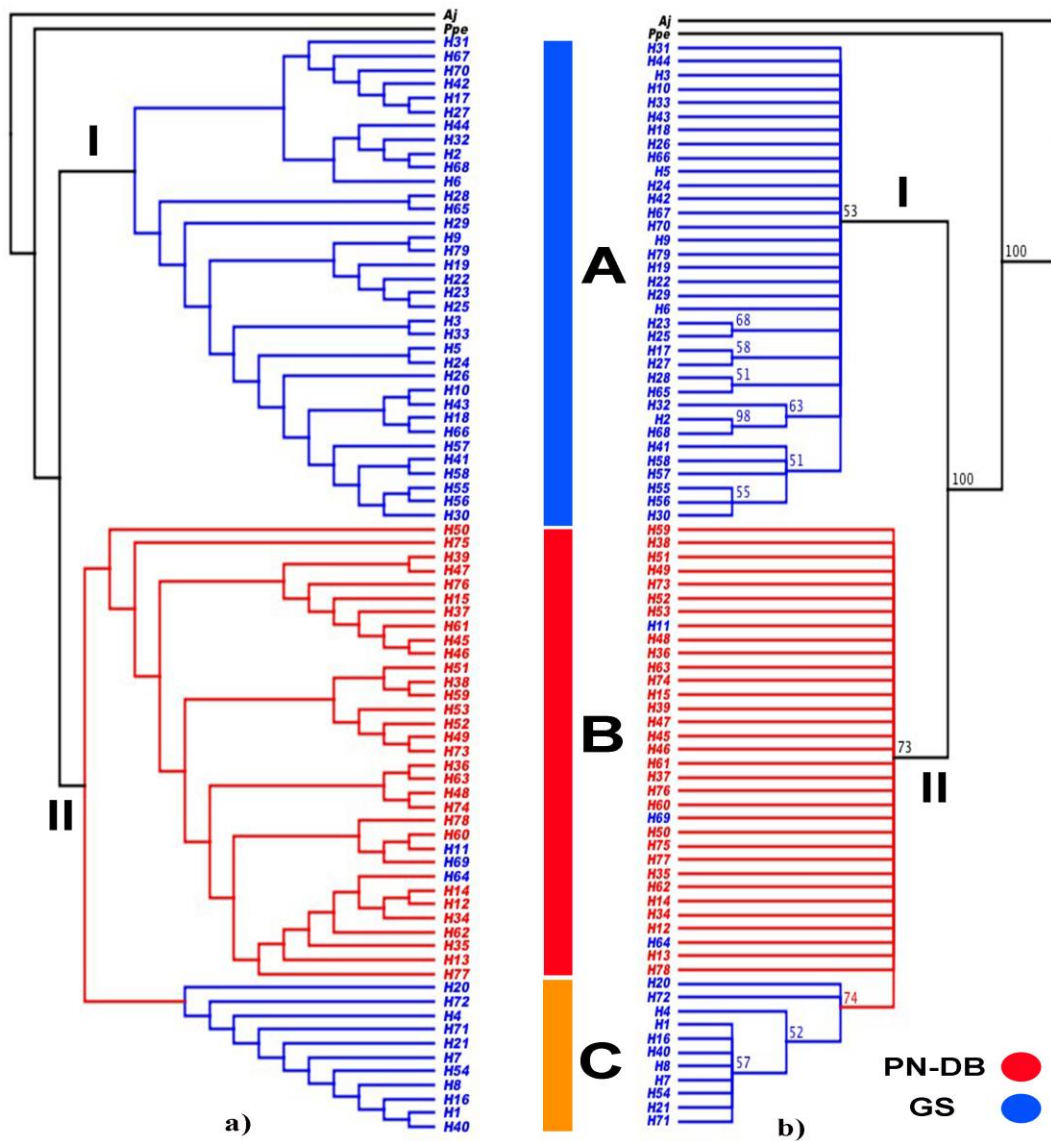


Figura 12. Cladograma neighbor-joining de los 79 haplotipos de *Pteronotus parnellii*, empleando el modelo de Tamura y Nei (1993) utilizando como grupos externos a *Pteronotus personatus* y *Artibeus jamaicensis* (AF061340). a) Árbol de distancias. b) Árbol consenso con 10,000 réplicas de Bootstrap. Los números ubicados arriba de las ramas corresponden a los valores de soporte de Bootstrap (>50). Los números I y II representan los clados principales. Las barras verticales de color, indican la distribución de los haplotipos en tres haplogrupos indicados con las letras A (Azul), B (Rojo) y C

(Anaranjado). Las ramas de color rojo representan los haplotipos de grupo PN-DB, las ramas de color azul a los haplotipos del grupo GS.

El clado I que incluye al haplogrupo A presenta una distribución que abarca desde el Norte de la planicie del Golfo de México, el Sur y Sureste del país. El clado II que incluye al haplogrupo B y C, se distribuye desde el Norte de la planicie del Pacífico penetrando hacia la Depresión del Balsas extendiéndose hacia la región central del Golfo de México en el estado de Veracruz y del Sur de Oaxaca hacia la Península de Yucatán (Figura 13). Se observó además que el haplogrupo C perteneciente al clado II comparte esta área de distribución con el haplogrupo A del clado I. En las localidades de San Sebastián (SE-Oaxaca) y Tapanatepec (TA-Oaxaca) coexisten haplotipos de los haplogrupos A y B. En la localidad de Arroyo del Bellaco (ABE-Ver.), se encuentran coexistiendo haplotipos de los tres haplogrupos A, B y C (Figura 10). Las distancias genéticas entre haplogrupos fue de $A/B = 0.051$, $A/C=0.074$ y $B/C=0.047$.

DISCUSIÓN

Secuencias de la región control han sido ampliamente utilizadas como marcadores para analizar los patrones de diversidad y la estructura genética en murciélagos mexicanos (Wilkinson y Fleming, 1996; Russell *et al.*, 2005; Guevara-Chumacero *et al.*, 2010, 2013; Trumelle *et al.*, 2011; Ruiz *et al.*, 2013; Zárate-Martínez, 2013). Sin embargo, este marcador nunca ha sido utilizado para analizar estos patrones en las poblaciones de *Pteronotus parnellii* en México, así como a lo largo de su área de distribución en el Nuevo Mundo. Únicamente se han realizado dos estudios con base en los marcadores moleculares *COI*, *DBY* y *RAG2* (Clare *et al.*, 2011, 2013) en Centro América y el Noroeste de Sudamérica (Guyana) que soportan la existencia de cuatro linajes de *P. parnellii* en ésta zona geográfica (sin tomar en cuenta las poblaciones distribuidas en México y al extremo Sur de Sudamérica), apoyados por la ausencia de flujo génico y por un alto grado de aislamiento reproductivo y divergencia genética.

El tamaño del fragmento amplificado (271 pb), el tamaño de muestra (n=200) y los haplotipos identificados ($H=79$) son similares a los reportados en otros estudios que emplean el dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial realizados con murciélagos de la familia Mormoopidae (Guevara-Chumacero *et al.*, 2010; Zárate-Martínez, 2013) y de otras familias (Juste *et al.*, 2003; Ruedi y Castella, 2003; Russell *et al.*, 2005; Berthier *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2013).

Diversidad genética

Los resultados muestran que las poblaciones mexicanas del murciélago bigotudo de Parnell (*Pteronotus parnellii*) presentan en promedio una diversidad genética alta comparada con otras especies de murciélagos que comparten la misma área de distribución

en México (Guevara-Chumacero *et al.*, 2010; Zárate-Martínez, 2013; Ruiz *et al.*, 2013). Resultados similares con valores altos de diversidad genética también han sido reportados en otras especies de mamíferos mexicanos e.g., el murciélago guanero *Tadarida brasiliensis mexicana* ($\pi=0.045$ $h=0.998$, Russell *et al.*, 2005) y el armadillo de nueve bandas *Dasypus novemcinctus* ($\pi=0.029$ $h=0.977$, Arteaga *et al.*, 2012). Sin embargo, trabajos realizados con otros marcadores moleculares (e.g., *RC1*, *ND2*, *COII*, *Cytb* y microsatélites) también reportan alta diversidad genética en grupos que se distribuyen parcialmente o dentro del intervalo de distribución de *Pteronotus parnellii* en México e.g., en aves (Rojas-Soto *et al.*, 2007; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008; Manthey *et al.*, 2011), mamíferos (Hardy *et al.*, 2013) y anfibios (Mulcahy y Mendelson *et al.*, 2000). A pesar de que en promedio se encontraron altos niveles de diversidad genética, se observó que dentro del área de distribución de *P. parnellii* en México la diversidad genética es variable de acuerdo a la zona geográfica, siguiendo un patrón que incrementa latitudinalmente en sentido Norte - Sur.

El patrón diversidad/latitud

A menudo el patrón que predice que la diversidad genética disminuye hacia las latitudes Norte se encuentra asociado a fluctuaciones climáticas que en el pasado han conducido a significativos cambios en la distribución de las especies. Estas fluctuaciones están asociadas con glaciaciones pleistocénicas que ocasionaron que las poblaciones se concentraran y persistieran dentro de pequeñas áreas descritas como refugios (Hewitt, 1996). Stewart *et al.* (2010) proponen que los refugios Pleistocénicos podrían ser definidos como la región o regiones geográficas que una especie habitó durante un periodo de ciclos glaciales/interglaciales y que representa para las especies una máxima contracción en su

distribución geográfica. Lo anterior conduce a una idea general en la cual muchas poblaciones fueron forzadas a desplazarse hacia el Sur debido a que en los periodos glaciales los territorios situados en el Norte llegaron a ser inhabitables para muchas especies. Posteriormente grandes extensiones de territorio fueron recolonizados cuando el clima llegó a ser más templado, por lo tanto, se predice que los niveles de diversidad genética disminuyen con respecto a la distancia geográfica de un potencial refugio Pleistocénico con base en el argumento de que la población ancestral es la que alberga la mayor variabilidad genética (Petit *et al.*, 1999). Toledo (1982) sugirió que áreas situadas en las costas del Pacífico y Golfo de México podrían haber actuado como refugios Pleistocénicos separados, sin embargo propone un refugio en el Sureste de México (Lacandona y Soconusco en Chiapas). Ruedi y Castella (2003) mencionan que la expansión de poblaciones que evolucionaron en distintos refugios glaciales podría incrementar el nivel de variación genética en zonas de contacto secundario. Al respecto, modelos que simulan episodios de contracción/expansión de las poblaciones (Nei *et al.*, 1975; Ibrahim *et al.*, 1996) predicen que la recolonización de los territorios situados en las latitudes Norte podrían conducir a áreas con bajos niveles de diversidad genética asociados a episodios de cuello de botella y eventos fundadores de recolonización por uno o pocos linajes mitocondriales (Hewitt, 1996; Grant y Bowen, 1998). Una aproximación para inferir esta asociación es posible mediante el análisis de los índices de diversidad haplotípica (h) y nucleotídica (π) (Avise, 2000) y la distribución de “mismatch”.

Historia demográfica

Los altos niveles de diversidad haplotípica y los bajos niveles de diversidad nucleotídica encontrados en las poblaciones ubicadas en la zona Norte de la planicie del

Pacífico (e.g., TI, Son., FR, Sin., AM, Nay., TGA, Nay., y OR, Col.) (Tabla 3), podrían ser el resultado de un rápido crecimiento poblacional o expansión de una población ancestral con un tamaño poblacional reducido y la acumulación de nuevas mutaciones (Grant y Bowen, 1998; Avise, 2000), asociado con una migración postglacial desde algún refugio situado en el Centro y/o Sur del país hacia el Norte de México en respuesta a las oscilaciones climáticas del periodo Cuaternario (Pleistoceno), siguiendo corredores de bosque bajo tropical a lo largo de ambas costas (Wilkinson y Fleming, 1996; Guevara-Chumacero *et al.*, 2010; Arteaga *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2013; Zárate-Martínez, 2013). Los resultados muestran que el haplotipo H12 (AM, Nay.) ampliamente distribuido en ésta zona geográfica podría representar el haplotipo ancestral del grupo, ya que dentro de la red de haplotipos se encuentra al centro de una estructura en forma de estrella (Haplogrupo B en la Figura 8), configuración que se asocia con una reciente expansión poblacional por un pequeño número de fundadores, seguida de un rápido crecimiento demográfico (Harpending *et al.*, 1998; Avise, 2000). En consecuencia, los bajos niveles de diversidad genética encontrados en las poblaciones más norteñas en ambas planicies (e.g., TI, Son. y TR, Tamps.) (Figura 5) podrían ser explicados por un reciente efecto fundador seguido de un evento de cuello de botella por unos pocos linajes mitocondriales (Grant y Bowen, 1998; Ruedi y Castella, 2003; Ficetola, 2008). Como resultado éstas poblaciones han tenido poco tiempo para acumular nuevas mutaciones para generar mayor diversidad genética, es decir, se trata de poblaciones recientes. La distribución de “mismatch” en el grupo PN-DB (Figura 10), la red de haplotipos (Figura 8) y los bajos valores de diversidad genética que se presentan en esta zona geográfica (Figura 5), apoyan el supuesto de una expansión poblacional y una recolonización reciente de las áreas situadas al extremo Norte del país. Es necesario mencionar que tanto la red de haplotipos y los análisis toco genéticos muestran

que el haplotipo H11 (Ver.), distribuido en la zona Norte de la planicie del Golfo de México (Tamp. SLP. y Ver.) y los haplotipos H64 (Oax.) y H69 (Oax.), todos pertenecientes al grupos GS, se encuentra más relacionados con aquellos haplotipos del grupo PN-DB (Figura 8), por lo tanto, existe evidencia de que estas poblaciones en conjunto comparten una misma historia demográfica conformando una sola subpoblación. Dentro del Grupo PN-DB la diversidad genética incrementa en la zona Centro de México, principalmente en los estados de Puebla y Oaxaca (Figura 5). Resultados similares se han reportado en esta zona geográfica (Cortes-Rodríguez, 2008).

En contraste, los altos niveles de diversidad genética en el Sureste de México sugieren que *P. parnellii* ha presentado un tamaño efectivo poblacional estable a lo largo de su historia evolutiva (Grant y Bowen, 1998), o bien, las poblaciones se han recuperado de su propio evento fundador hace mucho tiempo. Al respecto Frankham (1966) revisó información de varios taxones de animales y plantas que soportan esta relación; también apoyó el supuesto de que alta variación genética se relaciona positivamente con una amplia distribución geográfica. Con base en lo anterior, las poblaciones de *P. parnellii* presentan una extensa distribución geográfica en el Nuevo Mundo (Smith, 1972; Herd, 1983) (Figura 3). Sin embargo, otro suceso que podría explicar los altos niveles de diversidad genética y alta divergencia entre haplotipos dentro del grupo GS (principalmente en el Sureste del país), está asociado a un probable contacto secundario entre linajes históricamente diferenciados (Grant y Bowen, 1998; Avise, 2000).

Contacto secundario

Con base en lo anterior y tomando en cuenta al Sureste de México (principalmente la región del Centro del Golfo de México y la Península de Yucatán), los resultados de este

trabajo muestran evidencia de que las poblaciones de esta zona geográfica presentan altos niveles de diversidad genética y divergencia entre haplotipos (AB, Tab., BO, Camp., KO, Camp. y PA, QR.) que sugieren la existencia de un mayor número de linajes diferenciados que se han establecido por un largo periodo bajo un equilibrio de mutación-deriva (Slatkin, 1993), que les permitió acumular altos niveles de diversidad. Al respecto, los altos valores de diversidad genética (Ruedi y Castella, 2003), la disimilitud de las distancias genéticas dentro de las poblaciones de esta región [e.g., PA, QR (Anexo 11)], la red de haplotipos que muestra dos distintos haplogrupos en una misma zona geográfica y los análisis “mismatch” en el grupo GS que incluye a las poblaciones de Centro del Golfo de México (AB, Ver.) y la Península de Yucatán (Figura 11), muestran evidencia de un contacto secundario entre linajes previamente diferenciados. De tal forma, que la Península de Yucatán podría representar una zona geográfica de contacto secundario que alberga migrantes presumiblemente de dos linajes diferentes.

Diferenciación genética

Los resultados del análisis SAMOVA para el dominio HVII de la región control mitocondrial muestran que existen dos grupos de poblaciones genética y geográficamente diferenciados PN-DB y GS (Tabla 4, Figura 6). Al respecto, el análisis SAMOVA ($F_{ST}=0.465$), las distancias genéticas (4.5%) y los bajos niveles de flujo génico (0.67) apoyan un alto nivel de diferenciación genética entre ambos grupos, cuyo límite geográfico se localiza al Norte de los estados de Oaxaca y Puebla (Figura 6). Ambos grupos muestran al menos una distribución alopátrica aparentemente separados por la Sierra Madre Oriental (SMO) y la Sierra Madre del Sur (SMS), esta última reconocida como un “hotspot” (Blancas-Calva *et al.*, 2010). Patrones similares de diferenciación genética asociados a este límite

geográfico también ha sido reportados en mamíferos (León-Paniauga *et al.*, 2007; Arteaga *et al.*, 2012; Ruiz *et al.*, 2013), aves (García-Moreno *et al.*, 2004; Cortes-Rodríguez *et al.*, 2008; Navarro-Sigüenza *et al.*, 2008; Arbeláez-Cortés, 2014; Rojas-Soto *et al.*, 2007), reptiles (Zarza *et al.*, 2008) y anfibios (Klymus y Gerhardt, 2012). Sin embargo, en esta zona geográfica los patrones de diferenciación genética difieren de los reportados en estudios previos para otros miembros de la familia Mormoopidae, tal es el caso de *Pteronotus davyi* (Guevara-Chumacero *et al.*, 2013) y *Pteronotus personatus* (Zárate-Martínez, 2013) cuyas poblaciones exhiben un alto grado de diferenciación genética a nivel del Istmo de Tehuantepec como barrera geográfica y que sugiere la existencia de dos linajes diferenciados para ambas especies.

Estructuración entre grupos

Cada grupo se distribuye a lo largo de extensas áreas geográficas en México y muestran una subestructura: el grupo PN-DB se distribuye desde el Norte de la Planicie del Pacífico hasta el Norte del Istmo de Tehuantepec y muestra un moderado nivel de diferenciación genética asociado al alto grado de similitud genética (distancias genéticas) y los bajos niveles de flujo génico entre sus poblaciones (Anexo 9), lo cual refleja usualmente un origen común dentro de cada grupo social con respecto a la población total. Al respecto, Burland *et al.*, (1999) mencionan que los altos niveles de coancestría y una estructura genética microgeográfica resultan en bajos niveles de flujo génico entre las poblaciones. En contraste, el segundo grupo (GS) muestra bajos niveles de estructura genética asociados al alto grado de disimilitud genética (distancias genéticas) y los altos niveles de flujo génico que describen un modelo de panmixia en la región del Sur y Sureste de su distribución (principalmente en la Península de Yucatán) (Anexo 9). Otros reportes para murciélagos

mexicanos presentan una ausencia de estructura genética [(e.g., *Artibeus jamaicensis* ($F_{ST} = 0.053$, Vargas-Miranda, 2009) y *Tadarida brasiliensis mexicana* ($F_{ST} = 0.004$, Russell *et al.*, 2005)] relacionado a la alta movilidad que se presenta entre sus poblaciones, por lo tanto existe mayor evidencia del flujo génico entre las poblaciones del grupo GS (Anexo 9). Sin embargo, en esta región los valores de flujo génico reportados para *Pteronotus personatus* (Zárate-Martínez, 2013) son bajos.

Flujo génico y aislamiento por distancia

Considerando que las distancias genéticas entre ambos grupos fue alta (4.5%) y el número de migrantes menor a 1, se esperaría que la diferenciación genética estuviera asociada a la distancia geográfica entre los grupos de poblaciones. Sin embargo, la prueba de Mantel reveló que la divergencia molecular no está asociada a las distancias geográficas ($P > 0.05$), indicando que la diferenciación significativa entre ambos grupos podría ser resultado de la influencia de la Siera Madre Oriental (SMO) y la Sierra Madre del Sur (SMS), las cuales han jugado un papel importante en la diferenciación genética de otras especies (Sullivan *et al.*, 2000; León-Paniagua *et al.*, 2007; McCormack *et al.*, 2008; Navarro-Sigüenza, 2008). Los resultados sugieren que estos sistemas orográficos (SMO y SMS) han influido en la actual estructura genética de *P. parnellii* y probablemente el Istmo de Tehuantepec podría actuar como un corredor de flujo génico (Arteaga *et al.*, 2012) entre las poblaciones del Sureste, contrastante con los patrones obtenidos para *P. davyi* (Guevara-Chumacero *et al.*, 2013) y *P. personatus* (Zárate-Martínez, 2013). Sin embargo, lo anterior podría ser corroborado en estudios posteriores que incluyan marcadores moleculares de mayor tasa evolutiva (microsatélites), además de estudios ecológicos que aborden los

patrones de dispersión de la especie, ya que hasta la fecha no existe ningún antecedente al respecto.

La reducción del flujo genético entre ambos grupos podría estar asociada con factores ecológicos e históricos entre los cuales se podrían considerar: 1) la pérdida del hábitat relacionado con las actividades antropogénicas, si se toma en cuenta que muchas de las áreas alrededor de los sitios se encuentran altamente pobladas y deforestadas para fines agrícolas y ecoturísticos, lo cual podría inevitablemente representar una barrera para disminuir el flujo genético entre las poblaciones y en consecuencia resultar en la presencia de unos pocos haplotipos con frecuencias altas; 2) la altitud de los principales sistemas montañosos (SMO y SMS) ubicados a lo largo del área de distribución de la especie, que podrían estar actuando como barreras geográficas que limitan el flujo genético entre las poblaciones.

Análisis genealógicos y tocogenéticos

A diferencia de los resultados del análisis SAMOVA, los análisis tocogenéticos y la red de haplotipos muestran resultados diferentes, por un lado la red haplotípica muestra la presencia de tres haplogrupos A, B y C (Figura 8), mientras que los análisis tocogenéticos muestran una topología conformada por dos clados I y II (Figura 12). Éste resultado puede justificarse debido a que los estadísticos F no hacen uso de la información temporal, mientras que las relaciones genealógicas evalúan las relaciones evolutivas de linajes genéticos con su ubicación geográfica (Freeland, 2005), separando los eventos históricos de la estructura poblacional. El porcentaje de las distancias genéticas entre los haplogrupos fue (A vs B = 5.1%, A vs C=7.4% y B vs C=4.7%). Sin embargo, los haplogrupos A y C cuyos haplotipos pertenecen a las mismas localidades dentro del grupo GS no son monofiléticos.

Esto sugiere una marcada diferenciación genética entre individuos cuando ambos haplogrupos son considerados como un grupo genética y geográficamente homogéneo (Figura 12). Por lo tanto, los haplogrupos A y C podrían ser el resultado de una incompleta separación de linajes (Arteaga *et al.*, 2012) en la región del Sureste (Península de Yucatán), lo anterior es soportado por los análisis tocogenéticos (valores de soporte de las ramas internas >50%), la red de haplotipos y por el alto y bajo grado de similitud genética que se presentan entre los individuos dentro de las localidades de ésta zona (e.g., dentro de la localidad de PA, QR) (Anexo 11). Por lo tanto, los resultados indican la existencia de tres linajes de *P. parnellii* en México: el primero distribuido desde el Norte de la planicie del Pacífico hasta la Depresión del Balsas y dos más compartiendo la región del Centro del Golfo de México (Arroyo del Bellaco, Ver.) el Sur y Sureste del país resultado de un contacto secundario, probablemente en la región Sureste (Península de Yucatán). Estos datos son similares a los propuestos por Clare *et al.* (2011, 2013), quienes encuentran una zona potencialmente simpátrica para *P. parnellii* en Guyana.

Por último cabe resaltar que entre los haplogrupos A y B, se observa una conexión haplotípica particularmente en el estado de Oaxaca (San Sebastián y Tapanatepec), lo cual se debe posiblemente a un origen común, al igual que la localidad de Arroyo del Bellaco, Ver. (Golfo de México), donde se presenta la coexistencia de haplotipos de los tres linajes sugeridos por los análisis tocogenéticos y genealógicos, genéticamente divergentes. Este patrón podría estar reflejándose en la alta diversidad genética que presentan *P. davyi* y *P. personatus* en ésta localidad (Guevara-Chumacero *et al.*, 2010; Zárate-Martínez, 2013).

Implicaciones taxonómicas

En la actualidad la posición taxonómica del subgénero *Phyllodia* (*Pteronotus parnellii*) basada en datos morfológicos y en análisis de taxonomía numérica, reconoce nueve subespecies de las cuales dos se distribuyen en México *P. p. mexicanus* (Miller, 1902) y *P. p. mesoamericanus* (Smith, 1972), y cuyo límite geográfico se localiza al Norte del Istmo de Tehuantepec (Smith, 1972; Herd, 1983; Simmons y Conway, 2001). De acuerdo con los resultados de este estudio, el dominio HVII muestra que la estructura genética de *Pteronotus parnellii* en México corresponde a dos grupos de poblaciones con un alto nivel de diferenciación genética (PN-DB y GS) cuyo límite geográfico se localiza al Norte de los estados de Oaxaca y Puebla (Figura 6) aparentemente separados por la Sierra Madre Oriental (SMO) y la Sierra Madre del Sur (SMS). Por lo tanto, la información genética mediante la cual se separan los dos grupos de poblaciones (PN-DB y GS) no es consistente con la distribución geográfica tradicional propuesta por Smith (1972) (Figura 3).

CONCLUSIONES

- ❖ En este trabajo se presenta el primer estudio sobre genética de poblaciones que evalúa los patrones de diversidad y estructura genética entre las poblaciones del murciélago bigotudo de Parnell (*Pteronotus parnellii*) en México.
- ❖ *Pteronotus parnellii* presenta una diversidad genética alta en comparación con otros murciélagos mexicanos que comparten la misma área de distribución en México.
- ❖ Se encontró un alto nivel de estructura genética asociado a los sistemas montañosos (Sierra Madre Oriental (SMO) y la Sierra Madre del Sur (SMS), que parecen haber restringido el flujo genético entre las poblaciones de la planicie del Pacífico-Depresión del Balsas y las localizadas en la planicie del Golfo de México y Sureste del País .
- ❖ El análisis espacial SAMOVA, reconoce dos grupos de poblaciones tanto genética como geográficamente homogéneos, inconsistentes con la distribución geográfica propuesta por Smith (1972) mediante la cual reconoce dos subespecies en México.
- ❖ En la región central del Golfo de México y la Península de Yucatán se presentan altos niveles de diversidad genética, un alto grado de disimilitud genética entre los individuos de cada localidad y la presencia de haplotipos de diferentes haplogrupos, lo cual sugiere un mayor número de linajes para la especie y una zona geográfica de contacto secundario.

LITERATURA CITADA

1. Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. y Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215:403-410.
2. Allendorf, F. W. y Luikart, G. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell publishing, Oxford. Pags. 642.
3. Arbeláez-Cortés, E., Milá, B. y Navarro-Sigüenza, A. G. 2014. Multilocus analysis of intraspecific differentiation in three endemic bird species from the northern Neotropical dry forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 70: 362-367.
4. Arif, I. A. y Khan, H. A. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*. 32.1: 9–17.
5. Arteaga, M. C., Piñero, D., Eguiarte, L. E., Gasca, J. y Medellín, R. A. 2012. Genetic structure and diversity of the nine-banded armadillo in Mexico. *Journal of Mammalogy* 93(2):547-559.
6. Avise, J. C. 2000. Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA. Pags. 447.
7. Avise., J. C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York. Pags. 684
8. Bandelt, H.J., Forster, P. y Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*. 16:37-48
9. Berthier, P., Excoffier, L. y Ruedi, M. 2006. Recurrent Replacement of mtDNA and Cryptic Hybridization between Two Sibling Bat Species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. 273 (1605):3101-3109.

10. Blancas-Calva, E., Navarro-Sigüenza, A. G. y Morrone, J. J. 2010. Patrones biogeográficos de la avifauna de la Sierra Madre del Sur. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 81: 561-568.
11. Burland, T. M., Barratt, E. M., Beaumont, M. A. and Racey, P. A. 1999. Population genetic structure and gene flow in a gleaning bat, *Plecotus auritus*. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. 266(1422): 975-980
12. Burland, T. M. y Worthington, W. J. 2001. Seeing in the dark: molecular approaches to the study of bat populations. *Biological Reviews*. 76:389–409.
13. Clare, E. L., Lim, B. K., Fenton, M. B. y Hebert, P. D. N. 2011. Neotropical Bats: Estimating Species Diversity with DNA Barcodes. Biodiversity Institute of Ontario. University of Guelph, Canada. *PLoS ONE*. 6:14.
14. Clare, E.L., Adams, A.M., Maya-Simoes, A. Z., Eger, J. L., Hebert, P. D. N. y Fenton, M. B. 2013. Diversification and reproductive isolation: cryptic species in the only New World high-duty cycle bat, *Pteronotus parnellii*. *BMC Evolutionary Biology*.13: 26.
15. Conabio, 2000. Estrategia nacional sobre biodiversidad de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
16. Cotres-Rodríguez, N., Hernández-Baños, B. E., Navarro-Sigüenza, A. G. y Omland, K. E. 2008. Geographic variation and genetic structure in the streak-backed oriole: low mitochondrial DNA differentiation reveals recent divergence. *The Condor*. 110(4): 729-739.
17. Czaplewski, N. J. y Morgan, G. S. 2003. Fossil bats of the Americas. http://www.snomnh.ou.edu/collections%26research/vertebrate_paleontology/fossil_bats/index.shtml.

18. Dávalos L. M. 2006. The geography of diversification in the mormoopids (Chiroptera:Mormoopidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 88:101-118.
19. Dupanloup, I., Schneider, S. y Excoffier, L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11:2571-2581.
20. Eguiarte, L. E. 1999. Una guía para principiantes a la genética de poblaciones. En: La evolución biológica (J. Nuñez - Farfán y L. E. Eguiarte, comps), pp 35-50. UNAM. México. Pags. 457
21. Escalante, T., Espinosa, D. y Morrone, J. J. 2003. Using Parsimony analysis of endemism to analyze the distribution of Mexican land mammals. *Southwestern Naturalist*. 48: 563-578.
22. Excoffier, L., Smouse, P. y Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131:479-491.
23. Excoffier, L. y Lischer, H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of program to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567
24. Farris, J. S. 1970. Methods for computing Wagner Trees. *Systematic Biology*. 19:83-92.
25. Ficetola , G. F., Bonin, A. y Miaud, C. 2008. Population genetics origin and number of founders in biological invasion. *Molecular Ecology*. 17:773-782.
26. Freeland, J. R. 2005. *Molecular Ecology*. John Wiley and Sons, West Essex, Inglaterra. Pags. 388.
27. Frankham, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wild-life. *Conservation Biology*. 10, 1500-1508.

28. Frankham, R., Ballou, J. D. y Briscoe D. A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra. Segunda edición.
29. Fumagalli, L., Taberlet, P., Favre, L. y Hausser, J. 1996. Origin and evolution of homologous repeated sequences in the mitochondrial DNA control region of shrews. *Molecular Biology and Evolution*. 13:31-46.
30. Futuyma, D. J. 2005. Evolutionary Biology. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachusetts, EUA. Págs 543.
31. García-Moreno, J., Navarro-Sigüenza, A. G., Townsend-Peterson, A. y Sánchez-González, L. A. 2004. Genetic variation coincides with geographic structure in the common bush-tanager (*Chlorospingus ophthalmicus*) complex from Mexico. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 33: 186-196.
32. Gemmell, N. J., Western, P. S., Watson, J. M. y Graves, J. A. M. 1996. Evolution of the Mammalian Mitochondrial Control Region-Comparisons of Control Region Sequences Between Monotreme and Therian Mammals. *Molecular Biology and Evolution*. 13(6):798-808.
33. Grant, W. S. y Bowen, B. W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lesson for conservation. *The Journal of Heredity*. 89:415-426.
34. Gray, J. E. (1866). Synopsis of the genera of Vespertilionidae and Noctilionidae. *The Annals and Magazine of Natural History*. 3 (17): 89–93.
35. Guevara-Chumacero, L. M., López-Wilchis, R., Flores Pedroche, F., Juste, J., Ibañez C. y Barriga-Sosa, I. D. L. A. 2010. Molecular phylogeography of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico. *Journal of Mammalogy*. 91:220-232.

36. Guevara-Chumacero, L. M., López-Wilchis, R., Juste, J., Ibañez C., Martínez-Méndez, L. A. y Barriga-Sosa, I. D. L. A. 2013. Conservation units of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in México based on phylogeographical analysis. *Acta Chiropterológica*. 15(2): 353-363.
37. Gutiérrez-García, T. A. y Vázquez-Domínguez, E. 2012. Biogeographically dynamic genetic structure bridging two continents in the monotypic Central American rodent *Ototylomys phyllotis*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 107: 593-610.
38. Hamilton, M. B. 2009. Population Genetics. Wiley-Blackwell, New Jersey.
39. Hardy, D. K., González-Cózatl, F. X., Arellano, E. y Rogers, D. S. 2013. Molecular phylogenetics and phylogeographic structure of Sumichrast's harvest mouse (*Reithrodontomys sumichrasti*: Cricetidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution*. 68: 282-292.
40. Hartl, D. L. y Clark, A. G. 2007. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachusetts. Pags. 652.
41. Harpending, R. C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*. 66:591-600.
42. Harpending, H. C., Batzer, M.A., Gervens, M., et al. 1998. Genetic traces of ancient demography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 95: 1961-1967.
43. Herd, R. M. 1983. *Pteronotus parnellii*. *Mammalian Species*. 209: 1-5.
44. Hewitt, G. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. 58: 247-276

45. Holder, M. y Lewis, P. O. 2003. Phylogeny estimation: Traditional and Bayesian approaches. *Nature Review Genetics*. 4: 275–284.
46. Hudson, R. R., Slatkin, M. y Maddison, W. P. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*. 132:583-589.
47. Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N. y M. Vellend. 2008. Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*. 11:609–623.
48. Ibrahim, K. M., Nichols R.A. and Hewitt, G. M. 1996. Spatial patterns of genetic variation generated by different forms of dispersal during range expansion. *Heredity*. 77, 282–291.
49. Juste, J., Ibáñez, C., Trujillo, D., Muñoz, J. y Ruedi, M. 2003. Phylogeography of Barbastelle Bats (*Barbastella barbastellus*) in the Western Mediterranean and the Canary Islands. *Acta Chiropterologica*. 5 (2):165-175.
50. Juste, J., García-Mударra, J. L. y Ibáñez, C. 2009. Especies crípticas y murciélagos: ¿cuántas especies son en la península Ibérica? Evolución y adaptación. En: 150 años después del origen de las especies. Dopazo & Arcadi (Eds.).155-163.
51. Klymus, K. E. y Gerhart, H. C. 2012. AFLP markers resolve intra-specific relationships and infer genetic structure among lineages of the canyon treefrog, *Hyla arenicolor*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 65: 654-667.
52. Lanteri, A. A., y Confalonieri, V. A. 2001. Filogeografía: Objetivos, Métodos y ejemplos. En: Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía (Bousquets, J. L. y Morrone, J. J.). Facultad de Ciencias, UNAM, México.
53. León-Paniagua, L. A., Navarro-Sigüenza, G., Hernández-Baños, B. E. y Morales, J. C. 2007. Diversification of the arboreal mice of the genus *Habromys* (Rodentia:

- Cricetidae: Neotominae) in the Mesoamerican highlands. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 42:653-664.
54. Lewis-Oritt, N., Porter, C. A. y Baker, R. J. 2001. Molecular Systematics of the Family Mormoopidae (Chiroptera) Based on Cytochrome b and Recombination Activating Gene 2 Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 20(3):426-436.
55. Librado, P. y Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*: 10. 1093/bioinformatics/btp187.
56. Liedloff, A. 1999. Mantel: Mantel nonparametric test calculator, version 2.0. School of Natural Resource Science Queensland University of Technology, Australia.
57. Lunt, D. H., Whipple, L. E. y Hyman, B. C. 1998. Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology Resources*. 7:1441-1455.
58. Manthey, J. D., Klicka, J. Y Spellman, G. M. 2011. Cryptic diversity in a widespread North American songbird: Phylogeography of the Brown Creeper (*Certhia americana*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. Doi:10.1016/j.ympev.2010.12.003
59. McCormack, J.E., Peterson, A.T., Bonaccorso, E., Smith, T.B., 2008. Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology*. 17: 2505–2521.
60. Medellín, R., Arita, H. y Sánchez, O. 1997. Identificación de los murciélagos de México: Clave de Campo. Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C. Publ. Esp. México. Págs 83.
61. Mendez-Harclerode, F. M., Strauss, R. E., Fulhorst, C. F., Milazzo, M. L., Ruthven,

- D. C. y Bradley, R. D. 2007. Molecular evidence for high levels of intrapopulation genetic diversity in woodrats (*Neotoma micropus*). *Journal of mammalogy*. 88(2): 360-370.
62. Merila, J. Bjorklund, M. y Baker, A. J. 1996. Genetic Populations Structure and Gradual Northward Decline of Genetic Variability in the Greenfinch (*Carduelis chloris*). *Evolution*. 50(6): 2548-2557.
63. Milá, B., Girman, D. J., Kimura, M. y Smith, T. B. 2000. Genetic Evidence for the Effect of a Postglacial Population Expansion on the Phylogeography of a North American Songbird. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. 267(1447): 1033-1040.
64. Miller, G. S., Jr. (1907). The families and genera of bats. *Bulletin of the United States National Museum*. 57: 1–282.
65. Mittermeier *et al.* 1997. *Megadiversidad: Los Países Biológicamente más Ricos del Mundo*. México: Cementos Mexicanos.
66. Moreno, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA, Zaragoza.
67. Morgan G. 2001. Patterns of extinction in West Indian bats. In: Woods CA, Sergile FE, eds. *Biogeography of the West Indies*. Boca Raton, FL: CRC Press, 369–407.
68. Morrone, J. J. 2010. Fundamental biogeographic patterns across the Mexican Transition Zone: an evolutionary approach. *Ecography*. 33:355-361.
69. Mulcahy, D. G., Spaulding, A. W., Mendelson III. 2000. Phylogeography and speciation of the morphologically variable, widespread species *Bufo valliceps*,

- based on molecular evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 17(2): 173-189.
70. Mulcahy, D. G., Spaulding, A. W., Mendelson, J. R. y Brodie, E.D. 2006. Phylogeography of the flat-tailed horned lizard (*Phrynosoma mcallii*) and systematic of the *P. mcallii* - *platyrhinos* mtDNA complex. *Molecular Ecology*. 15: 1807-1826.
71. Mulcahy, D. G. 2008. Phylogeography and species boundaries of the western North American Night snake (*Hypsiglena torquata*): Revisiting the subspecies concept. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 46: 1095-1115.
72. Navarro-Sigüenza, A. G., Townsend Peterson, A., Nyari, A., García-Deras, G. M. y García-Moreno, J. 2008. Phylogeography of the Buarremon brush-finch complex (Aves, Emberizidae) in Mesoamerica. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 47: 21-35.
73. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106:243-292.
74. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Science*. 70(12): 3321-3323.
75. Nei, M., Maruyama, T. y Chakraborty, R. 1975. The bottleneck effect and the genetic variability in populations. *Evolution*. 29: 1-10.
76. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89:583-590.
77. Novick, A. (1963). Orientation in Neotropical bats Phyllostomatidae and Desmodontidae. *Journal of Mammalogy*. 44: 44-56.

78. Patton, J. C. y Baker, R. J. (1978). Chromosomal homology and evolution of phyllostomatoid bats. *Systematic Zoology*. 27: 449–462.
79. Pereira, M. J., Salgueiro, P., Rodrigues, L., Coelho, M. M. y Palmeirim, J. M. 2009. Population structure of a cave-dwelling bat, *Miniopterus schreibersii*: does it reflect history and social organization?. *Journal of Heredity*. 100(5): 533-544.
80. Piñero, D., Barahona, A., Eguiarte, L., Axayácatl Rocha, A. O. y Salas, R. L. 2008a. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, Pags. 415-435.
81. Piñero, D., *et al.* (2008b). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, en *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, Pags. 437-494.
82. Posada, D. y Crandall K. A. 2001. Intraspecific gene genealogies: tres grafting into networks. *TRENDS in Ecology and Evolution*. 16 (1): 37-44.
83. Petit, E., Excoffier, L. y Mayer, F. 1999. No evidence of bottleneck in postglacial recolonization of europe by the noctule bat (*Nyctalus nictula*). *Evolution*. 53(4): 1247-1258.
84. Ramírez-Pulido, J., Castro-Campillo, A., Arroyo- Cabrales, J. y Cervantes, F.A. 1996. Lista taxonómica de los mamíferos terrestres de Mexico. Museum, Texas Tech University. 158:62.
85. Rodríguez, A. R., Castañeda, S. A. y Ordáz, T. M. G. 2009. Conceptos básicos de genética. 2ª edición. UNAM, Facultad de Ciencias.

86. Rogers, A. R. y Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9:552-569.
87. Rojas-Soto, O. R., Espinosa de los Monteros, A., Zonk, R. M. 2007. Phylogeography and patterns of differentiation in the curve-billed thrasher. *The Condor*. 109(2): 456-463.
88. Ruedi, M. y Castella, V. 2003. Genetic consequences of the ice ages on nurseries of the bat *Myotis myotis*: a mitochondrial and nuclear survey. *Molecular Ecology*. 12:1527–1540
89. Ruiz, E. A., Vargas-Miranda, B. y Zúñiga, G. 2013. Late-Pleistocene phylogeography and demographic history of two evolutionary lineages of *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Mexico. *Acta Chiropterológica*. 15(1):19–33.
90. Russell, A. L., Medellín, R. A. y Mccracken, G. F. 2005. Genetic variation and migration in the Mexican free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis mexicana*). *Molecular Ecology*. 14:2207-2222.
91. Saccone, C., Attimonelli, M y Sbisá, E. 1987. Structural elements highly preserved during evolution of the D-loop containing región in vertebrate mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*. 26(3): 205-211.
92. Saitou, N. y Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4:406-425
93. Sbisá, E., Tanzariello, F., Reyes, A., Pesole, G. y Saccone, C. 1997. Mammalian mitochondrial D-Loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*. 205:125-140.

94. Scott, F. y Herron, J. C. 2002. Análisis evolutivo. Prentice Hall, Madrid.
95. Simmons, N. B. y Conway, T. M. 2001. Phylogenetic relationships of mormoopid bats (chiroptera: mormoopidae) based on morphological data. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 258:97.
96. Slatkin, M. 1987. Gene Flow and the Geographic Structure of Natural Populations. *Science*, 236:787-792.
97. Slatkin, M. 1993. Isolation by Distance in Equilibrium and Non-Equilibrium Populations. *Evolution*. 47(1):264-279.
98. Slatkin, M. 1999. Flujo génico en poblaciones naturales. En: Evolución Biológica (Farfán, J. N. y Eguiarte, L. E.). UNAM. México. Pags. 457
99. Smith, J. D. 1972. Systematics of the Chiropteran Family Mormoopidae. University of Kansas. Museum of Natatural History. *Miscellaneous Publication*. Págs 132.
100. Stewart, A. M., Lister, A. M., Barnes, I. y Dalen, L. 2010. Individualistic Response of Species in Space and Time. *Biological Sciences*. 277(1682): 661-671.
101. Sullivan, J., Arellano, E., Rogers, D.S. 2000. Comparative phylogeography of Mesoamerican highland rodents: concerted versus independent response to past climatic fluctuations. *American Naturalist*. 155: 755-768.
102. Swofford, D. L. 2002. PAUP* 4.0b10. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Version 4.0. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts.
103. Tamura, K. y 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*. 10:512-526.

104. Tamura, K., Peterson, D., Peterson N., Stecher G., Nei M. y Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).
105. Toledo, V. M. 1982. Pleistocene changes of vegetation in tropical Mexico. En: G. Prance (Ed). Biological diversification in the tropics. Pp. 93-111. New York: Columbia University Press.
106. Van Den Bussche, R. A., Hooper, S. R. y Simmons, B. N. 2002. Phylogenetic Relationships of Mormoopid Bats Using Mitochondrial Gene Sequences and Morphology. *Journal of Mammalogy*. 83(1):40-48.
107. Van Den Bussche, R. A. y Hooper, S. R. 2004. Phylogenetic Relationships among Recent Chiropteran Families and the Importance of Choosing Appropriate Out-Group Taxa. *Journal of Mammalogy*. 85(2):321-330.
108. Vargas-Miranda, B. 2009. Filogeografía de *Artibeus jamaicensis triomylus* y *Artibeus jamaicensis yucatanicus* (Chiroptera: Phyllostomidae) de México. Instituto Politécnico Nacional. Tesis de Doctorado. Págs. 118.
109. Wilkinson, G. S. y Chapman M. A. 1991. Length and Sequence Variation in Evening Bat D-Loop mtDNA. *Genetics*. 128:607-617.
110. Wilkinson, G. S. y Fleming, H. T. 1996. Migration and evolution of lesser long-nosed bats *Leptonycteris curasoae*, inferred from mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*. 5: 329-339
111. Wilkinson, G. S., Mayer, F., Ked, G. y Petri, B. 1997. Evolution of Repeated Sequence Arrays in the D-Loop Region of Bat Mitochondrial DNA. *Genetics*. 146:1035-1048.

112. Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*. 28: 114–138
113. Wright, S. 1951. The genetical Structure of populations. *Annal of Eugenics*. 15:395-420.
114. Wu, H. L., Wan, Q. H. y Fang, S. G. 2006. Population structure and gene flow among wild populations of the black mountain Jack (*Mantiacus crinifrons*) base don mitochondrial DNA control región sequences. *Zoological Science*. 23: 333-340.
115. Zarate-Martínez, D. 2013. Variación genética entre poblaciones de *Pteronotus personatus* (Chiroptera: Mormoopidae) en México. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Tesis de Maestría. Págs. 96.
116. Zarza, E., Reynoso, V. H. y Emerson, B. C. 2008. Diversification in the northern neotropics: mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of the iguana *Ctenosaura pectinata* and related species. *Molecular Ecology*. 17: 3259-3275.
117. Zink, R. M., Kessen, A. E., Line, T. V. y Blackwell-Rago, R. C. 200. Comparative phylogeography of some aridland bird species. *The Condor*. 103(1): 1-10

ANEXOS

Anexo 1

Extracción de ADN total con el Kit Wizard Genomic DNA Purification System (Promega)

Antes de realizar la extracción de ADNt, los tejidos membranosos de 3 mm fueron sometidos a tres lavados: añadiendo 500 µl de ddH₂O, posteriormente se agitaron en un dispositivo vórtex a 1000 rpm para finalmente decantar el ddH₂O vertida inicialmente. Las membranas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Una vez secas las membranas, cada una se colocó en un tubo de 1.5ml y se añadieron 275 µl de la solución de digestión compuesta por: 200 µl de buffer de lisis (Nuclei Lysis Solution), 50 µl de EDTA 0.5 (pH 8.0), 20 µl de Proteinasa K (20mg/ml) para llevar a cabo la lisis del tejido y la degradación de proteínas, y 5 µl de RNase A Solution (4mg/ml). Una vez agregada la solución de digestión, se incubaron las muestras de 16-18 hrs a 55°C. Pasado el tiempo de incubación se añadieron 250 µl de la solución Wizard SV Lysis Buffer a cada muestra agitándolas en un dispositivo vórtex a 1200 rpm. La muestra lisada fue transferida del tubo de 1.5 ml a una minicolumna ensamblada Wizard SV. Se centrifugó a 13,000 x g durante 3 minutos. Posteriormente se removió la minicolumna del ensamblaje y se decantó el líquido del tubo colector. Se colocó nuevamente la minicolumna dentro del tubo colector. Se añadieron 650 µl de la solución Wizard SV Wash Solution a cada ensamblaje y se centrifugó a 13,000 x g durante 1 minuto. Se descarto el líquido del tubo colector repitiendo este paso 4 veces. Una vez culminado lo anterior se centrifugó la minicolumna ensamblada durante 2 minutos a 13,000 x g para secar la matriz de sílica-gel. La minicolumna fue transferida a un nuevo tubo de 1.5 ml y se añadieron 50 µl de ddH₂O

para dejarla incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Finalmente se centrifugó a 13,000 x g durante un minuto para obtener la elución de ADNt.

Anexo 2

Gel de agarosa

Se pesaron 0.32g de agarosa y se adicionaron 40 ml de amortiguador TBE (Tris-borato 0,045M, EDTA 0,001M) para preparar geles al 0.8%. Se calentó la mezcla durante 45 segundos dentro de un horno de microondas convencional agitando hasta que la agarosa se disolvió completamente. La mezcla se dejó enfriar hasta que alcanzó los 50°C y se le agregó 0.4 µl de GelRed™ agitando constantemente para homogeneizar la mezcla. Posteriormente se vertió la mezcla sobre un molde (con los peines previamente colocados) y se dejó que solidificara el gel de agarosa. Para el corrimiento de las muestras se empleó una fuente de poder utilizando 90 volts durante 45 minutos.

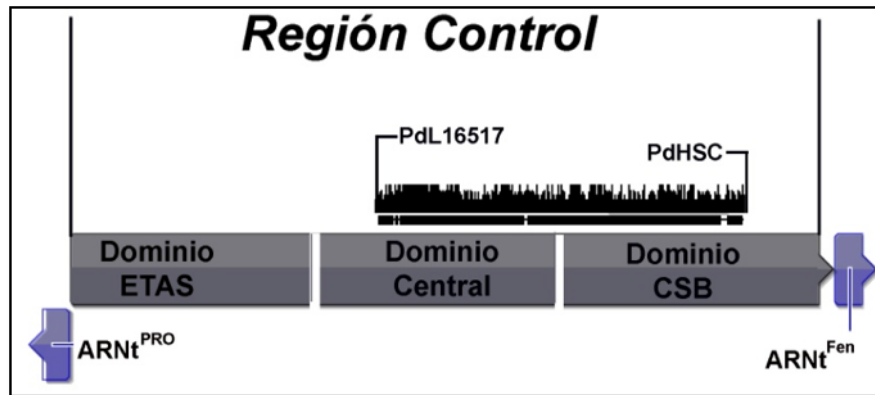
Anexo 3

Cuantificación de ADN en el espectrofotómetro NanoDrop™2000-Thermo Scientific

Se ejecutó el software NanoDrop™ 2000/2000c seleccionando la aplicación Nucleic Acid. Una vez situados dentro de la interfase se colocaron 0.5 µl de ddH₂O en la placa de lectura del espectrofotómetro NanoDrop™2000. Se eligió la opción de Blank Water (blanco de agua). Posteriormente se colocaron 0.5 µl de ADN en la placa de lectura y se dio click en la opción Play para obtener la concentración (ng/uL) de cada una de las muestras.

Anexo 4

Fragmento amplificado del dominio HVII de la región control mitocondrial



Esquema general de la región control, donde se indica la región amplificada (Dominio hipervariable HVII) para *Pteronotus parnellii* utilizando los cebadores PdL16517 y PdHSC.

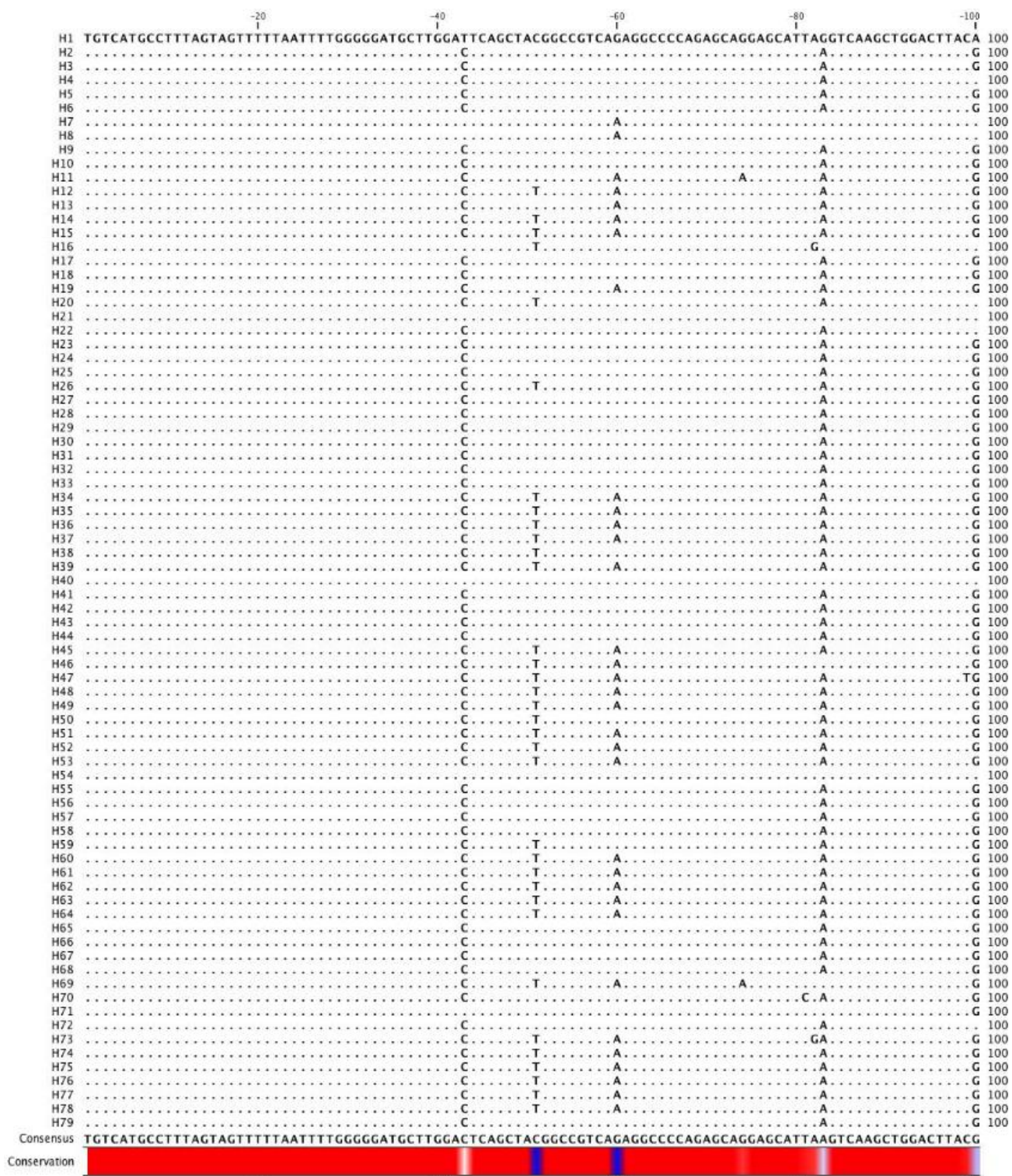
Anexo 5

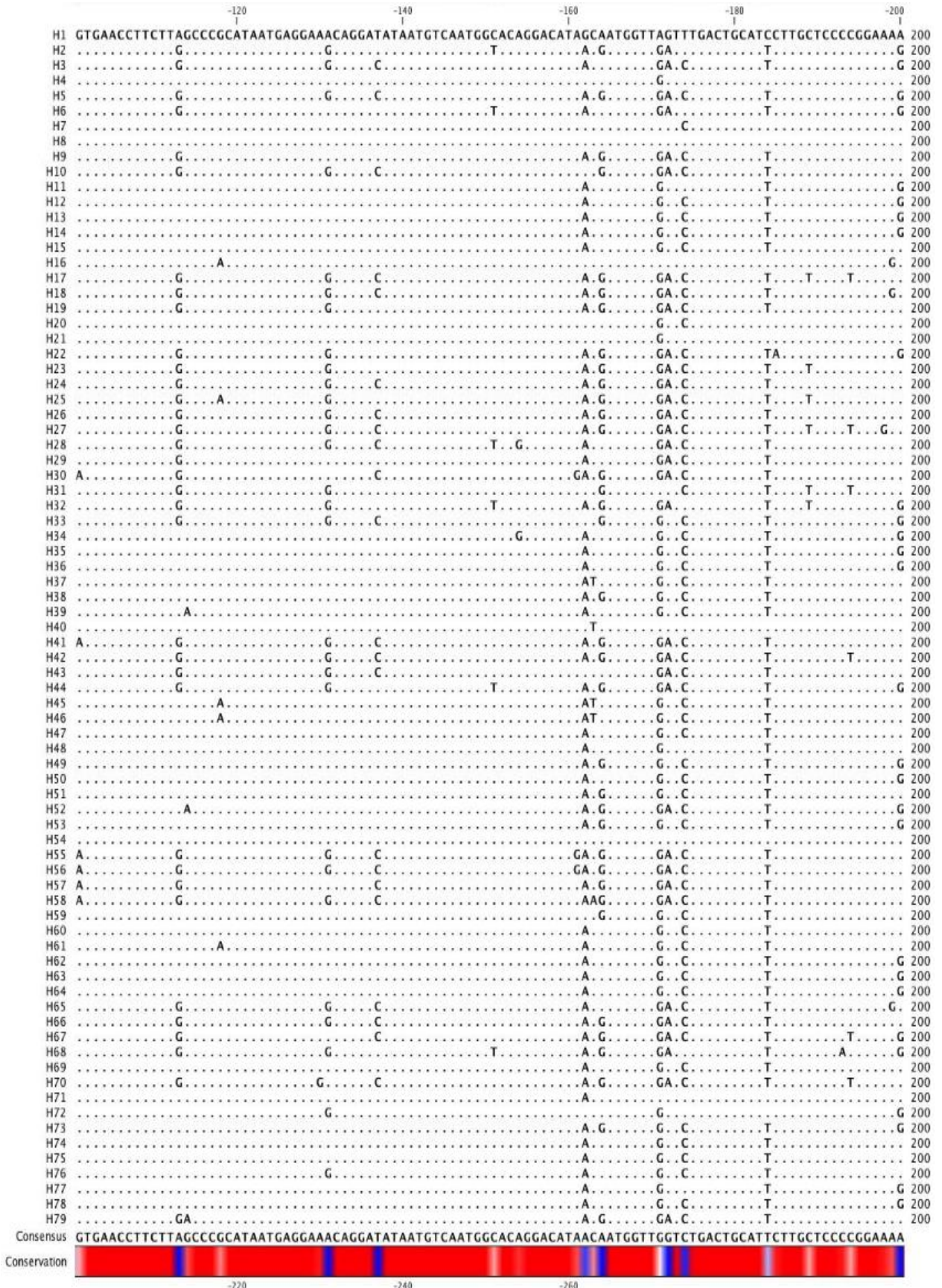
Purificación con el Kit Amicon Ultra-0.5 mL Centrifugal Filters for DNA Purification and Concentration - (Millipore)

Se insertó una minicolumna en un tubo de microcentrifuga y se agregaron 21 μ l del amplificado (PCR) por 480 μ l de ddH₂O para obtener un volumen final de 500 μ l de la mezcla. Se centrifugó a 14,000 x g durante 30 minutos. Finalizado el proceso de centrifugado, se retiró la minicolumna para colocarla de manera invertida en un nuevo tubo de microcentrifuga (1.5ml) y se centrifugó a 14,000 x g durante 2 minutos para obtener un volumen final de 20 μ l del producto purificado.

Anexo 6

Sitios polimórficos de los 79 haplotipos en el dominio hipervariable HVII de la región control mitocondrial de *P. parnellii*





	-220	-240	-260			
H1	TGGTTTCCACAAGGGGACAATCCAATCCATGGTTTCAGGACATAAACCAGAGCGCGGTGCACACACCCACGT			271		
H2	A	T G	GA	GT	271	
H3	A	T	GA	GT	271	
H4					271	
H5	A	T G	GA	GT	271	
H6	A	T G	GA		271	
H7					271	
H8					271	
H9	A	T	GA	GT	271	
H10	A	T	GA	GT	271	
H11	A	T		GT	271	
H12	A	T G			271	
H13	A	T G			271	
H14	A	T G	G		271	
H15	A	T G			271	
H16					271	
H17	A	T	GA		271	
H18	A	T	GA	GT	271	
H19	A	T	GA	GT	271	
H20	A				271	
H21		G			271	
H22		T	GA	GT	271	
H23	A	T	GA	GT	271	
H24	A	T G	GA	GT	271	
H25	A	T	GA	GT	271	
H26	A	T	GA	GT	271	
H27	A	T G	GA		271	
H28	A	T G	GG		271	
H29	A	T	GA	GT	271	
H30	A	T	GA	GT	271	
H31	A	T G	GA G		271	
H32	A	T G	GA		271	
H33	A	T	GA	GT	271	
H34	A	T G			271	
H35	A	T G	G		271	
H36	A	T			271	
H37	A	T G			271	
H38	A	T G			271	
H39		T G			271	
H40					271	
H41	A	T	GA	GT	271	
H42	A	T G	GA		271	
H43	A	T	GA	GT	271	
H44	A	T G	GA		271	
H45	A	T G			271	
H46	A	T G			271	
H47	A	T G			271	
H48	A	T			271	
H49	A	T G			271	
H50	A	G			271	
H51	A	T G			271	
H52	A	T G		T	271	
H53	A	T			271	
H54		G			271	
H55	A	T	GA G	GT	271	
H56	A	T	GA	GT	271	
H57	A	T	C	GA	GT	271
H58	A	T	GA	GT	271	
H59	A	T G			271	
H60	A	T G		GT	271	
H61	A	T G			271	
H62	A	T G		A	271	
H63	A C	T			271	
H64	A	T G	G		271	
H65	A	T	GG		271	
H66	A	T	GA	GT	271	
H67	A	T G	GA		271	
H68	A T	T G	G	GA		271
H69	A	T G		A	271	
H70	A	T G	GA		271	
H71					271	
H72	A				271	
H73	A	T G			271	
H74	A	T			271	
H75	A	G			271	
H76	A	T G			271	
H77	A	T G			271	
H78	A	T G		A	271	
H79	A	T	GA	GT	271	
Consensus	TGATTTCCACAAGGGGACAATCTAGTCCATGGTTTCAGGACATAAACCAGAGCGCGGTGCACACACCCACGT					
Conservation						

Anexo 7

Tabla de distribución de haplotipos de *P. parnellii* en México.

H=haplotipos, TI=El Tigre, FR=Frontera, RO=El Rosario, TGA=La Tigra, AM=Amatlán de cañas, OR= Los Ortices, MA= Mina América, PX= Piaxtla, JU= Justlahuaca, TR=Los Troncones, CV= Ciudad Valles, ABE= Arroyo del Bellaco, SE= San Sebastián, LC= Lázaro Cárdenas, TA= Tapanatepec, AB=Agua Blanca, FO=San Francisco, CA= Calakmul, BO= Bolonchen, KO= Kantemó, PA= Pedro Antonio de los Santos, F= Frecuencia total

H	POBLACIONES														F							
	TI	FR	RO	TGA	AM	OR	MA	PX	JU	TR	CV	ABE	SE	LC		TA	AB	FO	CA	BO	KO	PA
H1																1	1	1			2	5
H2								1								1						2
H3																1						1
H4														1		1						2
H5												1				3						4
H6												1										1
H7												1										1
H8												2					1	1	1			5
H9										3	3	4										10
H10												3		2	1						1	7
H11										6	3	1										10
H12	8	5	11	1	3	3																31
H13			2	2	3																	7
H14		1			1																	2
H15				1	1	2	3	1	4													12
H16																			1		1	2
H17																			1			1
H18																	1		1		1	3
H19																			1			1
H20		1																1				2
H21																			1			1
H22																			1			1
H23																			1			1
H24															1		1	1				3
H25																			1			1
H26																			1			1

H70			1	1
H71			1	1
H72			1	1
H73		1		1
H74		1		1
H75		1		1
H76		1		1
H77	1			1
H78	1			1
H79			1	1
				200

Anexo 8

Valores pareados de F_{ST} entre las 21 poblaciones de *Pteronotus parnellii*.

	TI	FR	RO	TGA	AM	OR	MA	PX	JU	TR	CV	ABE	SE	LC	TA	AB	FO	CA	BO	KO	PA
TI																					
FR	0.032																				
RO	0.017	0.031																			
TGA	0.194	0.08	0.182																		
AM	0.145	0.046	0.047	0.07																	
OR	0.142	0.069	0.165	0.1	0.139																
MA	0.578	0.334	0.56	0.2	0.446	0.235															
PX	0.28	0.195	0.335	0.082	0.203	0.114	0.113														
JU	0.552	0.304	0.533	0.124	0.42	0.162	0.009	0.08													
TR	0.665	0.578	0.69	0.565	0.595	0.56	0.618	0.408	0.618												
CV	0.637	0.54	0.67	0.523	0.555	0.537	0.56	0.32	0.56	0.01											
ABE	0.564	0.49	0.607	0.466	0.5	0.5	0.5	0.3	0.5	0.01	0.01										
SE	0.516	0.431	0.563	0.393	0.435	0.424	0.458	0.144	0.441	0.354	0.187	0.163									
LC	0.667	0.587	0.709	0.567	0.6	0.6	0.6	0.342	0.6	0.32	0.125	0.036	0.04								
TA	0.472	0.403	0.533	0.374	0.395	0.42	0.406	0.168	0.401	0.25	0.104	0.05	0.01	0.01							
AB	0.501	0.424	0.556	0.417	0.423	0.46	0.453	0.24	0.45	0.23	0.089	0.001	0.038	0.01	0.01						
FO	0.568	0.499	0.618	0.473	0.5	0.52	0.488	0.292	0.488	0.242	0.086	0.01	0.083	0.01	0.01	0.01					
CA	0.503	0.425	0.558	0.4	0.433	0.446	0.406	0.225	0.403	0.24	0.109	0.01	0.098	0.028	0.01	0.01	0.01				
BO	0.59	0.483	0.65	0.453	0.502	0.5	0.449	0.255	0.462	0.26	0.12	0.01	0.12	0.047	0.01	0.01	0.01	0.01			
KO	0.641	0.535	0.695	0.517	0.553	0.56	0.5	0.3	0.511	0.32	0.158	0.01	0.15	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01		
PA	0.552	0.481	0.605	0.46	0.486	0.503	0.455	0.303	0.456	0.262	0.139	0.004	0.178	0.051	0.057	0.005	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

Anexo 9

Valores pareados de Flujo génico (Nm) entre las 21 poblaciones de *Pteronotus parnellii*.

	TI	FR	RO	TGA	AM	OR	MA	PX	JU	TR	CV	ABE	SE	LC	TA	AB	FO	CA	BO	KO	PA
TI																					
FR	28.8																				
RO	16.8	-																			
TGA	2.1	6.3	2.9																		
AM	3.4	10.0	14.6	5.6																	
OR	2.2	6.9	2.5	52.1	2.3																
MA	0.4	0.9	0.5	1.9	0.6	1.4															
PX	1.3	2.1	1.3	5.6	1.7	5.1	3.0														
JU	0.4	1.1	0.5	3.3	0.7	2.1	64.0	4.5													
TR	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.7	0.3												
CV	0.3	0.5	0.4	0.5	0.4	0.5	0.4	1.1	0.4	-											
ABE	0.3	0.4	0.3	0.5	0.4	0.5	0.4	1.0	0.4	2.5	28.9										
SE	0.5	0.7	0.6	0.9	0.6	0.9	0.5	3.0	0.6	0.9	2.2	2.4									
LC	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	1.0	0.3	1.1	3.5	27.5	13.0								
TA	0.6	0.8	0.6	0.9	0.7	1.0	0.6	2.6	0.7	1.6	4.1	8.3	-	-							
AB	0.5	0.7	0.6	0.7	0.6	0.8	0.5	1.6	0.6	1.7	4.9	37.7	12.5	-	-						
FO	0.4	0.5	0.4	0.6	0.5	0.6	0.4	1.2	0.5	1.6	4.8	-	5.3	-	-	-					
CA	0.5	0.7	0.5	0.8	0.6	0.8	0.6	1.7	0.7	1.6	3.7	-	4.4	15.0	-	-	-				
BO	0.6	0.8	0.7	1.0	0.7	1.1	0.8	2.1	0.8	2.1	5.4	-	5.3	19.2	-	-	-	-			
KO	0.5	0.6	0.5	0.7	0.6	0.7	0.6	1.5	0.7	1.5	3.4	-	3.6	21.7	-	-	-	-	-		
PA	0.4	0.5	0.4	0.6	0.5	0.6	0.5	1.2	0.5	1.4	2.8	81.6	2.2	8.3	8.1	86.1	-	-	-	-	-

Anexo 10

Distancias genéticas en porcentaje de las 21 poblaciones estudiadas de *Pteronotus parnellii*, de acuerdo a modelo de Tamura y Nei (1993).

	TI	FR	RO	TGA	AM	OR	MA	PX	JU	TR	CV	ABE	SE	LC	TA	AB	FO	CA	BO	KO	PA
TI																					
FR	0.5																				
RO	0.2	0.5																			
TGA	0.6	0.9	0.6																		
AM	0.3	0.6	0.3	0.7																	
OR	0.7	1.0	0.8	0.9	0.8																
MA	0.8	1.1	0.9	0.9	0.9	1.1															
PX	1.7	2.0	1.8	1.7	1.7	1.8	1.7														
JU	0.7	1.0	0.8	0.8	0.8	1.0	0.6	1.6													
TR	3.2	3.4	3.1	3.3	3.1	3.2	3.7	3.6	3.5												
CV	3.6	3.7	3.5	3.5	3.5	3.6	3.9	3.6	3.7	2.3											
ABE	4.7	4.7	4.6	4.4	4.6	4.5	4.8	4.3	4.5	3.3	3.1										
SE	3.2	3.4	3.2	3.2	3.2	3.3	3.6	3.1	3.3	3.9	3.5	3.9									
LC	5.0	5.0	4.9	4.7	4.8	4.8	5.3	4.3	4.9	3.9	3.5	3.5	3.3								
TA	4.4	4.5	4.4	4.3	4.3	4.3	4.7	4.1	4.4	4.4	4.1	4.3	3.6	3.9							
AB	4.3	4.4	4.3	4.3	4.2	4.4	4.8	4.4	4.6	4.1	3.9	3.9	3.9	3.9	4.3						
FO	5.3	5.3	5.3	5.0	5.2	5.1	5.4	4.8	5.1	4.3	3.9	3.8	4.1	3.7	4.5	4.4					
CA	5.0	4.9	5.9	4.7	4.9	4.7	4.9	4.6	4.7	4.5	4.3	4.1	4.4	4.3	4.7	4.5	4.5				
BO	5.4	5.3	5.3	5.0	5.3	5.1	5.2	5.1	5.0	4.9	4.7	4.4	5.0	4.9	5.2	5.0	4.9	4.8			
KO	5.4	5.4	5.4	5.1	5.3	5.2	5.2	5.0	5.0	4.8	4.5	4.2	4.7	4.5	4.9	4.5	4.6	4.6	4.8		
PA	5.9	5.8	5.8	5.5	5.7	5.5	5.7	5.3	5.5	4.9	4.6	4.3	5.0	4.6	5.2	4.8	4.7	4.8	5.0	4.7	

Anexo 11

Comparación en porcentaje de las distancias genéticas entre las poblaciones de Pedro Antonio de los Santos – Quintana Roo (GS) y El Tigre – Sonora (PN-DB) de acuerdo a modelo de Tamura y Nei (1993).

DISTANCIAS GENÉTICAS: PEDRO ANTONIO DE LOS SANTOS										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.PA88										
2.PA89	0.4									
3.PA90	9.8	9.2								
4.PA91	0.4	0	9.2							
5.PA92	8.6	8.1	1.6	8.1						
6.PA93	9.2	8.6	0.4	8.6	1.2					
7.PA94	8.5	8	1.5	8	1.5	1.1				
8.PA95	9.1	8.5	1.1	8.5	1.1	0.7	1.1			
9.PA96	1.9	1.5	11.4	1.5	9.1	10.8	10.1	10.7		
10.PA97	7.6	7.1	1.6	7.1	0.8	1.2	1.5	1.1	9.1	

DISTANCIAS GENÉTICAS: EL TIGRE										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.TI56										
2.TI57	0									
3.TI58	0	0								
4.TI59	0	0	0							
5.TI60	0	0	0	0						
6.TI61	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4					
7.TI62	0	0	0	0	0	0.4				
8.TI63	0	0	0	0	0	0.4	0			
9.TI64	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.7	0.4	0.4		
10.TI65	0	0	0	0	0	0.4	0	0	0.4	

Anexo 12

Tabla de los haplotipos indicando su ubicación geográfica.

Haplogrupo A		Haplogrupo B		Haplogrupo C	
Haplotipo	Ubicación geográfica	Haplotipo	Ubicación Geográfica	Haplotipo	Ubicación geográfica
H2	Tabasco	H11	Veracruz	H1	Tabasco
H3	Tabasco	H12	Nayarit	H4	Tabasco
H5	Tabasco	H13	Nayarit	H7	Tabasco
H6	Tabasco	H14	Nayarit	H8	Veracruz
H9	Veracruz	H15	Nayarit	H16	Campeche
H10	Veracruz	H34	Sinaloa	H20	Yucatán
H17	Campeche	H35	Sinaloa	H21	Yucatán
H18	Campeche	H36	Sinaloa	H40	Q. Roo
H19	Campeche	H37	Guerrero	H54	Q. Roo
H22	Yucatán	H38	Guerrero	H71	Oaxaca
H23	Yucatán	H39	Guerrero	H72	Oaxaca
H24	Yucatán	H45	Morelos		
H25	Yucatán	H46	Morelos		
H26	Yucatán	H47	Morelos		
H27	Yucatán	H48	Colima		
H28	S.L.P	H49	Colima		
H29	S.L.P	H50	Colima		
H30	Chiapas	H51	Colima		
H31	Chiapas	H52	Colima		
H32	Chiapas	H53	Colima		
H33	Chiapas	H59	Puebla		
H41	Q. Roo	H60	Puebla		
H42	Q. Roo	H61	Puebla		
H43	Q. Roo	H62	Sinaloa		
H44	Oaxaca	H63	Sinaloa		
H55	Q. Roo	H64	Oaxaca		
H56	Q. Roo	H69	Oaxaca		
H57	Q. Roo	H73	Sinaloa		
H58	Q. Roo	H74	Sinaloa		
H65	Oaxaca	H75	Sinaloa		
H66	Oaxaca	H76	Sinaloa		
H67	Oaxaca	H77	Sonora		
H68	Oaxaca	H78	Sonora		
H70	Oaxaca				
H79	Tamaulipas				

