



UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

**Variación genética entre poblaciones de *Pteronotus personatus*
(Chiroptera: Mormoopidae) en México**

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestra en biología

PRESENTA:

Dafne Gri Zárate Martínez

Director:

Dr. Ricardo López Wilchis

Asesoras:

Dra. Alejandra Serrato Díaz

Dra. Irene D. L. A. Barriga Sosa

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

El presente trabajo se realizó gracias a la beca otorgada por el CONACyT
durante el periodo 2010-2012
Número de registro: 248849

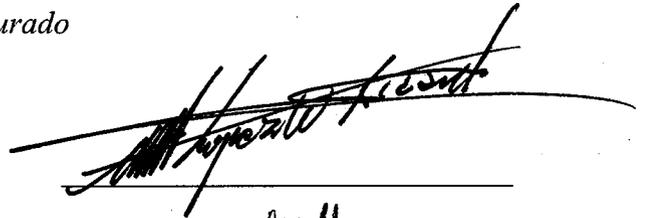
El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Dafne Gri Zárate Martínez

El día 17 de abril del año 2013

Comité Tutorial y Jurado

Director: Dr. Ricardo López Wilchis



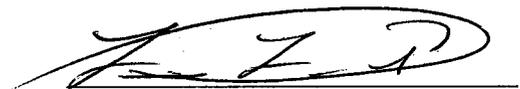
Asesora: Dra. Irene D. L. A. Barriga Sosa (Presidenta)



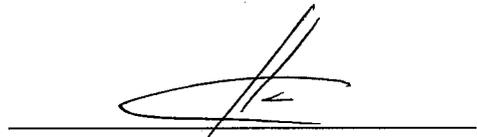
Asesora: Dra. Alejandra Serrato Díaz (Secretaria)



Sinodal: Dra. Livia Socorro León Paniagua (Vocal)



Sinodal: Dra. Ella Vázquez Domínguez (Vocal)



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.

El laboratorio de Biología Molecular de la Planta Experimental de Producción Acuícola (PEXPA) de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa bajo la dirección de la
Dra. Irene D. L. A. Barriga Sosa.

El laboratorio Divisional de Biología Molecular de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa bajo la dirección de la
Dra. Alejandra Serrato Díaz.

DEDICATORIA

A mi familia, base de fraternidad, confianza, apoyo y amistad.

A mi padre por el apoyo constante e incondicional en todos los avatares de mi vida.

A mi madre por su confianza y guía espiritual.

A mi hermano por su complicidad, cuidados y amistad incondicionales.

A “momo” por compartir el espacio y llenar vacíos de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ricardo López-Wilchis por sus sabios consejos en la dirección de este trabajo de tesis, pero sobre todo por su dedicación a mi formación profesional y personal, por su paciencia, confianza, amistad, apoyo constantes y a quien debo mi formación académica.

Al Dr. Luis Manuel Guevara-Chumacero por introducirme al mundo de la biología molecular, por su generosidad al compartir conmigo sus conocimientos para mi formación profesional, y quien me ha brindado tiempo, paciencia, apoyo, asesoría y amistad.

A la Dra. Alejandra Serrato-Díaz por sus atinadas sugerencias en la dirección de este trabajo, tiempo, confianza, apoyo y amistad, pero sobre todo por su dulzura.

A la Dra. Irene D. L. A. Barriga-Sosa por su dirección y enseñarme disciplina en la investigación.

A mi amigo y colega José D. Ruiz Ortiz, por las experiencias compartidas y por su apoyo constante e incondicional a lo largo de todo este tiempo.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la PEXPA, Rosita, Ricardo, Alejandro, Laura, por sus críticas, sugerencias, compañerismo, pero sobre todo por su amistad.

A mi mejor amiga Lissy, a mi amigo Laurent y a mi primo Arturo por su tiempo y apoyo en el diseño de carteles, presentaciones y con ese idioma que tanto me cuesta trabajo llamado inglés.

A mis amigos por confiar en mí, motivarme para seguir adelante y por comprender mis ausencias en momentos importantes de sus vidas durante este proceso.

A los miembros del jurado la Dra. Ella Vázquez Domínguez y la Dra. Livia León Paniagua por sus valiosas observaciones a la tesis.

Al Dr. Abel Senties Granados por su apoyo como coordinador de la Maestría.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABLAS	13
RESUMEN	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUCCIÓN	17
2. JUSTIFICACIÓN	22
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	23
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS	24
5.1.OBJETIVO GENERAL	24
5.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
6. MATERIAL Y MÉTODO	25
6.1.Trabajo de campo.....	25
6.1.1. Muestras y área de estudio.....	25
6.2.Trabajo de laboratorio.....	26
6.2.1. Extracción de ADN total.....	26
6.2.2. Amplificación vía la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	26
6.2.2.1.Región control.....	26
6.2.2.2.Citocromo b.....	28
6.2.3. Purificación de los productos amplificados.....	29
6.2.3.1.Región control.....	29

6.2.3.2.Citocromo b.....	29
6.2.4. Obtención de secuencias nucleotídicas.....	29
6.3. Trabajo de gabinete.....	30
6.3.1. Edición y alineamiento de secuencias.....	30
6.3.2. Diversidad genética.....	30
6.3.3. Estructura genética poblacional.....	30
7. RESULTADOS.....	34
7.1.Región Control.....	37
7.1.1. Patrones generales de la variación de las secuencias.....	37
7.1.2. Diversidad genética.....	37
7.1.3. Estructura genética poblacional.....	39
7.2.Citocromo b.....	49
7.2.1. Patrones generales de la variación de las secuencias.....	49
7.2.2. Diversidad genética.....	49
7.2.3. Estructura genética poblacional.....	51
8. DISCUSIÓN.....	60
9. CONCLUSIONES.....	74
10. LITERATURA CITADA.....	76
ANEXO 1.....	87
Sitios polimórficos de los 57 haplotipos de la región control del ADNmt.	
ANEXO 2.....	90
Lista de los 57 haplotipos de la región control del ADNmt.	
ANEXO 3.....	91

Sitios polimórficos de los 19 haplotipos del gen citocromo b del ADNmt.

ANEXO 4.....93

Lista de los 19 haplotipos del gen citocromo b del ADNmt.

ANEXO 5.....94

Estudios moleculares de murciélagos y mamíferos. Se menciona la especie, entre paréntesis el orden y la familia, número de individuos (n), pares de bases (pb), número de haplotipos (k) diversidad haplotípica (h), diversidad nucleotídica (π), índice de fijación (F_{ST}) y cita bibliográfica. Con un asterisco se indican las especies cuyo muestreo abarcó la República Mexicana.

ANEXO 6.....95

Distancias geográficas en kilómetros calculadas por medio del programa Google Earth 6.2. entre las 13 poblaciones de *P. personatus* en México.

ANEXO 7.....96

Zárate, D., Serrato, A. y López-Wilchis, R. 2012. Importancia ecológica de los murciélagos. *Contactos*. 85: 19-27.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la región control, donde se señala la región amplificada para *P. personatus* utilizando los cebadores L16517 y HSC (Tomado de Guevara-Chumacero, 2009).

Figura 2. Mapa de citocromo b, donde se señala la región amplificada para *P. personatus* (Tomado de Guevara-Chumacero, 2009).

Figura 3. Mapa obtenido por Google Earth 6.2., donde se muestra la dirección en la que se calcularon las distancias en kilómetros entre las 13 localidades de *P. personatus*.

Figura 4. Esquema de la distribución geográfica de *P. personatus* en la República Mexicana en café. Las localidades muestreadas se señalan en círculos azules y se describen con la nomenclatura siguiente: SD = Santo Domingo; FR = Frontera; VI = Viejas; PO = Playa de Oro; AM = Amiales; OR = Ortíces; LA = Laguitos; CA = Catemaco, AR = Arroyo del Bellaco; PU = Pujal; TA = Taninul; AB = Agua Blanca; KA = Kantemó. Se señalan los principales sistemas montañosos de México.

Figura 5. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas entre todas las poblaciones de *P. personatus* para la región control.

Figura 6. Red haplotípica de los 57 haplotipos de *P. personatus* de la región control. El tamaño de las figuras representa las frecuencias haplotípicas; los círculos negros indican los

haplotipos perdidos; las líneas representan los cambios mutacionales. Los haplotipos azules corresponden al Pacífico; los guindas, al Golfo de México; los verdes, al Sureste; guinda con azul, a Golfo-Pacífico y verde con azul a Pacífico-Sureste

Figura 7. Filograma Neighbor-Joining de los 57 haplotipos de *P. personatus* usando el modelo de Tamura-Nei con 10000 réplicas. Se utilizó la secuencia de *Pteronotus parnellii* como grupo externo. Las líneas guinda y azul señalan el clado que abarca las poblaciones de Golfo-Pacífico y la línea verde el Sureste.

Figura 8. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas de todas las poblaciones de *P. personatus* para el gen citocromo b.

Figura 9. Red haplotípica de los 19 haplotipos de *P. personatus* del gen citocromo b. El tamaño de las figuras representa las frecuencias haplotípicas; los círculos negros pequeños indican los haplotipos perdidos; las líneas representan los cambios mutacionales. Los haplotipos azules corresponden al Pacífico; los guindas, al Golfo de México; los verdes, al Sureste; guinda con verde, al Golfo-Sureste.

Figura 10. Filograma Neighbor-Joining de los 19 haplotipos de *P. personatus* con el gen citocromo b usando el modelo de Kimura 2-parámetros con 10000 réplicas. Se utilizó la secuencia de *Pteronotus parnellii* y *Mormoops megalophylla* como grupo externo. Las líneas guinda y azul señalan el clado que abarca las poblaciones de Golfo-Pacífico y la línea verde el Sureste

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Localidades con la entidad federativa de la República Mexicana de procedencia, sus coordenadas geográficas y el tamaño de muestra (individuos) analizado para cada marcador mitocondrial (RC: región control; Cit b: citocromo b).

Tabla 2. Índices de diversidad genética para las poblaciones estudiadas de *P. personatus* de la región control del ADNmt. Tamaño de muestra (n), sitios segregantes (s), número de haplotipos (k), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π).

Tabla 3. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) realizados para la región control del ADNmt. EP = entre poblaciones, DP = Dentro de poblaciones, EG = Entre grupos, EPDG = Entre poblaciones dentro de grupos. $*P < 0.05$.

Tabla 4. Flujo génico entre poblaciones a partir de la región control del ADNmt, usando el modelo de Hudson *et al.* (1992).

Tabla 5. Distancias genéticas (en porcentaje) entre las 13 localidades de *P. personatus* obtenidas para región control de acuerdo al modelo de Tamura-Nei (Tamura y Nei, 1993).

Tabla 6. Índices de diversidad molecular de *P. personatus* para las localidades estudiadas con el gen mitocondrial citocromo b. Tamaño de muestra (n), sitios segregantes (s), número de haplotipos (k), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π).

Tabla 7. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) realizados para el gen mitocondrial citocromo b. EP = entre poblaciones, DP = Dentro de poblaciones, EG = Entre grupos, EPDG = Entre poblaciones dentro de grupos. * $P < 0.05$.

Tabla 8. Flujo génico entre poblaciones usando el modelo de Hudson *et al.* (1992), para el gen mitocondrial citocromo b.

Tabla 9. Distancias genéticas (en porcentaje) con base en el gen citocromo b entre las 10 localidades de *P. personatus* de acuerdo al modelo de Kimura 2-parámetros (Kimura, 1980).

RESUMEN

Se evaluó la diversidad genética del murciélago insectívoro *Pteronotus personatus* por medio de 120 secuencias del dominio variable HVII de la región control (RC, 334 pares de bases) y 50 del gen citocromo b (Cit b, 561 pb) del ADN mitocondrial en 13 y 10 localidades respectivamente a lo largo de su distribución dentro de la República Mexicana. Con ambos marcadores el valor de la diversidad genética fue variable (RC: $h = 0.250-1.00$, $\pi = 0.00075-0.04255$; Cit b: $h = 0.286-1.000$, $\pi = 0.00051-0.00357$) y se resolvieron un total de 57 y 19 haplotipos respectivamente. Los niveles más bajos de flujo génico se presentaron entre las localidades Agua Blanca y Kantemó (Sureste) con respecto a las localidades restantes (Golfo-Pacífico). El Análisis de Varianza Molecular, permitió determinar que las poblaciones de las vertientes Golfo vs Pacífico se encuentran estructuradas (AMOVA: RC: $F_{ST} = 0.439$, $P < 0.05$; Cit b: $F_{ST} = 0.630$, $P < 0.05$) con posibilidad de flujo génico histórico entre algunas localidades y una marcada estructuración entre Golfo-Pacífico vs Sureste (AMOVA: RC: $F_{ST} = 0.884$, $P < 0.05$; Cit b: $F_{ST} = 0.958$, $P < 0.05$), con valores altos de distancia genéticas (RC: 5.1%; Cit b: 1.4%). Los análisis genealógicos y filogenéticos apoyan esta separación, ya que para la RC se encontraron 15 cambios mutacionales intermedios y 24 para Cit b, esto permite inferir la existencia de dos posibles linajes de *P. personatus* dentro de la República, uno para el Sureste y el otro conformado por el sistema Golfo-Pacífico. Esta estructuración, diferenciación y aislamiento, puede estar promovida por los sistemas montañosos y el Istmo de Tehuantepec como barreras geográficas.

ABSTRACT

We assessed the genetic diversity of insectivorous bat *Pteronotus personatus* through 120 HVII variable domain sequences of the control region (CR, 334 bp) and 50 of the cytochrome b gene (Cyt b, 561 bp) of mitochondrial DNA in 13 and 10 respectively locations along their distribution within Mexico. Variable levels of genetic diversity were determined with both markers (RC: $h = 0.250-1.00$, $\pi = 0.00075-0.04255$; Cyt b: $h = 0.286-1000$, $\pi = 0.00051-0.00357$) and a total of 57 and 19 haplotypes were resolved, respectively. The lowest levels of gene flow were observed between the sites Kantemo and Agua Blanca (South) in relation to the remaining locations (Gulf-Pacific). The Analysis of Molecular Variance revealed that, the populations of the Pacific vs Gulf slopes are structured (AMOVA: RC: $F_{ST} = 0.439$, $P < 0.05$; Cyt b: $F_{ST} = 0.630$, $P < 0.05$) with the possibility of historical gene flow between some locations and a marked structuring among Gulf-Pacific vs Southeast (AMOVA: RC: $F_{ST} = 0.884$, $P < 0.05$; Cyt b: $F_{ST} = 0.958$, $P < 0.05$), with high values of genetic distance (RC: 5.1%; Cyt b: 1.4%). Genealogical and phylogenetic analyzes support this separation, since for RC mutational changes were found 15 intermediate and 24 for Cyt b. This allows us to infer the existence of two possible lineages of *P. personatus* within the Republic, one to the east and the other consisting of the Gulf-Pacific system. This structuring, differentiation and isolation, may be promoted by the mountain systems and the Isthmus of Tehuantepec like geographical barriers.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro del orden Chiroptera, los murciélagos de la familia Mormoopidae conocidos coloquialmente como murciélagos “bigotudos”, “rostro de fantasma” o “de espalda desnuda”, se caracterizan por presentar excrecencias en la piel debajo del labio inferior (“verrugas”), orejas en forma de embudo, son de tamaño medio y exclusivamente insectívoros (Smith, 1972). Se distribuyen desde el sur de Texas, a través de México, América Central, las Indias Occidentales, el norte de Sudamérica, una región de Brasil y el Oeste de los Andes en Perú. Viven en una amplia variedad de ambientes que van desde los bosques tropicales húmedos a bosques subtropicales áridos, semiáridos y matorrales (Smith, 1972; Simmons y Conway, 2001).

Desde su descripción inicial en el siglo XIX, los murciélagos mormoópidos han sido sujetos de amplia controversia taxonómica, ya que habían sido incluidos en la familia Vespertilionidae (Fitzinger, 1870; Gray 1825) y Noctilionidae (Gray, 1839; Gray, 1866). También fueron considerados en Chilonycterinae como una subfamilia de los Phyllostomidae (Flower y Lydekker, 1891; Miller, 1907) y agrupados por algunos autores en tres géneros *Chilonycteris*, *Mormoops* y *Pteronotus* (Miller, 1907; Rehn, 1902). Finalmente Smith (1972), con base en caracteres morfológicos (húmero, fémur y trago), concluyó que éstos murciélagos eran suficientemente diferentes para darles el estatus de familia Mormoopidae con dos géneros (*Mormoops* - Leach, 1821 y *Pteronotus* - Gray, 1838) y ocho especies (*Mormoops blainvilli* - Leach 1821, *M. megalophylla*, - Peters 1864, *Pteronotus parnellii* (Gray, 1843), *P. davyi* - Gray 1838, *P. gymnonotus* - Natterer 1843, *P. quadridens* (Gundlach, 1840), *P. macleayii*

(Gray, 1839) y *P. personatus* (Wagner, 1843)). El incremento de la aceptación del grupo como una familia distinta está basado en gran medida en la revisión del trabajo de Smith (1972).

El interés en la filogenia de la familia Mormoopidae ha florecido recientemente con la posibilidad de tener información morfológica, molecular y análisis combinados. Dentro de los estudios recientes, se infirieron las relaciones filogenéticas en las especies de la familia Mormoopidae por medio de análisis de parsimonia de 209 caracteres morfológicos. Los resultados demostraron la monofilia de la familia, e indican que *Pteronotus* y *Mormoops* son grupos hermanos monofiléticos; también, apoyan la monofilia del subgénero *Pteronotus*, siendo éste el grupo hermano de *Chilonycteris* (Simmons y Conway, 2001).

Asimismo, se han evaluado las relaciones intragenéricas e intraespecíficas dentro de la familia Mormoopidae a partir de las secuencias de los genes citocromo b y *Rag2*. Los resultados indican que *Mormoops megalophylla* surgió recientemente y que dentro del género *Pteronotus* hay cuatro subgéneros válidos: *Phyllodia*, *Chilonycteris*, *Pteronotus* y un subgénero no descrito, ya que el análisis de ADN mitocondrial (ADNmt) y nuclear indican que *P. personatus* no comparte un ancestro común con *P. quadridens* y *P. macleayii*. Asimismo, para *P. davyi* y *P. parnellii* la magnitud de la distancia genética sugiere la posibilidad de dos especies biológicas existentes dentro de los taxa actualmente reconocidos (Lewis-Oritt *et al.*, 2001).

A partir de análisis morfológicos y de secuencias de ADNmt (12S ARNr, ARNt^{val}, 16S ARNr) se determinaron las relaciones a nivel intrafamiliar en los murciélagos de la familia Mormoopidae y a nivel interfamiliar en los noctiliónidos. Los análisis de parsimonia de las secuencias de ADNmt y los datos combinados (morfológicos y moleculares) apoyan fuertemente: 1) la monofilia de la familia Mormoopidae, de los dos géneros *Mormoops* y

Pteronotus y el subgénero *Pteronotus*; 2) las relaciones entre las familias Phyllostomidae y Mormoopidae como grupos hermanos y 3) la familia Mystacinidae como grupo hermano del clado de estos dos últimos (Van Den Bussche *et al.*, 2002).

Dávalos (2006) evaluó las hipótesis biogeográficas de Smith (1972) y de Czaplewski y Morgan (2003) acerca de la diversificación de la familia Mormoopidae por medio de secuencias nucleotídicas de genes mitocondriales (12S ARNr, ARNt^{val}, 16S ARNr y citocromo b) y un gen nuclear (*Rag2*). Sus resultados sugieren que los mormoópidos se diversificaron en el norte del Neotrópico, y que las subespecies de *Pteronotus parnellii*, *P. davyi* y *P. personatus*, deberían elevarse a nivel de especie.

El conocimiento que se tiene de las especies *Mormoops blainvillii*, *M. megalophylla*, *Pteronotus parnellii*, *P. davyi*, *P. quadridens*, *P. macleayii* y *P. personatus*, se ha resumido en una serie de monografías que incluyen datos de nomenclatura, características generales, fósiles, forma y función, ontogenia y reproducción, ecología, comportamiento, genética y conservación (Adams, 1989; De la Torre y Medellín, 2010; Herd, 1983; Lancaster y Kalko, 1996; Mancina, 2005; Rezsutek y Cameron, 1993; Rodríguez-Durán y Kunz, 1992). En particular para *P. davyi*, Guevara-Chumacero *et al.* (2010) determinaron con base en la región control del ADNmt la presencia de dos posibles linajes en la República Mexicana, asociados con el Istmo de Tehuantepec y con los sistemas montañosos como barreras físicas para su dispersión. Además, se ha propuesto que la distribución actual de ésta especie pudo estar influenciada por los cambios climáticos ocurridos en el Pleistoceno.

Actualmente se reconocen dos subespecies para *P. personatus* (Smith, 1972): *P. p. psilotis* - Dobson, 1878 y *P. p. personatus* (Wagner, 1843). La primera se distribuye desde México, a partir del sur de Sonora y Tamaulipas hasta el sureste del país pasando por las

vertientes del Pacífico y del Golfo de México hasta el Istmo de Tehuantepec y la Península de Yucatán (con excepción del extremo norte) y continúa hasta el este de Honduras y el extremo sureste de El Salvador; *P. p. personatus* se distribuye desde el este de Honduras hasta el centro y sur de Brasil en Sudamérica (De la Torre y Medellín, 2010). Sin embargo Clare *et al.* (2011), con base en el citocromo c oxidasa del gen sub-unidad 1(COI) proponen cinco linajes de *P. personatus* para Centro y Sudamérica. Éste murciélago ha sido capturado en sitios desde el nivel del mar hasta una altura de 1.000 m y se ve asociado al bosque tropical (De la Torre y Medellín, 2010).

De acuerdo con Smith (1972), *Pteronotus personatus psilotis* es un murciélago más pequeño en comparación con *P. p. personatus*, cambio que se observa en el sureste de Honduras y oriente del El Salvador, donde el aumento en tamaño corporal puede indicar transiciones entre éstas subespecies. Con base en lo anterior, se ha propuesto que el límite entre estas dos subespecies puede asociarse con un escaso flujo génico a lo largo de la vertiente del Pacífico en Centroamérica (Smith, 1972). Asimismo, acorde con los datos aportados utilizando diversos marcadores mitocondriales y nucleares, la diferenciación genética entre éstas es lo suficientemente amplia para que sean consideradas como dos especies independientes (Dávalos 2006).

Se reconoce que los sistemas montañosos y el Istmo de Tehuantepec han sido de gran importancia en la dispersión, diferenciación alopatrica y área de distribución de una gran variedad de especies (Halffter, 1987), en el caso particular de los murciélagos del género *Pteronotus* con distribución en México, se ha propuesto que también el Altiplano Mexicano puede representar una barrera física y ecológica, pero no así la barrera de agua formada durante el tiempo que estuvo sumergido el Istmo de Tehuantepec (Smith, 1972). Por otro lado

desde el punto de vista histórico, Guevara-Chumacero, *et al.* (2010) incorpora los efectos de los cambios climáticos durante el Pleistoceno como factores determinantes en la distribución actual de *P. davyi*, estos cambios pueden verse reflejados en *P. personatus*, ya que es común que ambas especies se distribuyan de manera simpátrica en la República Mexicana. En ese sentido los factores históricos y contemporáneos modifican el límite de la distribución de las especies, el cual puede estar definido tanto por barreras geológicas como por condiciones ecológicas (Ceballos *et al.*, 2002; Futuyma, 2005), propiciando una diversidad y estructura genética particular de sus poblaciones. En el presente trabajo se analiza la variación genética de *P. personatus* entre las poblaciones de las vertientes del Golfo, Pacífico y Sureste, con base en dos marcadores mitocondriales (región control y citocromo b) para determinar a través de la estructura genética de las diferentes localidades el grado de divergencia que permita analizar la posible separación de linajes como consecuencia de los sistemas montañosos.

2. JUSTIFICACIÓN

Los trabajos que se han realizado hasta ahora sobre la familia Mormoopidae se han enfocado en sus relaciones filogenéticas para evaluar hipótesis biogeográficas acerca del origen de la familia, para determinar la presencia de dos posibles linajes de *Pteronotus davyi* en la República Mexicana y más recientemente para evaluar la existencia de nuevos linajes para *Pteronotus personatus* en Centro y Sudamérica. Sin embargo, no se han hecho estudios a nivel intraespecífico sobre aspectos genéticos en poblaciones de esta especie. Por ello se plantea un estudio sobre la diversidad y estructura genética de *P. personatus* con distribución en México utilizando marcadores mitocondriales.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La presencia de los principales sistemas montañosos en México tales como la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre el Sur y el Eje Neovolcánico Transversal han limitado el flujo genético entre las poblaciones de *P. personatus* en México?

4. HIPÓTESIS

Sí los principales sistemas montañosos de México (Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre del Sur y Eje Neovolcánico Transversal) actúan como barreras al flujo génico entre las poblaciones de *P. personatus*, entonces esto se verá reflejado en una baja diversidad y marcada estructura genética con posibilidad de formar tres linajes evolutivos correspondientes a las poblaciones del Golfo, Pacífico y Sureste de México.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la variación genética entre poblaciones de *Pteronotus personatus* en México con base en secuencias de ADN de dos regiones mitocondriales (región control y citocromo b).

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Analizar la diversidad genética entre las poblaciones de *Pteronotus personatus*.
- ❖ Analizar la estructura y flujo génico entre sus poblaciones.
- ❖ Determinar las distancias genéticas entre sus poblaciones.
- ❖ Determinar si existe aislamiento por distancia entre sus poblaciones.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1. Trabajo de campo

6.1.1. Muestras y área de estudio

Las áreas de estudio se seleccionaron a partir de la base de datos de los mamíferos de México depositadas en las colecciones de los Estados Unidos y Canadá (López-Wilchis, 2003), en particular las correspondientes al orden Chiroptera. Inicialmente, los sitios de colecta de *Pteronotus personatus* se escogieron en función de aquellos registros que presentaron cinco o más ejemplares. Sin embargo al realizar la colecta, algunos sitios ya no existen actualmente o no se capturaron organismos, por lo que solo se reportan aquellas localidades donde la presencia de *P. personatus* fue corroborada y que no necesariamente corresponden a las descritas en la base de datos.

La colecta en todos los sitios se llevó a cabo por medio de redes de arpa y redes de niebla que fueron colocadas en la entrada de cada cueva de las localidades muestreadas. Cada unidad de muestreo se monitoreó de forma continua durante un periodo aproximado de 4 a 5 horas. La identificación de los organismos se efectuó con ayuda de la clave de Medellín *et al.* (1997). A los organismos identificados como *P. personatus* se les realizó una biopsia de membrana alar de 3mm de diámetro con un sacabocado (biopsypunch), las cuales fueron depositadas en tubos Eppendorf con alcohol al 70% previamente etiquetados. Para cada organismo se registró el sexo, peso, longitud del antebrazo y posteriormente fueron liberados. Las biopsias fueron transportadas al laboratorio de biología y ecología de mamíferos en el Departamento de Biología en la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa.

6.2. Trabajo de laboratorio

6.2.1. Extracción de ADN total

La extracción de ADN total se realizó a partir de los 3mm de membrana alar extraída de cada individuo y siguiendo el protocolo del Kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega). Previamente a la extracción, se le realizaron tres lavados a la membrana alar con agua destilada para eliminar el exceso de alcohol en el que fueron conservados. El ADN total se verificó por electroforesis en geles de agarosa al 1% y se visualizó con un Fotodocumentador Multi Genius Bio Imaging System (SYNGENE).

6.2.2. Amplificación vía la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

6.2.2.1. Región Control

La amplificación del fragmento del dominio variable HVII de la región control del ADNmt (Fig. 1) se llevó a cabo vía la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en ingles), empleando un Termociclador BioRad (MyCycler, Thermal Cycler TM). Se utilizaron los cebadores reportados por Fumagalli *et al.* (1996), L16517 (5'-CAT CTG GTT CTT ACT TCA GG-3') y HSC (5'-TGT TTT AGG GGT TTG GCA G-3), con la modificación de éste último (Guevara-Chumacero, 2009) para amplificar 700 pares de bases (pb) aproximadamente.

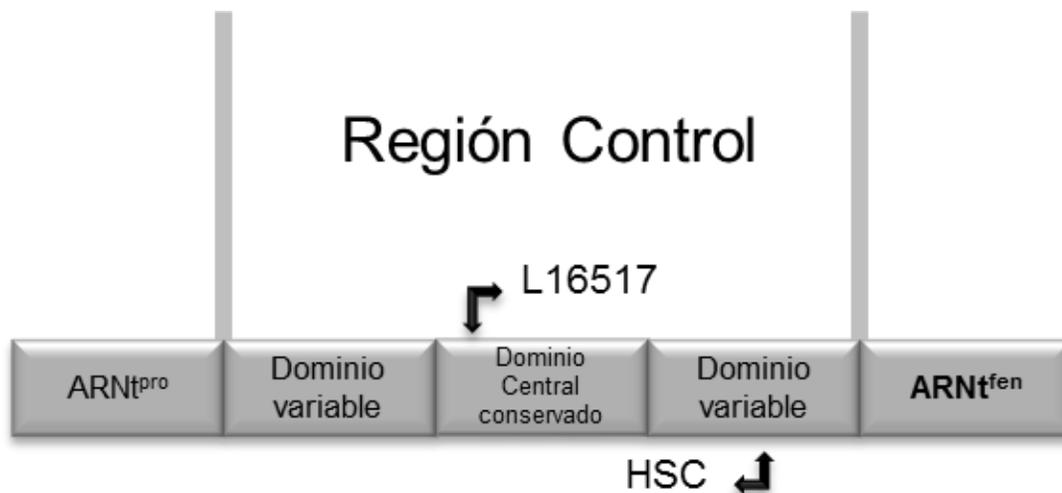


Figura 1. Mapa de la región control donde se señala la región amplificada para *P. personatus* utilizando los cebadores L16517 y HSC (Tomado de Guevara-Chumacero, 2009).

El volumen de la reacción final de PCR fue de 25 μ l, la cual tuvo una concentración de aproximadamente 50 ng de ADN genómico, 10 μ M de cada cebador, 200 μ M de desoxinucleótidos trifosfato, 2 mM de MgCl₂ y 2.5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Fermentas). Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 94.0° 45s; 35 ciclos a 94.0° 30s, 57.7° 30s, 72° 1:10 min y una extensión final a 72.0° 7 minutos. El fragmento amplificado se verificó por medio de electroforesis en geles de agarosa al 1% y se visualizó con el Fotodocumentador Multi Genius Bio Imaging System (SYNGENE). Para estimar el tamaño del fragmento se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb (Promega).

6.2.2.2.Citocromo b

Se amplificó un fragmento del gen citocromo b del ADNmt (Fig. 2), vía PCR, empleando un Termociclador Thermal Cycler PXE 0.2 (Thermo, electron corporation). Se utilizaron cebadores universales y específicos para el gen citocromo b: L14724 (5'-TGACTTGAAGAACCACCGTTG-3') y H15915 (5' AACTGCAGTCATCTCCGGTTTAC AAGAC-3') (Irwin *et al.*, 1991) para 1140 pb. El volumen de la reacción final de PCR fue de 25µl, la cual tenía una concentración de aproximadamente 50 ng de ADN genómico, 10 µM de cada cebador, 200 µM de desoxinucleótidos trifosfato, 3 mM de MgCl₂ y 2.5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Fermentas). Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 94.0° 60s; 35 ciclos a 94.0° 60s, 50° 45s, 72° 90 s y una extensión final a 72.0° 4 min. El fragmento amplificado se verificó por medio de electroforesis en geles de agarosa al 1% y se visualizó con el Fotodocumentador UVP Bioluming System (Epichemi Darkroom). Para estimar el tamaño del fragmento se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb (Promega).



Figura 2. Mapa de citocromo b, donde se señala la región amplificada para *P. personatus* (Tomado de Guevara-Chumacero, 2009).

6.2.3. Purificación de los productos amplificados

6.2.3.1. Región Control

La purificación a partir de gel de los productos amplificados de la región control, se llevó a cabo por medio del Kit Zymoclean Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research), debido a la presencia en la mayoría de los casos de dobles bandas. Los fragmentos amplificados se verificaron por electroforesis en geles de agarosa al 1% y se visualizaron con el Fotodocumentador Multi Genius Bio Imaging System (SYNGENE).

6.2.3.2. Citocromo b

La purificación de los productos amplificados del gen mitocondrial citocromo b se llevó a cabo por medio del Kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega). Los fragmentos amplificados se visualizaron por medio del Fotodocumentador UVP BioImaging System (Epichemi Darkroom).

6.2.4. Obtención de secuencias nucleotídicas

La obtención de las secuencias nucleotídicas de ambos marcadores se llevó a cabo en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud (CBS) de la UAM Iztapalapa. La reacción de secuenciación se realizó con Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer) siguiendo el instructivo. El producto se purificó en columnas Centri Sep con sephadex para eliminar el colorante que no se incorporó en la reacción. Las muestras se secuenciaron automáticamente en sentido 3´- 5´ y 5´- 3´ en el equipo ABI PRISM 3130XL (Applied Biosystems Hitachi).

6.3. Trabajo de gabinete

6.3.1. Edición y alineamiento de secuencias

La edición y alineamiento de secuencias para región control y citocromo b se realizó con el programa MEGA v. 5.0.5 (Tamura *et al.*, 2011), por medio del algoritmo Clustal W. Las secuencias se confirmaron a partir de un análisis de BLAST estándar nucleótido-nucleótido (Altschul *et al.*, 1990) en la base de datos del GenBank.

6.3.2. Diversidad genética

Los análisis de diversidad genética se realizaron con el programa DnaSP v.5. (Librado y Rozas, 2009) y se determinaron los siguientes estimadores: sitios segregantes (s), que son el número o proporción de sitios variables en las secuencias; diversidad haplotípica (h), que es la probabilidad de que dos haplotipos tomados al azar sean diferentes; diversidad nucleotídica (π), que es la probabilidad de que dos nucleótidos con homología de posición tomados al azar sean diferentes (Nei, 1972; Nei, 1978).

6.3.3. Estructura genética poblacional

Para determinar la estructura genética dentro y entre poblaciones se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) con el programa Arlequín v. 2.0. (Schneider *et al.*, 2000). Este análisis se llevó a cabo en dos niveles: 1) General (todas las secuencias de cada región mitocondrial analizada) y 2) Regional (Golfo-Pacífico vs Sureste y Golfo vs Pacífico) con el fin de conocer si los sistemas montañosos han influido en la estructuración de las poblaciones de *P. personatus*. Para definir los grupos de poblaciones o regiones, se realizó un análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA v. 1.0; Dupanloup

et al., 2002) que permite encontrar una estructura con base en datos genéticos, e integra las coordenadas geográficas para determinar grupos de poblaciones que se encuentran geográficamente homogéneas y máximamente diferenciadas unas de otras, es decir, aquellas para las que la proporción de la varianza genética total es máxima debida a diferencias entre los grupos. La estructuración más probable es aquella en donde se maximiza el valor de F_{CT} (variación entre grupos) (Dupanloup *et al.*, 2002). El análisis de flujo génico se realizó con el programa DnaSP v.5. (Librado y Rozas, 2009) y se calculó de acuerdo al modelo de Hudson *et al.* (1992). Este método permite identificar aquellas pares de poblaciones con una mayor similitud o diferenciación entre sí de acuerdo a un modelo de islas (Hudson *et al.*, 1992).

La distancia genética entre poblaciones se estimó con el programa MEGA. Para la región control se obtuvo de acuerdo al modelo de Tamura-Nei (Tamura y Nei, 1993) y para citocromo b por medio del modelo Kimura 2-parametros (Kimura, 1980). El modelo de Tamura-Nei considera las diferencias tanto en tasa de sustitución (transiciones y transversiones) como las diferentes frecuencias de las bases nucleotídicas. El modelo de Kimura 2-parametros toma en cuenta las tasas de sustitución de transición y transversión, asumiendo que las cuatro frecuencias son lo mismo y que las tasas de sustitución no varían entre sitios.

Se calculó la distancia geográfica (en kilómetros) entre poblaciones con el programa Google Earth 6.2, al cual se ingresaron las coordenadas de las 13 localidades muestreadas (Fig. 3). A partir de las distancias genéticas y geográficas estimadas para región control y citocromo b, se determinó la relación entre dichas distancias por medio del programa Mantel v. 2. 0. (Liedloff, 1999), con 1000 iteraciones.

Las redes haplotípicas se realizaron con el programa TCS v 1.21 (Clement *et al.*, 2000) y el método de parsimonia estadística, el cual comienza por estimar el número máximo de diferencias entre haplotipos como resultado de las sustituciones con un 95% de significancia estadística y a éste último número se denomina límite de parsimonia. Posteriormente se conectan los haplotipos que difieren por un cambio mutacional, después los que difieren por dos, después por tres y así sucesivamente hasta que todos los haplotipos se encuentran incluidos en una sola red o hasta que llegue al límite de parsimonia (Templeton *et al.*, 1992).

El análisis de Neighbor-Joining (NJ), se realizó con el programa MEGA y se evaluó la estabilidad de las ramas internas en los cladogramas mediante análisis de Bootstrap con 10000 réplicas. En el caso de la región control, se utilizó el modelo de Tamura-Nei y a *Pteronotus parnelli* como grupo externo. Para citocromo b se usó el modelo de Kimura 2-parametros y como grupo externo a *P. parnelli* y *Mormoops megalophylla*. Éste método de distancia es uno de los más usados, en donde la idea fundamental es que los organismos más parecidos deben de ser los filogenéticamente más emparentados, y está basado en la búsqueda de parejas de secuencias vecinas (por lo tanto en la menor distancia) que minimizan el largo total del árbol. Cada vez que se une un par de taxa se vuelve ajustar el largo de las ramas del árbol para cada par de nodos basándose en la divergencia promedio entre los pares de nodos. Por lo tanto no requiere que exista un reloj molecular estricto (Eguiarte *et al.*, 1997).

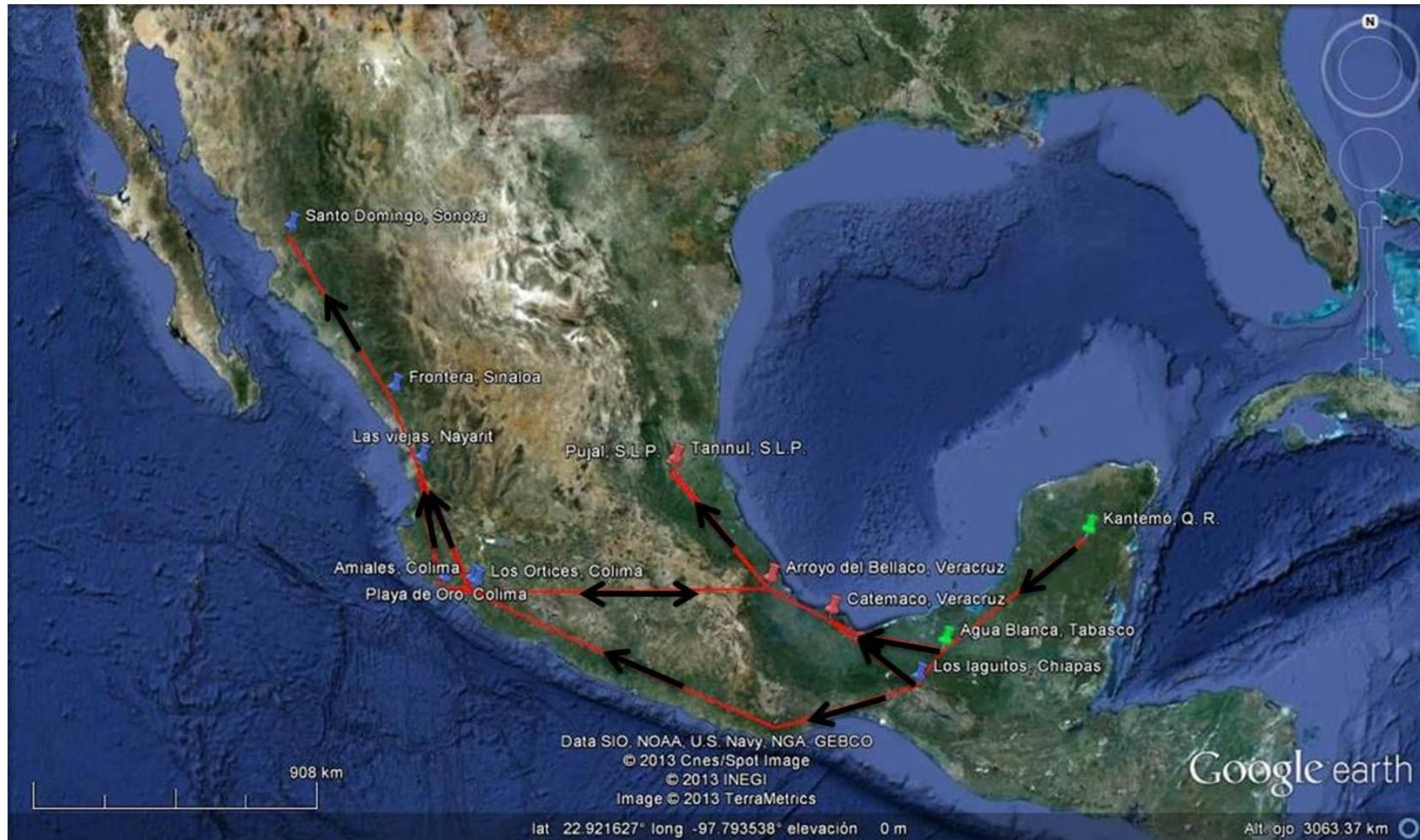


Figura 3. Mapa obtenido por Google Earth 6.2., donde se muestra la dirección en la que se calcularon las distancias en kilómetros entre de las 13 localidades de *P. personatus*.

7. RESULTADOS

Las localidades donde fue posible corroborar la presencia de *P. personatus* fueron: Santo Domingo, Sonora (SD); Frontera, Sinaloa (FR); Viejas, Nayarit (VI); Playa de Oro, Colima (PO); Amiales, Colima (AM); Ortíces, Colima (OR); Laguitos, Chiapas (LA); Taninul, San Luis Potosí (TA); Pujal, San Luis Potosí (PU); Catemaco, Veracruz (CA); Arroyo del Bellaco, Veracruz (AR); Agua Blanca, Tabasco (AB) y Kantemó, Quintana Roo (KA) (Fig. 4).

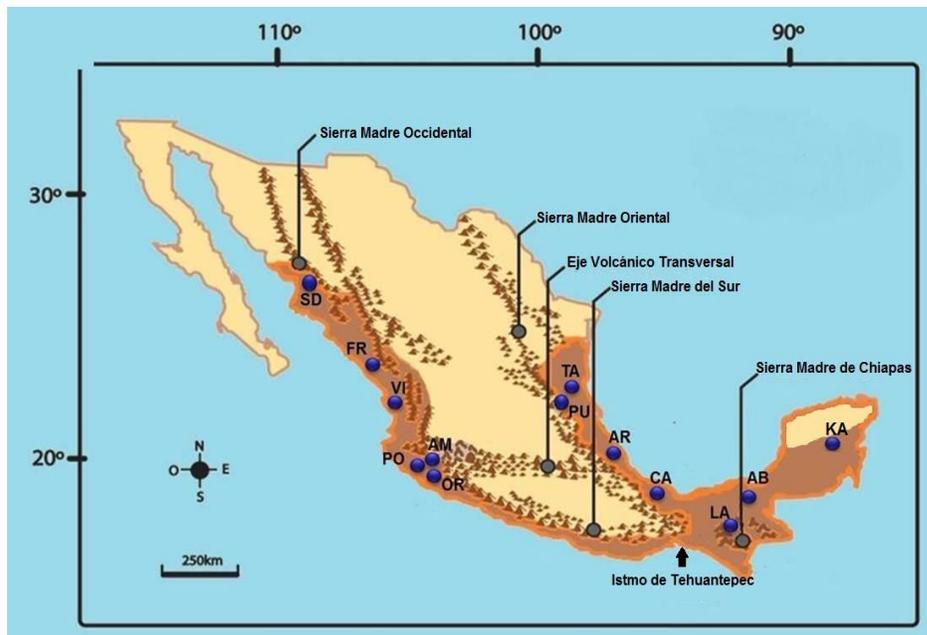


Figura 4. Esquema de la distribución geográfica de *P. personatus* en la República Mexicana en café. Las localidades muestreadas se señalan en círculos azules y se describen con la nomenclatura siguiente: SD = Santo Domingo; FR = Frontera; VI = Viejas; PO = Playa de Oro; AM = Amiales; OR = Ortíces; LA = Laguitos; CA = Catemaco, AR = Arroyo del Bellaco; PU = Pujal; TA = Taninul; AB = Agua Blanca; KA = Kantemó. Se señalan los principales sistemas montañosos de México.

Del total de muestras colectadas en 13 localidades, se analizaron 120 para la región control y 50 para citocromo b correspondientes a 10 localidades. Las diferencias en el tamaño de las muestras se debió a problemas de resolución metodológicas para el gen citocromo b, ya que los cebadores que un principio fueron utilizados se terminaron en el transcurso del procedimiento, por lo que se hizo necesario la solicitud de nuevos cebadores con los cuales no se obtuvo ninguna resolución. Se realizaron gradientes de temperatura, de $MgCl_2$, de ADN total, de solución Q (Qiagen) y se aumentaron y redujeron los ciclos sin obtener ningún resultado. En consecuencia y por segunda vez se solicitaron nuevos cebadores con los que tampoco se obtuvo ninguna resolución, por lo que se concluyó la posibilidad de una mala síntesis de éstos.

Para la región control, la localidad con el mayor número de organismos correspondió a Catemaco, Veracruz ($n = 13$) y en el caso del citocromo b a Frontera, Sinaloa ($n = 8$). Con ambos marcadores la localidad con menor número de organismos correspondió a los Laguitos, Chiapas con una $n = 2$ y $n = 1$, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Localidades con la entidad federativa de la República Mexicana de procedencia, sus coordenadas geográficas y el tamaño de muestra (individuos) analizado para cada marcador mitocondrial (RC: región control; Cit b: citocromo b).

Localidad y Estado	Coordenadas geográficas	n/Marcador	
		RC	Cit b
Santo Domingo, Sonora	27°02.649'N, 109°00.691'O	10	0
Frontera, Sinaloa	23°25.188'N, 105°54.615'O	7	8
Taninul, San Luis Potosí	21°56.1'N, 98°53.16'O	8	4
Pujal, San Luis Potosí	21°51.606'N, 98°56.306'O	10	7
Viejas, Nayarit	21°51.40'N, 105°08.81'O	10	4
Kantemó, Quintana Roo	19°55.846'N, 88°47.460'O	10	6
Arroyo del Bellaco, Veracruz	19°13.32'N, 96°38.34'O	10	7
Amiales, Colima	19°09.37'N, 103°49.56'O	9	0
Playa de Oro, Colima	19°07.06'N, 104°29.94'O	10	7
Los Ortíces, Colima	19°04.81'N, 103°43.59'O	10	3
Catemaco, Veracruz	18°27.710'N, 95°11.180'O	13	3
Agua Blanca, Tabasco	17°37.204'N, 92°28.349'O	11	0
Laguitos, Chiapas	16°49.31'N, 93°08.51'O	2	1

7.1. Región Control

7.1.1. Patrones generales de la variación de las secuencias

Se analizó un fragmento de 334 pb del dominio variable HVII de la región control del ADNmt. De las 120 secuencias analizadas, 296 sitios fueron constantes y 38 variables, de los cuales, 28 fueron parsimoniosamente informativos (ANEXO 1). El promedio de la composición de bases fue: T: 26.5 %; C: 24.8%; A: 25.6%; G: 23.2%. Se identificaron 57 haplotipos diferentes, de los cuales 36 fueron únicos y 21 compartidos (ANEXO 2).

7.1.2. Diversidad genética

Las poblaciones de *P. personatus* presentaron una diversidad haplotípica (h) entre 0.250 y 1.000 y la diversidad nucleotídica (π) osciló entre 0.00075 y 0.04255. Al comparar los valores entre todas las localidades, Taninul presentó los valores más bajos de diversidad genética tanto haplotípica como nucleotídica ($h = 0.250$; $\pi = 0.00075$) y dentro de los más altos están los Laguitos ($h = 1.000$; $\pi = 0.04255$), Ortíces ($h = 0.956$; $\pi = 0.01311$), Playa de Oro ($h = 0.844$; $\pi = 0.01078$) y Frontera ($h = 0.952$; $\pi = 0.01027$). Comparativamente, las localidades ubicadas en la vertiente del Pacífico Mexicano presentaron una diversidad genética alta con excepción de Santo Domingo ($h = 0.667$; $\pi = 0.00512$); por el contrario, las localidades distribuidas en la vertiente del Golfo presentaron valores más bajos de diversidad genética con excepción de Arroyo del Bellaco ($h = 0.978$; $\pi = 0.00785$). En general, la diversidad haplotípica total fue alta mientras que la nucleotídica fue baja ($h = 0.953$; $\pi = 0.02190$). Los resultados de los Laguitos se tienen que manejar con cautela, ya que solo cuenta con dos individuos. Los valores de diversidad genética de cada una de las 13 localidades de *P. personatus* se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Índices de diversidad genética para las poblaciones estudiadas de *P. personatus* de la región control del ADNmt. Tamaño de muestra (n), sitios segregantes (s), número de haplotipos (k), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π).

Localidades	n	s	k	h	π
SD	10	7	5	0.667	0.00512
FR	7	8	6	0.952	0.01027
TA	8	1	2	0.250	0.00075
PU	10	4	6	0.778	0.00333
VI	10	9	7	0.933	0.00767
KA	10	4	4	0.711	0.00405
AR	10	7	9	0.978	0.00785
AM	9	9	5	0.806	0.00998
PO	10	10	5	0.844	0.01078
OR	10	14	8	0.956	0.01311
CA	13	4	5	0.628	0.00223
AB	11	12	9	0.945	0.00884
LA	2	14	2	1.000	0.04255
Total	120	32	57	0.953	0.02190

7.1.3. Estructura genética poblacional

Al analizar la varianza molecular (AMOVA) entre todas las poblaciones estudiadas se observó una marcada diferenciación entre las poblaciones (73.5 %), mientras que dentro de ellas el porcentaje de variación correspondió al 26.4% (AMOVA: $F_{ST} = 0.735$, $P < 0.05$). Si bien esto indica la existencia de una estructuración entre las poblaciones, no se precisa si estas diferencias pudieran deberse a localidades aisladas o a grupos de localidades, por lo que se realizó un análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA) el cual separó dos grupos de poblaciones: uno constituido por las localidades de la vertiente del Golfo y Pacífico (Golfo: TA, PU, AR y CA; Pacífico: SD, FR, VI, AM, PO, OR y LA) y otro constituido por KA y AB, al cual en conjunto se le denominó Sureste. Con base en este agrupamiento, se realizó un segundo AMOVA para conocer el grado de estructuración entre dichos grupos. Los resultados mostraron que el mayor porcentaje de la variación se encontró entre grupos Golfo-Pacífico vs Sureste (82.2%) con una $F_{ST} = 0.884$, $P < 0.05$. Posteriormente, se realizó un tercer análisis que incluyó las localidades del Pacífico vs localidades del Golfo, en donde los resultados mostraron que el mayor porcentaje de la variación está dentro de las poblaciones (56.0%) con valores de $F_{ST} = 0.439$, $P < 0.05$, lo cual permite incluir estas localidades dentro de un solo grupo. Los resultados de AMOVA se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de los análisis de varianza molecular (AMOVA) realizados para la región control del ADNmt. EP = entre poblaciones, DP = Dentro de poblaciones, EG = Entre grupos, EPDG = Entre poblaciones dentro de grupos. * $P < 0.05$.

Regiones	Origen de la Variación	Suma de cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación	F_{ST}
General	EP	391.9	3.4	73.5	0.735*
	DP	131.8	1.2	26.4	
Golfo/Pacífico	EG	312.1	8.7	82.2	0.884*
	vs EPDG	79.8	0.6	6.2	
Sureste	DP	131.8	1.2	11.5	
Golfo	EG	32.5	0.5	24.8	0.439*
	vs EPDG	45.5	0.4	19.1	
Pacífico	DP	111.0	1.2	56.0	

Las localidades que presentaron una $Nm < 1$, en donde Nm es el número de migrantes, en el cual 1 es el mínimo sugerido por la regla del equilibrio mutación-deriva que establece que un migrante por generación es suficiente para mantener una estructuración homogénea, es decir, para que las poblaciones se mantengan cohesivas como una población (Wright, 1931), correspondieron a Agua Blanca y Kantemó (Sureste) del resto de las poblaciones (Golfo-Pacífico): Agua Blanca vs Taninul y Kantemó vs Catemaco ($Nm = 0.12$, en ambos casos), Kantemó vs Taninul ($Nm = 0.16$) y Agua Blanca vs Catemaco ($Nm = 0.17$). Los valores más altos de flujo génico se presentaron dentro de las mismas vertientes y entre poblaciones cercanas geográficamente: Ortíces vs Amiales ($Nm = 43.38$); Taninul vs Catemaco ($Nm = 19.38$); Pujal vs Catemaco ($Nm = 11.07$); Playa de Oro vs Ortíces ($Nm = 10.44$) y Agua Blanca vs Kantemó ($Nm = 7.95$). Con respecto al Golfo-Pacífico, los valores más altos de flujo génico fueron entre Arroyo del Bellaco vs Ortíces ($Nm = 2.82$) y Arroyo del Bellaco vs Playa de Oro ($Nm = 2.13$). En la localidad de los Laguitos no se muestran los valores de flujo génico debido a incongruencias en la obtención de los resultados, posiblemente dados por el tamaño de muestra ($n=2$). Los valores de flujo génico entre las poblaciones analizadas se muestran en la tabla

4.

Tabla 4. Flujo génico entre poblaciones a partir de la región control del ADNmt, usando el modelo de Hudson *et al.* (1992).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 SD											
2 FR	1.14										
3 TA	0.24	0.70									
4 PU	0.31	1.84	7.66								
5 VI	0.65	-	0.70	0.72							
6 KA	0.23	0.38	0.16	0.19	0.21						
7 AR	0.61	1.43	3.01	3.18	1.27	0.20					
8 AM	0.55	0.96	0.63	1.92	0.86	0.24	1.26				
9 PO	0.92	5.59	1.20	1.17	3.33	0.26	2.13	2.29			
10 OR	0.97	1.85	1.31	1.19	1.32	0.30	2.82	43.38	10.44		
11 CA	0.29	1.93	19.38	11.07	0.68	0.12	3.74	1.54	1.14	1.21	
12 AB	0.24	0.29	0.12	0.19	0.23	7.95	0.23	0.26	0.27	0.23	0.17

La mayor distancia genética observada entre todas las localidades analizadas correspondió a Kantemó y Agua Blanca (Sureste) con respecto a todas las demás localidades (Golfo-Pacífico), dentro de estas últimas, los valores más altos se presentaron entre: Kantemó vs Taninul, Kantemó vs El Pujal (5.6 % en ambos casos) y Kantemó vs Catemaco (5.5%). Todas las localidades de la región Sureste con respecto al resto presentaron distancias genéticas similares, ya que al comparar los valores entre los grupos de localidades derivados del análisis, existió una constante en los valores entre el Golfo-Pacífico vs Sureste, manteniendo siempre valores altos de distancia genética. La menor distancia genética se presentó entre localidades que se encuentran en la vertiente del Golfo; el valor más bajo fue entre Taninul vs Pujal y Taninul vs Catemaco (0.2 %). Las distancias genéticas entre las localidades del Golfo con el Pacífico presentaron valores de 0.2 a 1.6%, con excepción de los Laguitos. La localidad de los Laguitos, presentó distancias genéticas con valores de entre 2.7% a 3.0% con respecto al resto de las localidades. Los valores de distancia genética entre las poblaciones se presentan en la tabla 5.

Regionalmente, entre las localidades del Sureste vs localidades del Pacífico, la distancia genética fue de 5.0%; entre las localidades del Sureste vs localidades del Golfo correspondió al 5.3%, al contrario de las localidades del Golfo vs Pacífico que presentaron una distancia genética baja (1.2%) y finalmente la distancia genética entre localidades del Golfo-Pacífico vs Sureste correspondió al 5.1%.

Tabla 5. Distancias genéticas (en porcentaje) entre las 13 localidades de *P. personatus* de acuerdo al modelo de Tamura-Nei (Tamura y Nei, 1993). En negritas se muestran las distancias genéticas más altas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 SD												
2 FR	1.1											
3 TA	1.2	1.2										
4 PU	1.5	1.5	0.2									
5 VI	1.2	0.9	1.1	1.3								
6 KA	5.1	5.3	5.6	5.6	5.3							
7 AR	1.4	1.4	0.4	0.5	1.3	5.3						
8 AM	1.5	1.6	1.0	1.2	1.4	5.2	1.2					
9 PO	1.3	1.1	1.3	1.0	1.1	5.2	1.1	1.3				
10 OR	1.4	1.5	1.0	1.2	1.4	5.3	1.1	1.2	1.3			
11 CA	1.3	1.4	0.2	0.3	1.2	5.5	0.5	1.1	1.0	1.1		
12 AB	4.8	5.0	5.1	5.2	5.0	0.7	5.0	4.8	4.9	4.9	5.2	
13 LA	2.7	3.0	2.8	3.0	3.0	3.0	2.9	2.7	2.8	2.8	2.9	2.8

La prueba de Mantel mostró una correlación significativa y positiva entre las distancias genéticas de la región control y las distancias geográficas entre las 13 poblaciones, lo que sugiere la separación de las regiones Golfo-Pacífico del Sureste ($g = 2.7601$; $z = 4730.062$; $r = 0.4077$, $P < 0.05$ con 1000 permutaciones), ajustándose a un modelo de aislamiento por distancia, donde el flujo génico y las distancias genéticas entre poblaciones están ligadas a la separación espacial (Fig. 5).

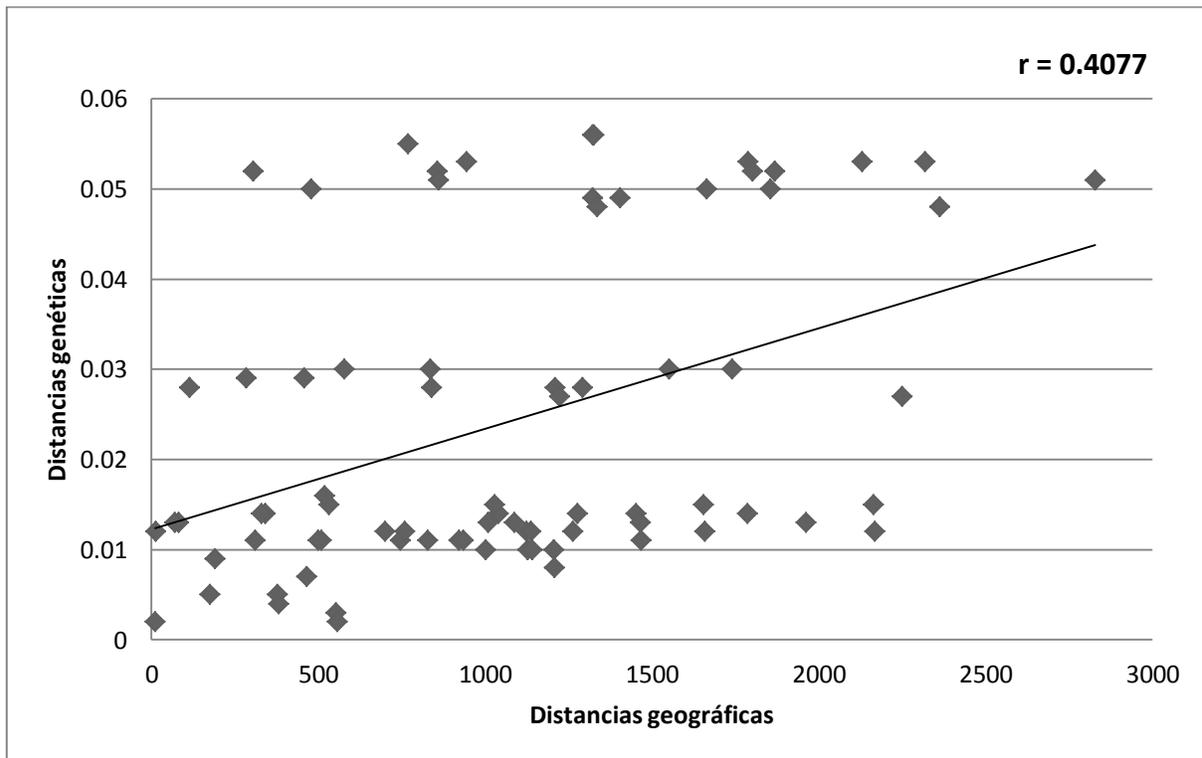


Figura 5. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas entre todas las poblaciones de *P. personatus* para la región control.

El resultado obtenido con el programa TCS mostró una red haplotípica formada por dos grupos de haplotipos principales, uno constituido por los haplotipos del Golfo-Pacífico en el cual se observa una estructuración entre haplotipos de ambas vertientes, sin embargo, en este grupo se encuentran interconectados haplotipos que corresponden a Veracruz y Colima, además de presentar un haplotipo compartido (H30). El otro grupo el cual está seguido por 15 pasos mutacionales, está formado por los haplotipos del Sureste y presentó un haplotipo compartido con el Pacífico (H23). Este último grupo mostró forma de estrella, al respecto Avise (2000) propone que una población que se ha estado expandiendo va a presentar una filogenia de ésta forma (Figura 6). Con respecto al método de análisis Neighbor-Joining, la topología obtenida con el programa MEGA mostró dos clados bien definidos, uno formado por los haplotipos del Golfo-Pacífico y otro formado por los haplotipos del Sureste. Se muestran los valores de bootstrap mayores al 50% (Figura 7).

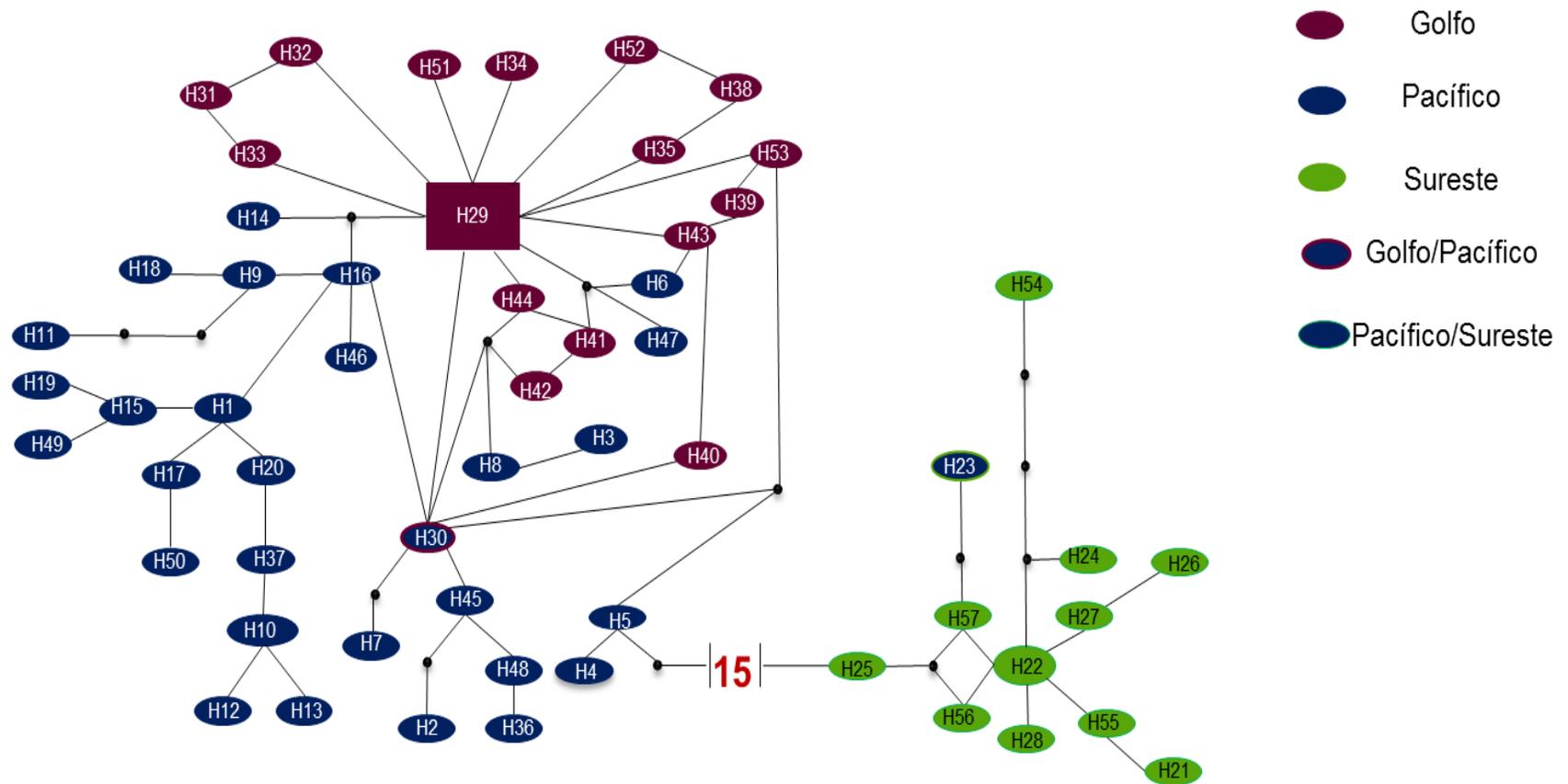


Figura 6. Red haplotípica de los 57 haplotipos de *P. personatus* de la región control inferida por medio del parámetro de parsimonia estadística con el programa TCS. El tamaño de las figuras representa las frecuencias haplotípicas; los círculos negros indican los haplotipos perdidos; las líneas representan los cambios mutacionales. Los haplotipos azules corresponden al Pacífico; los guindas, al Golfo de México; los verdes, al Sureste; guinda con azul, a Golfo-Pacífico y verde con azul a Pacífico-Sureste.

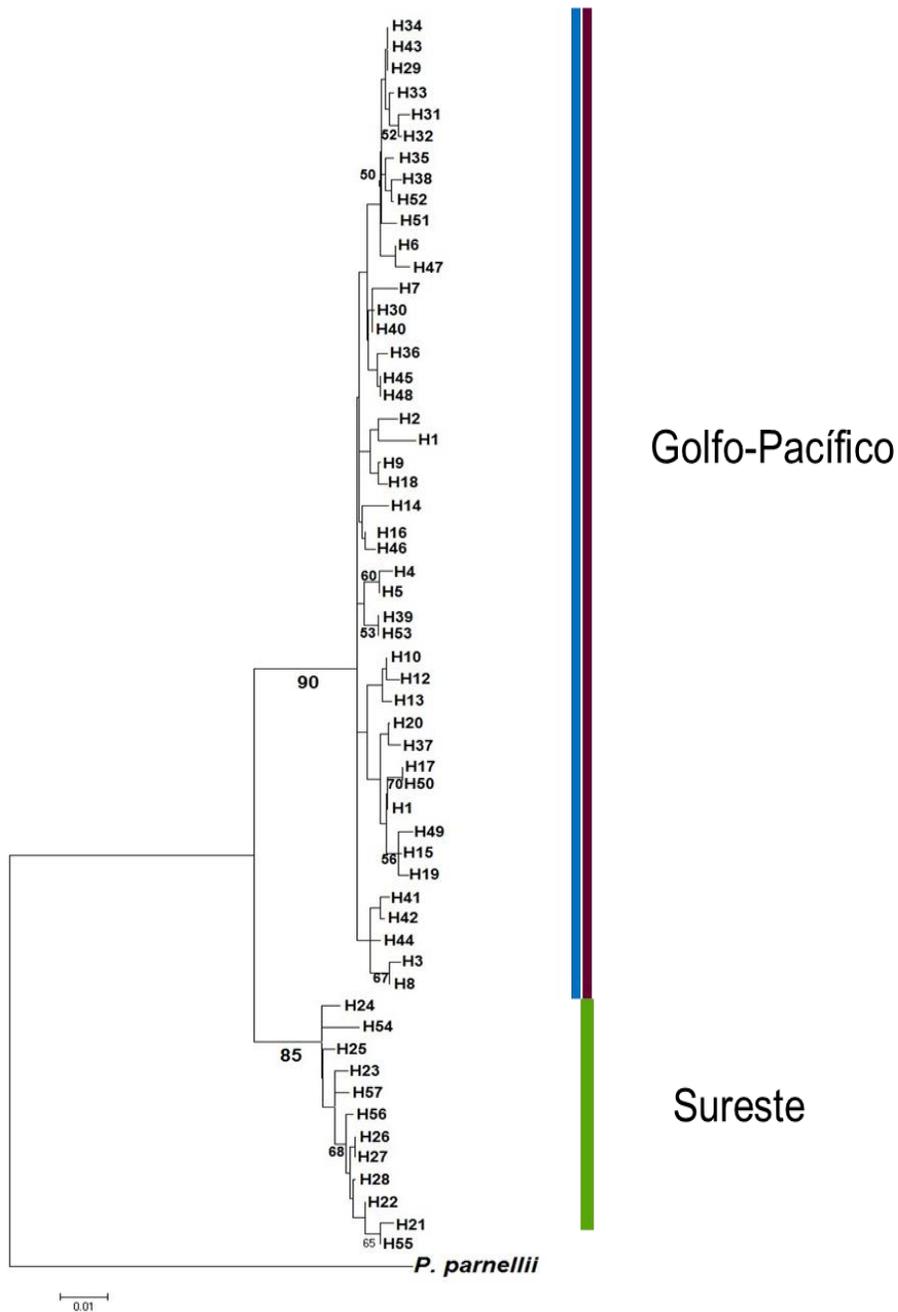


Figura 7. Filograma Neighbor-Joining de los 57 haplotipos de *P. personatus* usando el modelo de Tamura-Nei con 10000 réplicas. Se utilizó la secuencia de *Pteronotus parnellii* como grupo externo. Las líneas guinda y azul señalan el clado que abarca las poblaciones de Golfo-Pacífico y la línea verde el Sureste.

7.2. Citocromo b

7.2.1. Patrones generales de la variación de las secuencias

Se analizó un fragmento de 561 pb del gen mitocondrial citocromo b de 50 organismos correspondientes a 10 localidades. De las 50 secuencias analizadas, 522 sitios fueron constantes y 39 variables, de los cuales, 31 fueron parsimoniosamente informativos (ANEXO 3). El número de codones analizados correspondió a 187 y se identificaron 38 mutaciones sinónimas y una no sinónima. El promedio de la composición de bases fue T: 27.1 %; C: 29.6%; A: 26.9%; G: 16.4%. El análisis permitió identificar 19 haplotipos diferentes, de los cuales 10 fueron únicos y 9 compartidos (ANEXO 4).

7.2.2. Diversidad genética

Las poblaciones de *P. personatus* presentaron una diversidad haplotípica (h) que varió entre 0.286 y 1.000, y una diversidad nucleotídica (π) que osciló entre 0.00051 y 0.00357. Pujal presentó los valores más bajos de diversidad nucleotídica y haplotípica ($h = 0.286$; $\pi = 0.00051$), por el contrario, las Viejas presentó el valor más alto diversidad haplotípica ($h = 1.000$; $\pi = 0.00362$) y en cuanto a diversidad nucleotídica los valores más altos se presentaron en Playa de Oro y Catemaco ($h = 0.667$; $\pi = 0.00357$ en ambos casos). La diversidad haplotípica total para la especie fue alta mientras que la nucleotídica fue baja ($h = 0.907$; $\pi = 0.01416$). La diversidad genética de los Ortíces fue nula debido a que solo presentó un haplotipo. La localidad de los Laguitos no se incluyó en este análisis ya que el tamaño de muestra fue de un individuo. Los valores de diversidad genética de las poblaciones de *P. personatus* se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Índices de diversidad molecular para las localidades estudiadas con el gen mitocondrial citocromo b. Tamaño de muestra (n), sitios segregantes (s), número de haplotipos (k), diversidad haplotípica (h) y diversidad nucleotídica (π).

Localidades	n	S	k	h	π
FR	8	5	5	0.857	0.00274
TA	4	1	2	0.500	0.00089
PU	7	1	2	0.286	0.00051
VI	4	3	4	1.000	0.00297
KA	6	1	2	0.333	0.00059
AR	7	4	5	0.905	0.00289
PO	7	5	3	0.667	0.00357
OR	3	0	1	-	-
CA	3	3	2	0.667	0.00357
Todas	49	39	19	0.907	0.01416

7.2.3. Estructura genética poblacional

El análisis de varianza molecular a todos los niveles, General, Golfo-Pacífico vs Sureste y Golfo vs Pacífico, mostró el mayor porcentaje de la variación entre poblaciones y entre grupos (86.7%; 90.2%; 44.1%, respectivamente) y el valor más alto de F_{ST} correspondió a las localidades del Golfo-Pacífico vs Sureste (AMOVA: $F_{ST} = 0.958$, $P < 0.05$). Para el caso de las localidades del Golfo vs Pacífico, los valores de F_{ST} fueron altos y significativos (AMOVA: $F_{ST} = 0.630$, $P < 0.05$) (Tabla 7).

Los niveles de flujo genético entre las localidades variaron de $Nm < 1$, que correspondieron a Kantemó vs Ortíces ($Nm = 0.00$), Kantemó vs Taninul y Pujal ($Nm = 0.01$); Kantemó vs Frontera, Viejas, Arroyo del Bellaco. Playa de Oro y Catemaco ($Nm = 0.02$); Ortíces vs Pujal ($Nm = 0.02$); Ortíces vs Taninul ($Nm = 0.04$) por mencionar los más bajos, a valores de $Nm = 3.58$, que correspondieron a Ortíces vs Frontera; Frontera vs Playa de Oro ($Nm = 3.54$); Playa de Oro vs Ortíces ($Nm = 3.50$) y Catemaco vs Playa de Oro ($Nm = 3.50$). Los valores de Nm que no se presentan corresponden a Frontera vs Viejas debido a que resultaron negativos. Los correspondientes a Taninul vs Pujal resultaron excesivamente altos y los Laguitos, porque el número de muestra fue uno (tabla 8).

Tabla 7. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA) realizados para el gen mitocondrial citocromo b. EP = entre poblaciones, DP = Dentro de poblaciones, EG = Entre grupos, EPDG = Entre poblaciones dentro de grupos. * $P < 0.05$.

Regiones	Origen de la Variación	Suma de cuadrados	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación	F_{ST}
General	EP	171.4	3.7	86.7	0.866*
	DP	23.1	0.5	13.3	
Golfo/Pacífico	EG	137.2	12.4	90.2	0.958*
	vs EPDG	34.2	0.7	5.61	
Sureste	DP	23.1	0.5	4.18	
Golfo	EG	19.2	0.7	44.1	0.630*
	vs EPDG	14.9	0.3	18.9	
Pacífico	DP	22.3	0.6	36.9	

La localidades en donde se observó la mayor distancia genética fueron: Kantemó vs Taninul, Pujal, Arroyo del Bellaco y Laguitos (1.6%); Kantemó vs Viejas (1.4%); Kantemó vs Frontera y Catemaco (1.3%); Kantemó vs Playa de Oro (1.2%) y Kantemó vs Ortíces (1.1%). Los menores correspondieron a Taninul vs Pujal, Arroyo del Bellaco y Laguitos (0.0%); Pujal vs Arroyo del Bellaco y Laguitos (0.0%) y Arroyo del Bellaco vs Laguitos (0.0%) (Tabla 9). A nivel regional, las mayores distancias se detectaron entre Kantemó (Sureste) vs localidades del Golfo (1.6%); Kantemó vs localidades del Pacífico también presentaron valores altos de distancias genéticas (1.2%), lo cual contrasta con lo obtenido entre las localidades del Golfo vs Pacífico, (0.6%). En general, se observó que los valores de distancia más altos fueron entre Kantemó con respecto a las demás localidades (Golfo-Pacífico, 1.4%).

Tabla 8. Flujo génico estimado para las secuencias del gen citocromo b entre las poblaciones analizadas y usando el modelo de Hudson *et al.* (1992).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 FR									
2 TA	0.16								
3 PU	0.15	-							
4 VI	-	0.17	0.15						
5 KA	0.02	0.01	0.01	0.02					
6 AR	0.34	0.45	0.40	0.35	0.02				
7 PO	3.54	0.24	0.22	2.96	0.02	0.51			
8 OR	3.58	0.04	0.02	2.50	0.00	0.18	3.50		
9 CA	2.01	0.31	0.29	1.83	0.02	0.90	3.50	1.50	

Tabla 9. Distancias genéticas (en porcentaje) con base en el gen citocromo b entre las 10 localidades de *P. personatus* de acuerdo al modelo de Kimura 2-parámetros (Kimura, 1980). En negritas se muestran las distancias genéticas más altas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 FR										
2 TA	0.7									
3 PU	0.7	0.0								
4 VI	0.3	0.8	0.8							
5 KA	1.3	1.6	1.6	1.4						
6 AR	0.7	0.0	0.0	0.8	1.6					
7 PO	0.3	0.6	0.6	0.3	1.2	0.6				
8 OR	0.2	0.5	0.5	0.3	1.1	0.5	0.1			
9 CA	0.4	0.4	0.4	0.4	1.3	0.4	0.3	0.2		
10 LA	0.7	0.0	0.0	0.8	1.6	0.0	0.6	0.5	0.4	

La prueba de Mantel mostró que hay una correlación significativa y positiva entre las distancias genéticas obtenidas para el gen citocromo b y las distancias geográficas de las 10 localidades ($g = 3.3034$; $z = 685.988$; $r = 0.5861$, $P < 0.05$, con 1000 permutaciones), ajustándose a un modelo de aislamiento por distancia (Fig 8).

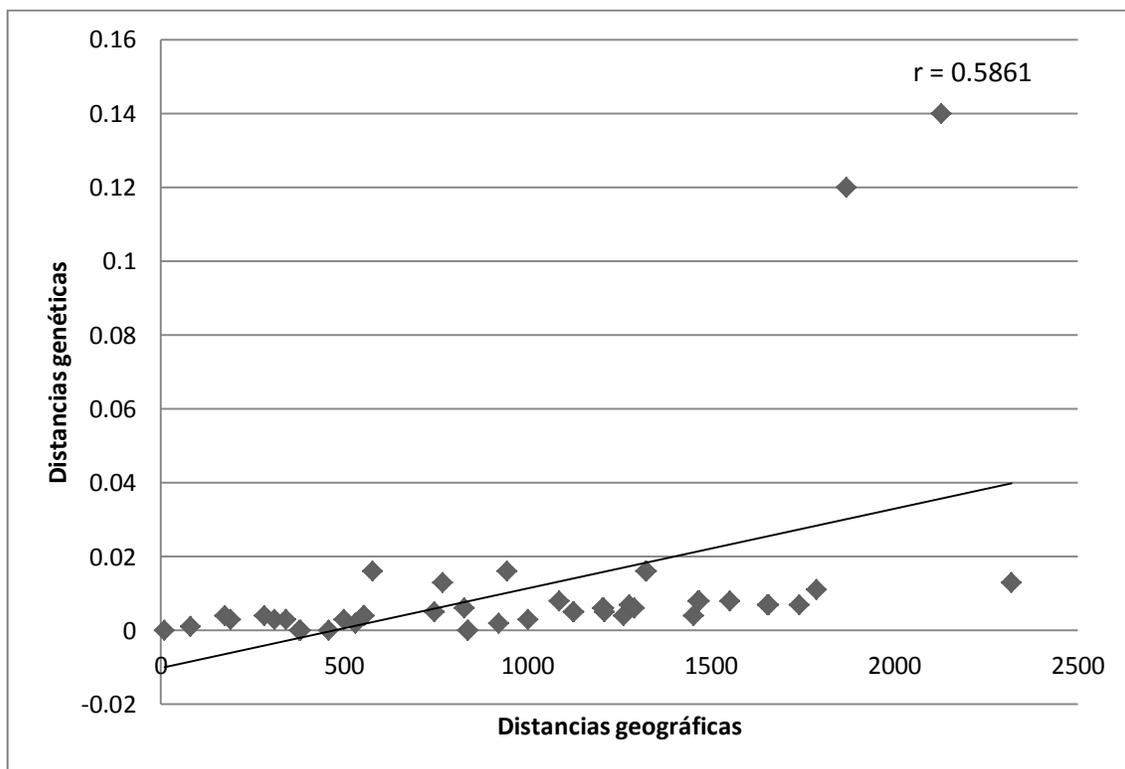


Figura 8. Gráfico de la correlación entre distancias geográficas y distancias genéticas entre todas las poblaciones de *P. personatus* para el gen citocromo b.

El resultado obtenido con el programa TCS mostró una red haplotípica formada por dos grupos principales, una constituida por los haplotipos del Golfo-Pacífico en el cual se observa una estructuración entre los haplotipos de ambas vertientes y la otra seguida por 24 pasos mutacionales formada por Kantemó (Sureste) (Figura 9). Con respecto al Neighbor-Joining, la topología obtenida con el programa MEGA mostró dos clados bien definidos, uno formado por los haplotipos del Golfo-Pacífico y otro formado por los haplotipos del Sureste. Se muestran los valores de bootstrap mayores al 50% (Figura 10).

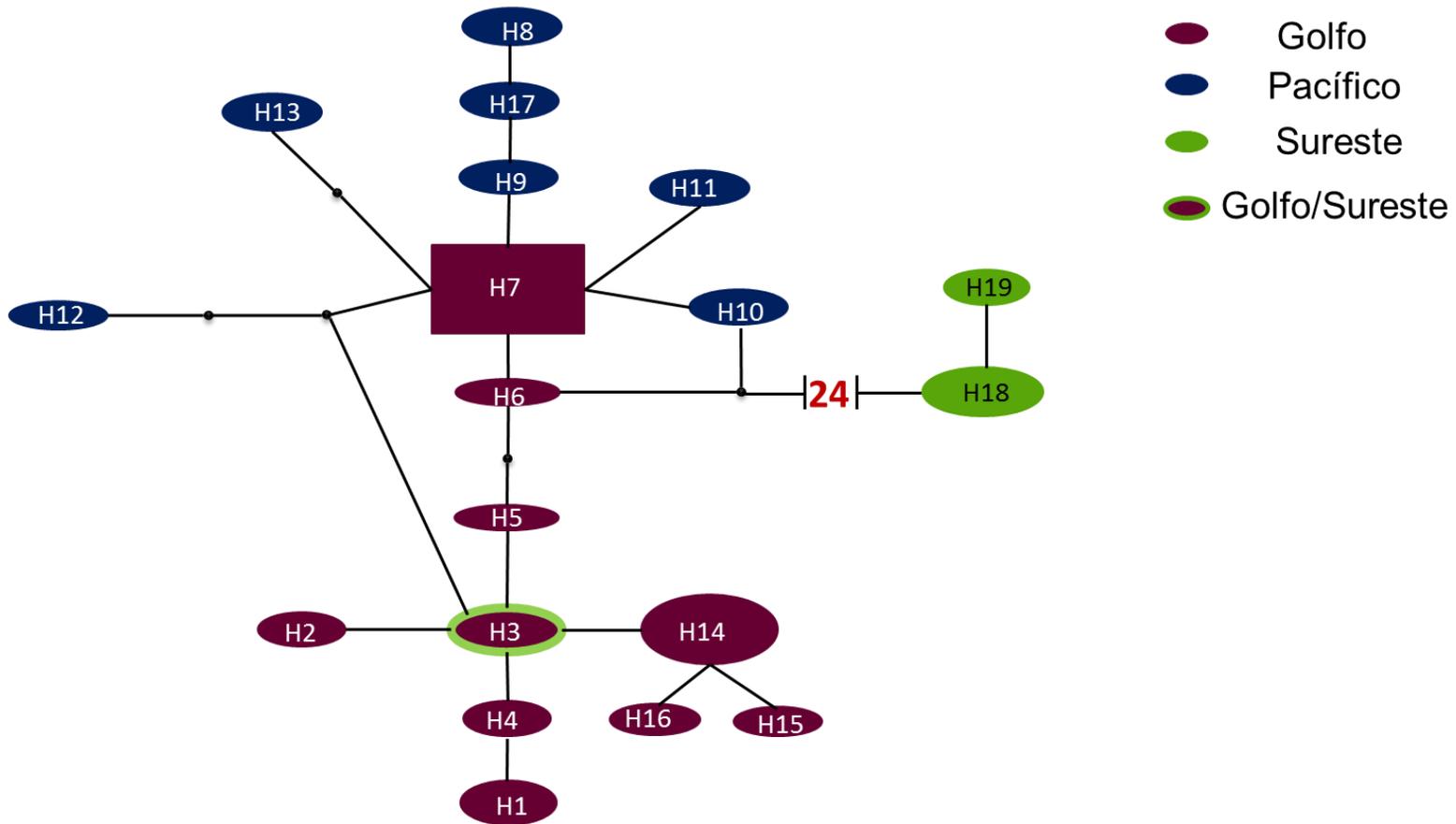


Figura 9. Red haplotípica de los 19 haplotipos de *P. personatus* del gen citocromo b inferida por el criterio de parsimonia estadística con el programa TCS. El tamaño de las figuras representa las frecuencias haplotípicas; los círculos negros pequeños indican los haplotipos perdidos; las líneas representan los cambios mutacionales. Los haplotipos azules corresponden al Pacífico; los guindas, al Golfo de México; los verdes, al Sureste; guinda con verde, al Golfo-Sureste.

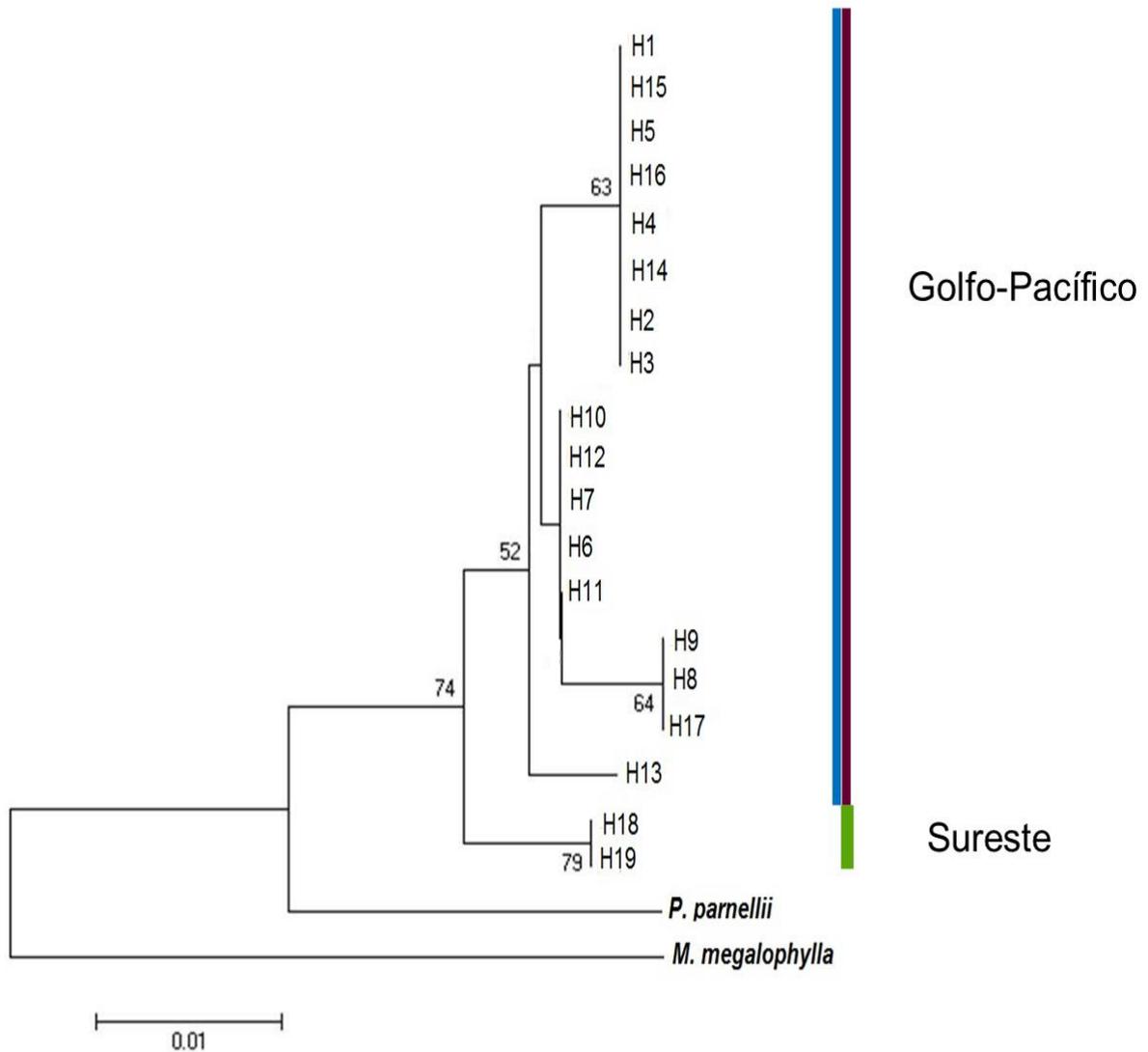


Figura 10. Filograma Neighbor-Joining de los 19 haplotipos de *P. personatus* con el gen citocromo b usando el modelo de Kimura 2-parámetros con 10000 réplicas. Se utilizó la secuencia de *Pteronotus parnellii* y *Mormoops megalophylla* como grupo externo. Las líneas guinda y azul señalan el clado que abarca las poblaciones de Golfo-Pacífico y la línea verde el Sureste.

8. DISCUSIÓN

El tamaño del fragmento analizado del dominio variable HVII de la región control (334 pb) y del citocromo b (561 pb) es similar al analizado para otras especies de murciélagos como *Myotis vivesi* (región control: 282 pb, Flores-Martínez, 2009), *Myotis myotis* (región control: 307 pb, Ruedi *et al.*, 2008), *Artibeus jamaicensis* (región control: 391 pb; citocromo b: 612 pb, Vargas-Miranda, 2009), *Tadarida brasiliensis mexicana*, (región control: 500 pb, Russell *et al.*, 2005), *Pteronotus davyi*, (región control: 555 pb, Guevara-Chumacero, 2009), *Natalus* (citocromo b: 500 pb, López-Wilchis *et al.*, 2012) (ANEXO 5). En el caso del citocromo b, aunque el fragmento fue menor al obtenido en otros estudios con otros mamíferos como *Plagiodontia aedium* (760-837 pb, Brace *et al.*, 2012) o *Apodemus draco* (1050 pb, Fan *et al.*, 2012) ha sido suficiente para explicar los efectos sobre la diversidad, flujo, estructura, distancias genéticas, análisis genealógicos y filogenéticos, mismos que de manera general son congruentes con los de región control, en donde la proporción del número de haplotipos identificados en este trabajo para un tamaño de muestra de 120 organismos es similar a los de *Artibeus jamaicensis*, en donde se reportó la presencia de 50 haplotipos para un tamaño de muestra de 84 murciélagos (Vargas-Miranda, 2009); sin embargo, es menor comparado con *P. davyi*, en el cual se reportaron 67 haplotipos con un tamaño de muestra de 105 individuos (Guevara-Chumacero, 2009) y en *Tadarida brasiliensis mexicana* en donde se identificaron 86 haplotipos en 94 individuos (Russell *et al.*, 2005), pero son significativamente mayores a los reportados en *Myotis vivesi*, donde se encontraron 39 haplotipos en 134 individuos (Flores-Martínez, 2009) y en *Myotis myotis* en el que se encontraron 18 haplotipos en 115 individuos (Ruedi *et al.*, 2008). Con el gen citocromo b se identificaron en este trabajo 19 haplotipos en

un tamaño de muestra de 50 individuos, similar al número de haplotipos encontrados en *Natalus* dentro de la República Mexicana (23 haplotipos para un tamaño de muestra de 52), sin embargo, son marcadamente menores comparados con los de *Artibeus jamaicensis* en donde se identificaron 68 haplotipos en 69 individuos, lo que sugiere una alta diversidad haplotípica (Vargas-Miranda, 2009). En general existe una relación entre el número de haplotipos, el tamaño de la muestra y el fragmento analizado.

Tanto en la región control como en el citocromo b, la diversidad genética resuelta para *P. personatus* mostró que la menor diversidad se presentó en las localidades dispuestas en el Atlántico y éste ha sido un efecto que se ha observado en otros miembros de la familia como *P. davyi* (Guevara-Chumacero, 2009) y *Natalus mexicanus* (López Wilchis y Guevara-Chumacero, com. pers.). La disminución del hábitat y por consecuencia la fragmentación por efectos directos o indirectos de las actividades antropogénicas, han explicado la pérdida de la variación genética y ha sido observado tanto en murciélagos como en otros grupos de organismos (Castellanos, 2009; Galindo-González, 2004; Porras-Murillo, 2008).

En México, el bosque tropical al cual está asociada la distribución de *P. personatus*, ha sido una vegetación fuertemente afectada por las actividades humanas y está desapareciendo con extraordinaria rapidez, principalmente en el Golfo de México. Las principales causas de ello son el establecimiento y desarrollo de áreas agrícolas y de pastizales para el pastoreo de ganado, así como la ampliación de los ranchos ganaderos y la extracción de productos de madera a partir de la deforestación masiva, además del uso de tecnologías tradicionales como la tumba, rosa y quema en la agricultura que también ha contribuido en la disminución y fragmentación de las selvas tropicales (Duran y Méndez, 2010; Rzedowsky, 2006). Lo anterior tiene como consecuencia la reducción en el área total del hábitat y la generación de parches

aislados, lo que resulta en la reducción general del tamaño poblacional de la mayoría de las especies y la disminución del número de migrantes entre los parches, de manera que modifica la composición genética de las especies, ya que puede incrementarse la endogamia y la deriva génica, lo que produce que se erosione la variabilidad (Frankham *et al.*, 2005). La pérdida de esta variación sucede como cambios en la frecuencia de los alelos o por deriva genética (Mettler y Gregg, 1982). En ese sentido, los bajos valores de diversidad genética de *P. personatus* estarían indicando probablemente una disminución en el tamaño de las poblaciones ocasionada por la fragmentación del hábitat, lo que trae como consecuencia cambios en la frecuencia de alelos. Gardner *et al.* (2005) menciona que la diversidad genética de una especie determina su capacidad de respuesta a cambios ambientales como una medida de la adaptación.

La localidad de Santo Domingo también presentó baja variabilidad en comparación con el resto de las localidades que se encuentran distribuidas a lo largo de la vertiente del Pacífico Mexicano. Los factores que originan esta pérdida de variabilidad pueden asociarse a su posición geográfica, ya que es la localidad más norteña en la distribución de *P. personatus* y, de acuerdo a Eckert *et al.* (2008), en algunas especies las poblaciones periféricas presentan menor variabilidad genética. Además, en Santo Domingo se presenta un tipo particular de vegetación que corresponde a bosque espinoso con clima caluroso y árido o semiárido, con altitudes que van de 0 a 2200 msnm (Rzedowski, 2006) y difiere del resto de las localidades analizadas, en donde las condiciones particulares del hábitat limitan la dispersión ya que las diferencias en el tipo de hábitat a pequeña escala pueden representar barreras parciales al flujo génico (Abdelkrim *et al.* 2010), lo que tiene como consecuencia un flujo menor a uno con todas las localidades con excepción de Frontera ($Nm = 1.14$), lo que origina un efecto de

aislamiento de esta población. El flujo génico es un factor importante para el mantenimiento de la variabilidad genética, ya que distribuye y proporcionan alelos nuevos a una población (Mettler y Gregg, 1982). Por otro lado, una baja variabilidad genética además de limitar las respuestas a cambios en el ambiente, pueden ser resultado de reducciones históricas en el tamaño poblacional (Frankham, 1995). Por ejemplo, Arita (1994) menciona que las especies cavernícolas que son frágiles o vulnerables a la extinción, generalmente están localizadas dentro de hábitats o áreas geográficas restringidas y el tamaño de sus poblaciones es reducido.

Sumado a estos factores que están afectando potencialmente la variabilidad de las poblaciones de *P. personatus*, es importante mencionar que la perturbación inadvertida de los refugios ha causado grandes impactos en el tamaño poblacional de los murciélagos mexicanos (Tuttle y Moreno, 2005). En muchos lugares las cuevas han tenido disturbios constantes a causa de falta de información, supersticiones y falsos miedos, a tal grado que para algunas localidades reportadas en la base de datos de los mamíferos de México depositadas en las colecciones de los Estados Unidos y Canadá (López-Wilchis, 2003), en la actualidad la presencia de *P. personatus* es nula ya que en algunas de las localidades reportadas ya no existen o bien no se encontraron organismos. Se han realizado estudios en donde se ha encontrado que las poblaciones de murciélagos han disminuido entre un 95 y 100% en cuevas del norte de México, debido principalmente a que se dinamitan las cuevas o se generan incendios intencionales (Bat Conservación International; www.batcon.org). Los disturbios humanos producen un gran impacto sobre las poblaciones de murciélagos y más si se considera que estos organismos son muy vulnerables porque se reproducen más lento que cualquier otro mamífero de igual tamaño y que el daño ocasionado a una sola cueva puede ser crítica para la sobrevivencia de una especie (Tuttle y Moreno, 2005); además de que las

cuevas, al ser sitios donde se reproducen los murciélagos, son especialmente importantes para el mantenimiento de la diversidad genética (Piñero *et al.*, 2008).

Por otro lado, se puede observar que las localidades que presentan una mayor diversidad genética, están asociadas a flujo génico constante, ya que valores altos de diversidad se esperan en grupos donde la dispersión entre poblaciones es alta, esto se debe a que el flujo génico restablece los alelos que se pierden por efectos de la deriva génica (Mettler y Gregg, 1982). La localidad de Arroyo del Bellaco presentó altos valores de variabilidad genética en comparación con las demás localidades a lo largo del Golfo. Dicha localidad, se encuentra en un tipo de vegetación que corresponde al bosque tropical caducifolio, con clima cálido y semihúmedo con altitudes entre 0 y 1900 msnm (Rzedowski, 2006) y difiere del resto de la vegetación en esta vertiente (bosque tropical perennifolio, con clima cálido húmedo y altitudes entre 0 y 1500 msnm, Rzedowski, 2006), sin embargo sus valores de diversidad podrían sugerir que es una población estable, ya que la variabilidad genética representa un balance entre la mutación, la deriva génica y la selección natural. Altos niveles de variación genética son considerados equilibrados ya que confieren a las poblaciones la habilidad de responder a presiones de selección (Amos y Harwood, 1998). La diferencia en los niveles de variación genética entre poblaciones y especies se relacionan con los tamaños poblacionales históricos y actuales, la presencia de cuellos de botella, el sistema de apareamiento, la selección natural, la mutación, el flujo génico y la interacción entre todos estos factores (Frankham *et al.* 2005).

En cuanto a la variabilidad genética total, la diversidad haplotípica de *P. personatus* resultó ser alta en comparación con la diversidad nucleotídica (región control: $h = 0.953$; $\pi = 0.0219$; citocromo b: $h = 0.907$; $\pi = 0.0141$); respecto a esto, Grant y Bowen (1998) derivaron cuatro premisas de historia demográfica a partir de un meta-análisis de la relación entre la

diversidad nucleotídica y haplotípica observada en diversos grupos de animales: 1) cuando π y h son pequeños ($< 0.5\%$) la especie experimenta un cuello de botella poblacional reciente o un efecto fundador que genere un único o pocos linajes mitocondriales; 2) cuando π es pequeño y h es grande (≥ 0.5) la especie sufrió un cuello de botella seguido de crecimiento poblacional rápido y acumulación de mutaciones; 3) cuando π es grande y h pequeño, la especie divergió en poblaciones geográficamente subdivididas y 4) Cuando π y h son grandes las poblaciones de la especie son estables con una larga historia evolutiva o bien, muestran un contacto secundario entre linajes diferenciados. De acuerdo con Grant y Bowen (1998) y con base en los resultados de π y h de las poblaciones de *P. personatus*, esta especie probablemente sufrió un cuello de botella seguido de crecimiento poblacional rápido y acumulación de mutaciones. De acuerdo con Frankham *et al.* (2005), esto también es característico de las poblaciones fragmentadas que han pasado por cuellos de botella o que han tenido pérdidas rápidas de variabilidad genética y se encuentran en peligro de desaparecer.

A nivel general, los resultados de diversidad obtenidos para las poblaciones de *P. personatus* son semejantes a los reportados para *P. davyi*, otro miembro de la familia Mormoopidae con el que comparte una distribución similar. Ello sugiere que la diversidad genética en diversas poblaciones de *P. personatus* se encuentra dentro de los rangos esperados para el taxón. La diversidad genética total de *P. personatus* también resultó similar a la reportada en *P. davyi* (región control: $h = 0.979$; $\pi = 0.0172$; Guevara-Chumacero, 2009), sin embargo en relación con otras especies de murciélagos, aunque el valor de diversidad haplotípica comparativamente fue similar en todos los casos, la diversidad nucleotídica fue marcadamente más baja en comparación con *Tadarida brasiliensis mexicana* (región control: $h = 0.998$; $\pi = 0.045$, Russell, *et al.*, 2005); *Artibeus jamaicensis* (región control: $h = 0.988$; π

= 0.041; citocromo b: $h = 0.987$; $\pi = 0.08$, Vargas-Miranda, 2009); *Myotis vivesi* (valores promedio: $h = 0.543$; $\pi = 0.009$, Flores-Martínez, 2009) y de un grupo de murciélagos italianos *Myotis myotis* (valores promedio; $h = 0.47$; $\pi = 0.65$, Ruedi *et al.*, 2008) (ANEXO 5).

Diversos autores explican que la diversidad nucleotídica baja y la diversidad haplotípica alta, están relacionados con eventos rápidos de expansión relativamente recientes (Fasanella, 2012; Grant y Bowen, 1998; Guevara-Chumacero, 2009; Russell *et al.*, 2005; Vargas-Miranda, 2009). Los episodios geológicos complejos y los bruscos cambios de temperatura y humedad durante los periodos glaciales e interglaciares del Pleistoceno (Graham, 1993; Toledo, 1982), han sido determinantes en la composición de la flora y fauna tropical del Nuevo Mundo (Ramamoorthy *et al.*, 1993; Rzedowski, 2006). Existen pruebas fitogeográficas que sugieren que el bosque tropical (hábitat de *P. personatus*) fue desplazado de su actual área de distribución en México hacia el sur durante los periodos más críticos del Pleistoceno, con posteriores expansiones hacia el Norte en las regiones costeras. El surgimiento de la Sierra Madre Occidental, Oriental y del Sur, además del Eje Volcánico, provocó heterogeneidad ambiental y fragmentación de los bosques tropicales, lo que probablemente facilitó la dispersión de los murciélagos dando origen a una alta diversificación de haplotipos con mínimas diferencias nucleotídicas (Briones, 1994; Guevara-Chumacero, 2009; Rzedowski, 2006; Vargas-Miranda, 2009).

La presencia de estructura genética poblacional, indica que el bajo flujo génico ha sido un factor importante para la diferenciación entre algunas poblaciones de *P. personatus*, en donde se observó una segregación de las poblaciones del Sureste con respecto a las pertenecientes a las vertientes del Golfo-Pacífico, lo que conforma dos grupos bien definidos para la República Mexicana.

Los análisis permitieron definir una estructuración entre las poblaciones de *P. personatus* y entre grupos (Golfo-Pacífico vs Sureste). Dicha estructura puede ser consecuencia de bajos niveles de flujo génico entre las poblaciones de las diferentes localidades analizadas, las cuales se traducen en poblaciones aisladas entre sí (Slatkin, 1994). Los bajos valores de flujo génico entre estos grupos ($Nm < 1$) y por consecuencia su estructuración, puede relacionarse con la existencia del Istmo de Tehuantepec como una barrera geográfica, zona reconocida por diversos autores como de transición y especiación para muchos taxa incluyendo insectos, reptiles, aves y mamíferos, entre los que se encuentran los murciélagos (Cortés-Rodríguez, 2003; Guevara-Chumacero *et al.*, 2010; Halffter, 1987; López *et al.*, 2009).

Smith (1972) menciona que el Istmo de Tehuantepec no es una barrera importante para miembros del género *Pteronotus* con excepción de *Pteronotus parnellii*, en donde *P. p. mexicanus*, una subespecie más pequeña y pálida está diferenciada al norte del Istmo en comparación con *P. p. mesoamericanus*, el cual tiene mayor tamaño y un color más oscuro al sur, en donde la diferenciación entre estas dos unidades geográficas está explicada por el bajo flujo génico entre ellas (Smith, 1972). Sin embargo, para *P. davyi*, ya se han propuesto dos linajes para México promovidos por esta barrera (Guevara-Chumacero *et al.*, 2010).

Los valores de F_{ST} obtenidos para *P. personatus* con la región control, son considerados altos, ya que comparativamente son mayores a los reportados para *P. davyi* (F_{ST} general = 0.301, $P < 0.05$; F_{ST} entre grupos Golfo-Pacífico vs Sureste = 0.429, $P < 0.05$, Guevara-Chumacero *et al.*, 2010) y *Myotis myotis* ($F_{ST} = 0.47$, $P < 0.001$), en donde en éste último se consideró que existía una fuerte estructuración entre colonias de estos murciélagos (Ruedi *et al.*, 2008). Otros ejemplos donde no se ha encontrado estructuración, son en tres grupos de *Tadarida brasiliensis mexicana* ($F_{ST} = 0.004$, $P = 0.290$), los cuales son grupos migratorios

geográficamente definidos ya que presentan variación tanto en su tendencia migratoria, como en el rango de su ruta migratoria. Tampoco se encontró estructuración alguna entre los grupos migratorios vs no migratorios ($F_{ST} = 0.021$, $P = 0.054$) (Russel *et al.* 2005). Un caso similar a éste último, es el de *Artibeus jamaicensis*, en el que no se encontró estructuración entre las poblaciones del este (*Artibeus jamaicensis yucatinicus*) y oeste (*Artibeus jamaicensis triomylus*) de México (Vargas-Miranda, 2009). Los valores generales de F_{ST} obtenidos con el citocromo b son similares a los encontrados entre poblaciones de murciélagos mexicanos del género *Natalus*, con el que comparte una distribución similar (AMOVA: $F_{ST} = 0.794$, $P < 0.05$; López-Wilchis *et al.* 2012), también son parecidos a los encontrados entre poblaciones de roedores del sur de China *Apodemus draco* (AMOVA: $F_{ST} = 0.804$, $P < 0.05$) cuya estructuración se atribuye a la presencia de algunos grandes ríos y montañas que actúan como barreas (Fan *et al.*, 2012).

Con respecto a las localidades del Golfo vs Pacífico, la estructuración fue menor comparativamente con Golfo-Pacífico vs Sureste, con valores máximos de flujo génico entre vertientes de $Nm = 2.82$ y $Nm = 3.50$ en región control y citocromo b respectivamente. Las localidades que presentan estos valores, están dispuestas por debajo del Eje Neovolcánico a la altura de la Depresión del Balsas y es posible que haya habido intercambio de individuos en esta zona debido a la existencia de un corredor biológico antiguo (Fig 3). Al respecto, Martin (1958) y Van devender (1990a) proponen la existencia de un corredor arbolado entre la Sierra Madre Oriental y Occidental durante el Pleistoceno, lo que explicaría la presencia de flujo génico entre ambas vertientes y que en algún momento fue interrumpido, ya que si el movimiento de individuos hubiera continuado a través del tiempo no se observaría una

estructuración, como en el caso de *Artibeus jamaicensis triomylus* y *Artibeus jamaicensis yucatanicus* (Vargas-Miranda, 2009).

Otra posibilidad es la de un origen común con una expansión posterior, seguida de un aislamiento geográfico y sin intercambio de individuos entre ambas vertientes, el cual pudo dar origen a la estructuración actual. Es posible que los valores de flujo genético entre ambas vertientes sea un reflejo de un linaje compartido en el pasado o de una distribución continua, ya que entre estas se presentó un haplotipo compartido (región control: H = 30). Estos resultados son similares a los presentados para *P. davyi*, en donde se sugiere que a partir de dos refugios pleistocénicos, estos murciélagos se expandieron para colonizar las regiones del Sureste y Golfo-Pacífico, lo que concuerda para *P. personatus*, ya que también se presentaron haplotipos compartido entre Pacífico con Sureste (región control: H = 23; citocromo b: H4).

La estructuración observada para *P. personatus*, puede estar asociada no solo al Istmo de Tehuantepec, sino también a la presencia de los sistemas montañosos y de la meseta mexicana como barreras geográficas; la compleja orografía actual representada por las Sierras Madres y el Eje Volcánico Transversal, con elevaciones que van de los 1000 a los 5600 msnm (Rzedowsky, 2006), podrían actuar como barreras para la dispersión de *P. personatus* entre Golfo y Pacífico, ya que la distribución actual de las poblaciones de este organismo se limitan a altitudes no mayores a los 1000 msnm. Por otra parte, Smith (1972) menciona que la meseta mexicana es una barrera importante tanto física como ecológica para la dispersión de los miembros del género *Pteronotus* y que debido a esto, sus rangos de dispersión se extienden a ambos lados de la meseta, a lo largo de las tierras bajas del este y oeste de México. Otros ejemplos que apoyan esto son el estudio de Guevara-Chumacero *et al.* (2010) donde mencionan que los sistemas montañosos y el altiplano mexicano tienen una profunda

influencia como barreras físicas para la dispersión de *P. davyi*. Mock *et al.* (2002) estudiaron tres poblaciones norteñas en México de *Meleagris gallopavo* (*M. g. mexicana*, *M. g. merriami* y *M. g. intermedia*) y encontraron que existen suficientes diferencias a nivel genético para apoyar la separación entre subespecies. Dicha separación, señalan, puede deberse a la presencia de las cadenas montañosas mexicanas y el desierto de Sonora y Chihuahua como barreras biogeográficas. Fuera del continente americano, Ruedi *et al.* (2008) relacionaron la presencia de los Alpes como una barrera geográfica para el flujo génico entre poblaciones de murciélagos *Myotis myotis*.

Con respecto al flujo génico entre las localidades de *P. personatus* los valores más altos se presentaron entre localidades dentro de las mismas vertientes y entre localidades geográficamente cercanas, sin embargo hubo localidades que no siguieron este patrón, por ejemplo, la localidad de Santo Domingo solo tuvo flujo con Frontera, mismo que fue bajo ($Nm = 1.14$) y como se mencionó anteriormente, ello puede estar relacionado con un posible aislamiento geográfico y otros factores como el tipo de vegetación, clima y altitud. Esta misma situación se presentó en la localidad de Arroyo del Bellaco, para la vertiente del golfo medio, la cual presenta localidades contiguas tanto al norte (Pujal) como al sur (Catemaco), con bajos valores de flujo entre ellas, lo que podría estar relacionado con que Arroyo del Bellaco se encuentra inmersa en otro tipo de vegetación que difiere del tipo de vegetación que la rodea. Estas localidades presentan condiciones ecológicas particulares, por lo que el tipo de hábitat y un microclima local podría representar barreras parciales al flujo génico (Abdelkrim *et al.*, 2010).

Las distancias genéticas, las cuales describen el grado de diferenciación entre pares de poblaciones (Piñero *et al.*, 2008), presentaron una mayor divergencia entre las localidades

correspondientes a Agua Blanca y Kantemó (Sureste) con respecto al resto de las localidades (Golfo-Pacífico). Las distancias genéticas entre estos grupos (Golfo-Pacífico vs Sureste), fueron altas (región control, 5.1%; citocromo b, 1.4%), lo que concuerda con los bajos valores de flujo génico y por consecuencia con la estructuración. Como se mencionó anteriormente, la presencia del Istmo de Tehuantepec entre este grupo de localidades puede funcionar como barrera, lo que traería como consecuencia una divergencia gradual debida al aislamiento geográfico. Estos valores de distancia genética entre Golfo-Pacífico vs Sureste son considerablemente más altos que los reportados para *P. davyi* (región control: 2.05%), en el que se reconoce una separación genética entre ambas regiones (Guevara-Chumacero *et al.*, 2010).

La distancia genética entre Golfo vs Pacífico fue menor a la observada con respecto al sureste (región control: 1.2%; citocromo b: 0.6%), lo que concuerda con los moderados niveles de flujo génico y el grado de estructuración. El valor de distancia genética reportado aquí para *P. personatus* entre ambas vertientes es mayor a los reportados para *P. davyi* (región control: 0.26%), en donde se sugiere la presencia de flujo génico actual entre Golfo vs Pacífico, con posibilidad de un contacto en bajas altitudes del Istmo de Tehuantepec (Guevara-Chumacero, 2009).

Otra consecuencia del flujo génico restringido es el aislamiento por distancia, ya sea por factores ecológicos, históricos o demográficos (Shiang-Fan *et al.*, 2006). Los resultados de la prueba de Mantel indican que la diferenciación genética esta inversamente relacionadas con los niveles de flujo génico (Dupanloup *et al.*, 2002). Este aislamiento por distancia fue más evidente para las localidades que presentaron una mayor distancia geográfica (Agua blanca y Kantemó) en relación con las demás localidades (Golfo-Pacífico) (ANEXO 6).

Aunque bajo el modelo de aislamiento por distancia se espera que en ausencia de barreras (geográficas, climáticas) para el flujo génico, los valores de distancia genética aumenten con un incremento de la distancia geográfica dentro de la misma especie (Wright, 1943), los resultados, como se han explicado, permiten inferir que el Istmo de Tehuantepec ha conducido también a la separación genética entre estos grupos, así como sucede para *P. davyi* y otros organismos (Guevara-Chumacero, 2009) con distribuciones similares.

Esta separación también se ve apoyada por los análisis genealógicos y filogenéticos ya que en ambos casos se forman dos grupos bien definidos, uno formado por el Sureste y otro formado por Golfo-Pacífico, lo que concuerda con la presencia del Istmo de Tehuantepec como barrera. Estos resultados contradicen la hipótesis de la presencia de tres linajes asociados al Golfo, Pacífico y Sureste. Asimismo, en la red haplotípica se observa también cierto grado de estructuración entre los haplotipos formado por Golfo-Pacífico, sin embargo contiene también haplotipos interconectados que corresponden a Veracruz y Colima. Como se mencionó anteriormente, se presentaron haplotipos compartidos entre grupos (región control: H30 = Golfo-Pacífico, H23 = Pacífico-Sureste; citocromo b: H4 = Golfo-Sureste), lo que concuerda con las posibilidades mencionadas acerca de un intercambio de individuos entre ambas vertientes por medio de un corredor biológico antiguo a la altura de la depresión del Balsas que posteriormente se cerró, ó la de un origen común con una expansión posterior, seguida de un aislamiento geográfico y sin intercambio de individuos entre ambas vertientes, el cual pudo dar origen a la estructuración actual.

Finalmente, los análisis realizados entre las poblaciones de *P. personatus*, tanto en la región control como en el citocromo b del ADNmt, mostraron la presencia de dos grupos bien definidos, uno formado por Kantemó y Agua Blanca (Sureste) y el otro formado por el resto

de las localidades pertenecientes a ambas vertientes (Golfo-Pacífico). Esto se dio en función de las altas distancias genéticas, los bajos valores de flujo génico y al aislamiento por distancia que existe entre ambos grupos, mismos que se ven fuertemente apoyados por los análisis genealógicos y filogenéticos, sugiriendo la presencia de dos linajes para *P. personatus* dentro de la República Mexicana, promovido por el Istmo de Tehuantepec como barrera geográfica.

La localidad de los Laguitos, Chiapas presentó valores de distancia genética entre 2.7% y 3.0% con región control y 0.0% a 1.6% con citocromo b con respecto al resto de las localidades, además de que en la región control se identificó un haplotipo compartido entre Pacífico y Sureste ($H = 23$) y en citocromo b entre Golfo con Sureste ($H = 4$), lo que corroboraría un origen común con una separación posterior de las poblaciones de *P. personatus*. Sin embargo, éstos datos no permiten tener una idea clara acerca de esta localidad con respecto a las demás, ya que únicamente se contó con dos y un individuo respectivamente, lo cual limita los alcances de los resultados, por lo que es necesario la obtención de un mayor número de muestras. Aunado a esto, es necesario profundizar en los análisis genéticos y filogeográficos de la especie empleando otros marcadores moleculares (microsatelites, intrones, etc.) además de complementarlos con análisis morfológicos con la finalidad de contar con suficientes elementos que permitan delinear el patrón actual de distribución, los tiempos de divergencia y expansión poblacional de *P. personatus* en México.

9. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos es posible concluir que:

- *Pteronotus personatus* presenta una alta diversidad haplotípica y baja diversidad nucleotídica, atributos característicos de una expansión rápida posterior a una experimentación de cuello de botella.
- Las poblaciones de *P. personatus* presentaron diversidad genética total alta con variaciones locales de baja diversidad.
- *P. personatus* exhibe una estructuración genética significativa entre las localidades del Golfo-Pacífico vs Sureste, lo cual es apoyado por los análisis genealógicos y filogenéticos que resuelven dos filogrupos bien definidos para la República Mexicana.
- El Istmo de Tehuantepec y el aislamiento geográfico han actuado como barreras al flujo génico entre las localidades del Golfo-Pacífico vs Sureste, promoviendo su diferenciación.
- Actualmente los sistemas montañosos tales como la Sierra Madre Occidental y Oriental constituyen barreras físicas para la dispersión de *P. personatus* y son causales de la separación entre vertientes ocasionando una distribución a manera de gradiente,

limitada altitudinalmente por los 1000 msnm y en un sentido horizontal norte-sur interrumpido en la región noroeste por el tipo de clima y vegetación.

- La estructura genética, los bajos niveles de flujo génico y la presencia de un haplotipo compartido sugieren que las poblaciones de ambas vertientes están en un proceso de aislamiento.
- El Eje Volcánico Transversal no constituye una barrera física para la dispersión norte-sur de *P. personatus* dentro de cada vertiente, ya que se presenta flujo génico a lo largo de éstas.
- Las variaciones en el hábitat a nivel local, en particular la temperatura y el tipo de vegetación, juegan un papel importante en el flujo génico entre las poblaciones de *P. personatus*, ya que se favorece entre las localidades situadas en sitios con vegetación similar y se ve limitado en aquellas con vegetación diferente.
- Es necesario profundizar en los análisis genéticos y filogeográficos de la especie empleando otros marcadores moleculares (microsatélites, intrones, etc.), además de complementarlos con análisis morfológicos con la finalidad de tener suficientes elementos que permitan delinear el patrón actual de distribución, los tiempos de divergencia y expansión poblacional de *P. personatus* en México.

10. LITERATURA CITADA

1. Abdelkrim, J., Byrom, A. E. y Gemmell, N. J. 2010. Fine-scale genetic structure of mainland invasive *Rattus rattus* populations: implications for restoration of forested conservation areas in New Zealand. *Conservation Genetics*. 11:1953-1946.
2. Adams, J. K. 1989. *Pteronotus davyi*. *Mammalian Species*. 346: 1-5.
3. 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.
4. Amos, W. y Harwood, J. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 353:177-186.
5. Arita, H. T. 1994. La vida bajo la Tierra. *Ciencias*. 36:50-58.
6. Avise, J. C. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA. Pags. 447.
7. Bat Conservation International; www.batcon.org
8. Brace, S., Barnes, I., Powell, A., Pearson, R., Woolaver, L. G., Thomas, M. G. y Turvey, S. T. 2012. Population history of the Hispaniolan hutia *Plagiodontia aedium* (Rodentia: Capromyidae): testing the model of ancient differentiation on a geotectonically complex Caribbean island. *Molecular Ecology*. 21: 2239-2253.
9. Briones, V. O. 1994. El origen de los desiertos mexicanos. *Ciencia*. 45: 263-279.
10. Castellanos-Morales, G. 2009. El efecto de la fragmentación en la variabilidad genética de los perros llaneros (*Cynomys ludovicianus*) en Janos-Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. Tesis de maestría. Págs 140.

11. Ceballos G., Arroyo-Cabrales, J. y Medellín, R. A. Mamíferos de México. Págs 377-413. En: Ceballos, G. y Simonetti, J. A. (eds.). 2002. Diversidad y Conservación de los mamíferos Neotropicales. CONABIO-UNAM. México.
12. 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.
13. Clement, M., Posada, D. y Crandall, K. A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*. 9:1657-1660.
14. Cortés Rodríguez, M. N. 2003. Filogeografía de *Lampornis amethystinus* Swainson (Aves: Trochilidae). Universidad Autónoma de México. Facultad de Ciencias. Tesis de Licenciatura.
15. Dávalos L. M. 2006. The geography of diversification in the mormoopids. *Biological Journal of the Linnean Society*. 88:101-118.
16. De la Torre J. A. y Medellín R. A. 2010. *Pteronotus personatus* (Chiroptera: Mormoopidae). Mammalian Species. *American Society of Mammalogists*. 42:244-250.
17. Dobson, G. E. 1878. Catalogue of the Chiroptera in the collection of the British Museum. *British Museum, London*. Págs 567.
18. Dupanloup, I., Schneider, S. y Excoffier, L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11:2571-2581.
19. Durán G. R. y Méndez, M. (Eds). 2010. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. Mérida, Yucatan. Págs 496.

20. Eckert, C. G., Samis, K. E. y Lougheed, C. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*. 17:1170-1188.
21. Eguiarte, L. E., Souza, V., Nuñez-Farfán, J. y Hernandez-Baños, B. 1997. El análisis filogenético: métodos, problemas y perspectivas. Méxic. *Bol. Soc. Bot.* 60: 169-181.
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. Fan, Z., Liu, S., Liu, Y., Liao, L., Zhang, W. y Yue, B. 2012. Phylogeography of the South China Field Mouse (*Apodemus draco*) on the Southeastern Tibetan Plateau Reveals High Genetic Diversity and Glacial Refugia. *Plos One*. 7: e38184. doi:10.1371/journal.pone.0038184.
24. Fasanella, M. 2012. Variabilidad genética especial y ecología molecular en dos especies de roedores del Archipiélago de Tierra del Fuego: *Ctenomys magellanicus*, especie nativa y *Castor canadensis*, especie invasora. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias exactas y Naturales. Tesis Doctoral. Págs 149.
25. Fitzinger, J. J. 1870. Kritische Durchsicht der Ordnung der Flatterthiere oder Handfliigler (Chiroptera). Sitzb. k. Akad. Wiss., Wien, 61:1-114.
26. Flores Martínez, J. J. 2009. Aspectos ecológicos y filogeografía de *Myotis vivesi* una especie de murciélago endémico del Golfo de California, México. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Tesis Doctoral. Págs 93.
27. Flower, W. H. y Lydekker, R. 1891. An introduction to the study of mammals living and extinct. *Adam and Charles Black London*. Págs 763.

28. Frankham, R. 1995. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: A review. *Genetical Research*. 66:95-107.
29. Frankham, R., Ballou, J. D. y Briscoe D. A. 2005. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra. Segunda edición
30. 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.
31. Futuyma, D. J. 2005. Evolutionary Biology. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachusetts, EUA. Págs 543.
32. Galindo-González, J. 2004. Clasificación de los murciélagos de los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana*. 20: 239-243.
33. Gardner, E. J., Simmons, M. J. y Snustad, D. P. 2005. Principios de genética. 4ª ed. Limusa Wiley. México. Págs 713.
34. Google Earth 6.2.2.6613. Google Inc. 2012.
35. Graham, A. 1993. Historical factors and biological diversity in Mexico. En: Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution. Oxford University Press, New York. Págs 851.
36. Grant, W. S. y Bowe, 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.

37. Gray, J. E. 1825. An outline of an attempt at the disposition of Mammalia into tribes and families, with a list of the genera apparently appertaining to each tribe. *Ann. Philos.* 26:337-344.
38. Gray, J. E. 1838. A revision of the genera of bats (Vespertilionidae), and the description of some new genera and species. *Magazine of Zoology and Botany.* 2:483-505.
39. Gray, J. E. 1839. Descriptions of some Mammalia discovered in Cuba by W. S. MacLeay. Esq. *Annals Natural History.* 4:1-7.
40. Gray, J. E. 1866. Synopsis of the genera of Vespertilionidae and Noctilionidae. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 17:89-93.
41. Guevara-Chumacero, L. M. 2009. Patrones filogeográficos de *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) en México, basados en la región control. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Tesis doctoral. Págs 153.
42. 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.
43. Halffter, G. 1987. Biogeography of the montane entomofauna of Mexico and Central America. *Annual Review of Entomology.* 1:95-114.
44. Herd, R. M. 1983. *Pteronotus parnellii*. *Mammalian Species.* 209: 1-5.
45. Hudson, R. R., Slatkin, M. y Maddison, W. P. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics.* 132:583-589.
46. Irwin, D. M., Kocher, T. D. y Wilson, A. C. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of Mammals. *Journal of Molecular Evolution.* 32:128-144.

47. Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16:111-120.
48. Lancaster, W.C. y Kalko, E. K. V. 1996. *Mormoops blainvillii*. *Mammalian Species*. 544: 1-5.
49. Leach, R. P. 1821a. The characters of three new genera of bats without foliaceous appendages to the nose. *Transactions Linnean Society*. 13:69-72.
50. Leach, R. P. 1821b. The characters of seven genera of bats with foliaceous appendages to the nose. *Transactions Linnean Society*. 13:73-82.
51. Lewis-Oritt, N., Poter, C. A. y Baker, R. J. 2001. Molecular systematics of the Familia Mormoopidae (Chiroptera) based on cytochrome b and recombination activating gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 20:426-436.
52. Librado, P. y Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* doi: 10. 1093/bioinformatics/btp187.
53. Liedloff, A. 1999. Mantel: Mantel nonparametric test calculator, version 2.0. School of Natural Resource Science Queensland University of Technology, Australia.
54. López-Wilchis, R. 2003. Base de datos de los mamíferos de México, depositados en colecciones de Estados Unidos y Canadá. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. <http://investigacion.izt.uam.mx/mamiferos/>
55. López-Wilchis, R., Guevara-Chumacero, L. M., Ángeles, P. N., Juste, J., Ibañez, Carlos y Barriga-Sosa, I.D.L.A. 2012. Taxonomic status of the Mexican populations of funnel-eared bats, genus *Natalus* (Chiroptera: Natalidae). *Acta Chiropterologica*. 14: 305-316.

56. López, J. A., Lorenzo, C., Barragán, F. y Bolaños, J. 2009. Mamíferos de la zona lagunar del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 80:491-505.
57. Mancina, C. A. 2005. *Pteronotus macleayii*. *Mammalian Species*. 778: 1-3.
58. Martin, P. S. 1958. A biogeographic of reptiles and amphibians in the Gomez Farias region, Tamaulipas, Mexico. *Miscellaneous Publications of the University of Michigan Museum of Zoology*. 101:1-102.
59. 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.
60. Mettler, L. E. y Gregg, T. G. 1982. Genética de las poblaciones y evolución. Primera edición en español. Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana S. A de C.V. México. Págs 245.
61. Miller, G. S. 1907. The families and genera of bats. *Bull. U. S. Natl. Mus*, 57:1–282.
62. Mock, K. E., Theimer, T. C., Rhodes, O. E. Greenberg, D. L. y Keim, P. 2002. Genetic variation across the historical range of the wild turkey (*Meleagris gallopavo*). *Molecular Ecology*. 11:643-657.
63. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106:243-292.
64. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic*. 89:583-590.
65. Piñero, D., Caballero-Mellado, J., Cabrera-Toledo, D., Canteros, C. E., Casas, A., Castañeda, S. A., Castillo, A., Cerritos, R., Chassin-Noria, O., Colunga-GarcíaMarín,

- P., Delgado, P., Díaz-Jaimes, P., Eguiarte, L. E., Escalante, A. E., Espinoza, B., Fleury, A., Ramírez, S. F., Fragoso, G., González-Astorga, J., Villanueva, V. I., Martínez, E., Martínez, F., Martínez-Castillo, J., Yanes, A. M., Medellín, R., Medrano-González, L., Molina-Freaner, F., Morales, B. V., Murguía, A. V., Payró de la Cruz, E., Reyes-Montes, M. D. R., Robles, M. R. S., Rodríguez-Arellanes, G., Rojas, L. B., Romero-Martínez, R., Sahaza-Cardona, J. H., Salas, R. L., Sciutto, D., Scott, C. B., Schramm, Y. U., Silva, C., Souza, V., Lucía, M. T., Urbán, J. R., Uribe-Alcocer, M., Vázquez, M. D. J. C., Vázquez-Domínguez, E., Vovides, A. P., Wegier, A., Zaldívar, A. R. y Zúñiga, G. (2008). 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, pp. 437-494.
66. Piñero, D., Barahona, A., Eguiarte, L., Axayácatl Rocha, A. O. y Salas, R. L. 2008. 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, pp. 415-435.
67. Porras-Murillo, L. P., Bolaños-Montero, J. R. y Ban, B. R. 2008. Variación genética y flujo de genes entre poblaciones de *Crocodylus acutus* (Crocodylia: Crocodylidae) en tres ríos del Pacífico Central, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 56:1471-1480.
68. Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A. y Fa, J. 1993. Biological Diversity of Mexico: Origins and distribution. Oxford University Press, New York. Págs 851.
69. Rehn, J. A. G. 1902. A revision of the genus *Mormoops*. *Proc. Acad. Nat. Sci., Philadelphia.* 54:160-172.

70. Rezsutek, M. y Cameron, G. N. 1993. *Mormoops megalophylla*. *Mammalian Species*. 448: 1-5.
71. Rodríguez-Durán, A. y Kunz, T. H. 1992. *Pteronotus quadridens*. *Mammalian Species*. 395: 1-4.
72. Ruedi, M., Walter, S., Fischer, M. C., Scaravelli, D., Excoffier, L. y Heckel, G. 2008. Italy as a major Ice Age refuge area for the bat *Myotis myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Europe. *Molecular Ecology*. 17:1801-1814.
73. 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.
74. Rzedowski, J., 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. Págs 504.
75. Schneider, S., Roessli, D. y Excoffier. 2000. Arlequin: A software for population genetic data. Genetics and biometry laboratory, University of Geneva, Switzerland.
76. Shiang-Fan, C. S. Rossiter, S. J., Faulkes, C. G. y Jones, G. 2006. Population genetics structure and demographic history of the endemic Formosan lesser horseshoe bat (*Rhinolophus monoceros*). *Molecular Ecology*. 15:1643-1656.
77. Simmons, M. B. y Conway, T. M. 2001. Phylogenetic relationships of Mormoopid bat (Chiroptera Mormoopidae) based on morphological data. *Bulletin of American Museum of Natural History*. 258:1-97.
78. Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En: *Ecological genetics* (L.A. Real ed.). Pp. 3-18. New Jersey, Princeton University Press. Págs 256.

79. Smith, J. D. 1972, Systematics of the Chiropteran Family Mormoopidae. University of Kansas. Museum of Natatural History. *Miscellaneous Publication*. 56. Págs 132.
80. 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.
81. 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).
82. Templeton, A. R., Crandall, A. y Sing, Ch. F. 1992. A cladistics analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and ADN sequence data III. Cladogram estimation. *Genetics*. 132: 619-633.
83. 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.
84. Tuttle, M. D. y Moreno, A. 2005. Murciélagos cavernícolas del norte de México; su importancia y problemas de conservación. Derechos reservados por Bat Conservation International, Inc. Págs 50.
85. Van Den Bussche, R. A., Hooper, S. R. y Simmons, N. B. 2002. Phylogenetic relationships of mormoopid bats using mitochondrial gene sequences and morphology. *Journal of Mammalogy*. 83:40-48.
86. Van Devender, T. R. 1990a. Late Quaternary vegetation and climate of the Chihuahuan Desert, United States and Mexico. Packrat middens: the last 40,000 years of biotic

change (ed. by J. L. Betancourt, T. R. Van Devender and P.S. Martin). The University of Arizona Press, Tuscon, AZ. pp. 104-133.

87. Vargas-Miranda, B. 2009. Filogeografía de *Artibeus jamaicensis triomylus* y *Artibeus jamaicensis yucatanicus* (Chiroptera: Phyllostimidae) de México. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Tesis Doctoral. Págs 118.

88. Wagner, J. A. 1843. Diagnosen neuer Arten brasilischer Handflugler. *Arch. Naturgesch.* 9:365-368.

89. Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics.* 16: 97-101.

90. Wright, S. D. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28: 114-138.

ANEXO 1

Sitios polimórficos de los 57 haplotipos de región control del ADNmt, obtenidos con el programa DnaSP v.5.

Haplotipos	Sitio polimórfico														
	43	105	133	143	150	157	175	209	216	229	238	239	241	245	246
H1	A	C	A	C	G	A	C	G	C	G	G	C	A	A	A
H2			G						T						
H3			G												
H4		T		T											
H5		T		T											
H6															G
H7															
H8															
H9															
H10		T	G												
H11			G			G									
H12		T	G												
H13		T	G												G
H14	G														G
H15														G	
H16															
H17															
H18				T											
H19														G	
H20		T													
H21		T		T	A		T		T		A	T			
H22		T		T	A		T		T		A	T			
H23		T	G	T					T		A	T			
H24		T		T	A		T		T		A	T			
H25		T		T	A				T			T			
H26		T		T	A		T		T	A	A				
H27		T		T	A		T		T		A				
H28		T		T	A		T		T			T			
H29															G
H30															
H31											A		G		G
H32													G		G
H33											A				G
H34										A					G
H35												T			G
H36									T	A	A				
H37		T	G												
H38												T			G
H39		T													G
H40															
H41															G
H42															
H43															G
H44															G
H45									T						
H46												T			
H47								A							G
H48									T	A					
H49														G	
H50															
H51															G
H52															G
H53		T													G
H54				T	A				T		A	T			
H55		T		T	A				T		A	T			
H56		T		T	A				T		A	T			
H57		T		T	A				T		A	T			

<i>Sítio polimórfico</i>															
<i>Haplotipos</i>	247	249	252	254	259	260	262	278	279	280	292	295	308	316	319
H1	A	C	A	G	T	G	A	T	C	C	G	G	A	C	G
H2				A						T					
H3	G			A											
H4				A								A			
H5				A											
H6				A						T			G		
H7				A				C			A				
H8	G			A											
H9										T					
H10										T					
H11														T	
H12												A			
H13															
H14															
H15															
H16															
H17									A						
H18										T					
H19		T													
H20															
H21	G	T			C	T	G				A	A		T	-
H22	G	T				T	G				A			T	-
H23	G	T				T	G				A			T	-
H24	G					T	G				A				-
H25	G	T		A		T	G				A			T	-
H26	G	T				T	G				A			T	-
H27	G	T				T	G				A			T	-
H28	G	T				T	G				A			T	-
H29				A											
H30				A											
H31				A											
H32				A											
H33				A											
H34				A											
H35				A											
H36				A											
H37															
H38		T		A											
H39				A									G		
H40				A									G		
H41	G			A						T					
H42	G			A						T					
H43				A									G		
H44	G			A											
H45				A											
H46															
H47				A						T					
H48				A											
H49										T					
H50									A				G		
H51				A								A			
H52		T		A											
H53				A											
H54	G	T	G	A		T	G				A				-
H55	G	T			C	T	G				A			T	-
H56	G	T				T	G							T	-
H57	G	T				T	G				A			T	-

<i>Haplotipos</i>	<i>Sitios polimórficos</i>							
	320	321	322	323	324	325	326	327
H1	T	T	T	T	A	T	G	G
H2				C				
H3				C	G			
H4				C				
H5				C				
H6				C				
H7				C				
H8				C	G			
H9				C				
H10				C				
H11				C				
H12				C				
H13				C				
H14				C				
H15								
H16				C				
H17								
H18				C				
H19								
H20								
H21	-	-	C	C		C	-	-
H22	-	-	C	C		C	-	-
H23	-	-	C	C		C	-	-
H24	-	-	C	C		C	-	-
H25	-	-	C	C		C	-	-
H26	-	-	C	C		C	-	-
H27	-	-	C	C		C	-	-
H28	-	-	C	C		C	-	-
H29				C				
H30				C				
H31				C				
H32				C				
H33				C				
H34				C				
H35				C				
H36				C				
H37								
H38				C	T			
H39				C				
H40				C				
H41				C				
H42				C				
H43				C				
H44				C				
H45				C				
H46				C				
H47				C				
H48				C				
H49								
H50								
H51				C				
H52				C	T			
H53				C				
H54	-	-	C	C	T	C	-	-
H55	-	-	C	C	T	C	-	-
H56	-	-	C	C	T	C	-	-
H57	-	-	C	C	T	C	-	-

ANEXO 2

Lista de haplotipos resueltos para la región control, obtenida con el programa TCS v.1.21. Se muestra el número de haplotipo, localidad y entre paréntesis el número de individuos correspondientes a cada localidad.

<i>Haplotipos</i>	<i>Localidad y número de individuos por localidad en paréntesis</i>
H1	Ortices (1); P. de Oro (3)
H2	Ortices (1)
H3	Ortices (2); Amiales (1)
H4	Ortices (1)
H5	Ortices (1); P. de Oro (3)
H6	Ortices (1)
H7	Ortices (2)
H8	Ortices (1); Amiales (4)
H9	Sto. Domingo (1)
H10	Sto. Domingo (6); Frontera (1)
H11	Sto. Domingo (1)
H12	Sto. Domingo (1)
H13	Sto. Domingo (1)
H14	Las Viejas (1)
H15	Las Viejas (2)
H16	Las Viejas (2)
H17	Las Viejas (2); Frontera (1)
H18	Las Viejas (1); Frontera (2)
H19	Las Viejas (1)
H20	Las Viejas (1); Frontera (1)
H21	Kantemó (3)
H22	Kantemó (5); A. Blanca (3)
H23	A. Blanca (1); Laguitos (1)
H24	A. Blanca (1)
H25	A. Blanca (1)
H26	A. Blanca (1)
H27	A. Blanca (1)
H28	A. Blanca (1)
H29	Taninul (7); Pujal (5); A. Bellaco (1); Catemaco (8)
H30	Taninul (1); Amiales (1)
H31	Pujal (1)
H32	Pujal (1)
H33	Pujal (1)
H34	Pujal (1)
H35	Pujal (1); A. Bellaco (1); Catemaco (1)
H36	Amiales (2)
H37	Amiales (1)
H38	A. Bellaco (1)
H39	A. Bellaco (2)
H40	A. Bellaco (1)
H41	A. Bellaco (1)
H42	A. Bellaco (1)
H43	A. Bellaco (1)
H44	A. Bellaco (1)
H45	Laguitos (1)
H46	P. de Oro (1)
H47	P. de Oro (2)
H48	P. de Oro (1)
H49	Frontera (1)
H50	Frontera (1)
H51	Catemaco (2)
H52	Catemaco (1)
H53	Catemaco (1)
H54	A. Blanca (1)
H55	A. Blanca (1)
H56	Kantemó (1)
H57	Kantemó (1)

ANEXO 3

Sitios polimórficos de los 19 haplotipos del gen citocromo b, obtenidos con el programa DnaSP v.5.

Haplotipos	Sitios Polimórficos																									
	48	60	61	63	66	102	105	108	121	123	165	183	189	204	234	285	291	292	297	306	312	348	352	358	366	384
H1	C	T	T	A	T	C	A	T	T	G	T	T	C	C	C	C	T	G	C	A	C	G	T	C	T	T
H2	T															T					T					
H3	T															T										
H4	T															T										
H5	T															T										
H6	T															T								C		
H7	T															T								C		
H8	T								C							T						A	C		C	
H9	T								C							T							C		C	
H10	T															T							C			
H11	T															T							C			
H12	T	C		G												T							C			
H13	T									C						T		A					C			
H14	T															T										
H15	T											C				T										
H16	T															T										
H17	T								C							T								C		C
H18		C	C		C	T	C	C		A		C	T	T	T		C		A	C			C	T		C
H19		C	C		C	T	C	C		A		C	T	T	T		C		A	C			C	T		C

	<i>Sitios polimórficos</i>													
<i>Haplotipos</i>	393	399	414	432	444	462	477	483	495	534	540	558	561	
H1	C	A	G	A	C	A	C	T	G	T	T	A	C	
H2														
H3														
H4														
H5	T													
H6	T						T							
H7							T							
H8							T							
H9							T							
H10					T		T							
H11		G					T							
H12							T							
H13							T							
H14												G		
H15												G		
H16				C								G		
H17							T							
H18	T		A		T		T	C	A	C	C		T	
H19	T		A		T	G	T	C	A	C	C		T	

ANEXO 4

Lista de haplotipos resueltos para el gen citocromo b obtenida con el programa TCS v.1.21. Se muestra el número de haplotipo, localidad y entre paréntesis el número de individuos correspondientes a cada localidad.

<i>Haplotipos</i>	<i>Localidad y número de individuos por localidad</i>
H1	A. Bellaco (2)
H2	A. Bellaco (1)
H3	A. Bellaco (2); Catemaco (1); Laguitos (1)
H4	A. Bellaco (1)
H5	A. Bellaco (1)
H6	Catemaco (2)
H7	Frontera (3); Ortíces (3); P. de Oro (4); Las Viejas (1)
H8	Frontera (1)
H9	Frontera (2); Las Viejas (1)
H10	Frontera (1); Las Viejas (1)
H11	Frontera (1)
H12	P. de Oro (2)
H13	P. de Oro (1)
H14	Pujal (6); Taninul (3)
H15	Pujal (1)
H16	Taninul (1)
H17	Las Viejas (1)
H18	Kantemó (5)
H19	Kantemó (1)

ANEXO 5

Estudios moleculares de murciélagos y mamíferos. Se señala la especie, entre paréntesis orden y familia, número de individuos (n), pares de bases (pb), número de haplotipos (k) diversidad haplotípica (h), diversidad nucleotídica (π), índice de fijación (F_{ST}) y cita bibliográfica. Con un asterisco se indican las especies cuyo muestreo abarcó la República Mexicana.

<i>Región control</i>							
<i>Especie</i>	<i>n</i>	<i>k</i>	<i>pb</i>	<i>h</i>	π	F_{ST}	<i>Cita</i>
<i>Pteronotus personatus</i> * (Chiroptera: Mormoopidae)	120	57	334	0.953	0.021	0.735	Estudio actual
<i>Pteronotus davyi</i> * (Chiroptera: Mormoopidae)	105	67	555	0.979	0.017	0.301	Guevara-Chumacero, 2009
<i>Tadarida brasiliensis mexicana</i> * (Chiroptera: Molossidae)	94	86	500	0.998	0.045	-0.0018	Russell <i>et al.</i> , 2005
<i>Artibeus jamaicensis</i> * (Chiroptera: Phyllostomidae)	84	50	391	0.988	0.041	0	Vargas-Miranda, 2009
<i>Myotis vivesi</i> * (Chiroptera: Vespertilionidae)	134	39	282	0.543 promedio	0.009 promedio	-	Flores-Martínez, 2009
<i>Myotis myotis</i> (Chiroptera: Vespertilionidae)	115	18	307	0.47 promedio	0.65 promedio	0.47	Ruedi <i>et al.</i> , 2008
Citocromo b							
<i>P. personatus</i> * (Chiroptera: Mormoopidae)	50	19	561	0.907	0.014	0.866	Estudio actual
Natalus* (Chiroptera: Natalidae)	52	23	500	-	-	0.794	López-Wilchis <i>et al.</i> , 2012
<i>Artibeus jamaicensis</i> * (Chiroptera: Phyllostomidae)	69	68	612	0.987	0.082	0	Vargas-Miranda, 2009
<i>Plagiodontia aedium</i> (Rodentia: Capromyidae)	41	18	760-837	0.70-0.95	0.001-0.018	-	Brace <i>et al.</i> , 2012
<i>Apodemus draco</i> (Rodentia)	126	76	1050	0.989	0.036	0.804	Fan <i>et al.</i> , 2012

ANEXO 6

Distancias geográficas en kilómetros entre las 13 poblaciones de *P. personatus* obtenidas con el programa Google Earth.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 SD												
2 FR	509											
3 TA	2167	1658										
4 PU	2164	1655	10									
5 VI	699	190	1468	1465								
6 KA	2828	2319	1325	1322	2129							
7 AR	1786	1277	381	378	1087	944						
8 AM	1028	519	1140	1137	329	1801	759					
9 PO	1009	500	1208	1205	310	1869	827	70				
10 OR	1040	531	1127	1124	341	1788	746	13	81			
11 CA	1961	1452	556	553	1262	769	175	934	1002	921		
12 AB	2363	1854	860	857	1664	465	479	1336	1404	1323	304	
13 LA	2250	1741	839	836	1551	578	458	1223	1291	1210	283	113

ANEXO 7

Importancia ecológica de los Municipios agrícolas

Dafne Gri Zárate Martínez, Alejandra
Serrato Díaz y Ricardo López-Wilchis.

Recibido: 02 de enero de 2012.

Aceptado: 14 de marzo de 2012.

Abstract

Bats play a key role in maintaining ecosystem health and economic value because they represent the only natural way of fighting off large numbers of insects of which some of them are carriers of diseases and others are considered agricultural pests, help pollinate and disperse seeds of various plant species of great importance to humans. Because of its great importance the United Nations Environment Programme designated 2011 and 2012 as years of the bat. So this paper reviews the literature on the ecological importance of these mammals, the main factors that are endangering their populations and strategies proposals for conservation.

Resumen

Los murciélagos desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de los ecosistemas. Tienen valor económico y sanitario debido a que representan la única manera natural de combatir grandes cantidades de insectos, algunos de ellos transmisores de enfermedades y otros están considerados plagas agrícolas. Ayudan a polinizar y a dispersar semillas de diversas especies de plantas. Debido a su gran importancia, el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, designó 2011 y 2012 como los años del murciélago, por lo cual en este trabajo se realiza una revisión bibliográfica sobre la importancia ecológica de estos mamíferos, los principales factores que están poniendo en riesgo a sus poblaciones y algunas estrategias propuestas para su conservación.

Introducción

El Programa de la ONU para el Medio Ambiente declaró los años 2011 y 2012 como los “Años del Murciélago” con el objetivo de resaltar su importancia, protección y preservación (Figura 1). Los murciélagos presentan características sorprendentes y únicas, son los únicos mamíferos voladores, tienen una rara habilidad para ahorrar energía mientras duermen colgados y la capacidad de retardar la gestación hasta que haya un momento oportuno para el parto (QUO, 2011). Pertenecen al orden Quiróptera, que significa animales con alas en las manos y son uno de los grupos más diversos de mamíferos. En la actualidad se reconocen alrededor de 1100 especies divididas en dos Subórdenes, Megachiroptera (170 especies) y Microchiroptera (930 especies) lo

cual representa cerca de un cuarto de todas las especies de mamíferos conocidas (Simmons, 2005).

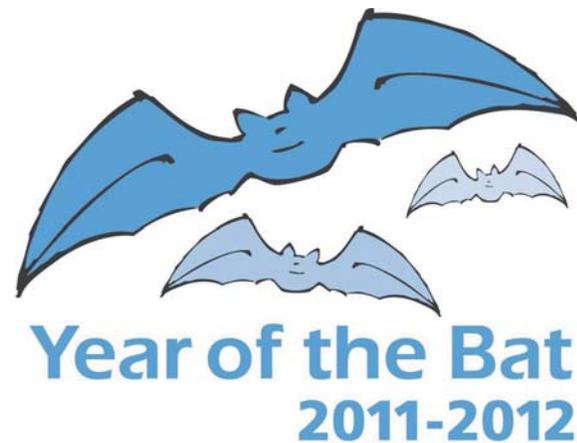


Figura 1. 2011 y 2012 los años del murciélago. (Tomada de: <http://amazings.es/2011/01/04/feliz-ano-del-murcielago/>).

Los megaquirópteros son murciélagos frugívoros que se distribuyen en África, Asia y Oceanía, sus cuerpos llegan a medir hasta 40 cm, 150 cm de envergadura con las alas extendidas y llegan a pesar hasta un 1 kg. El hábitat de este grupo es muy diverso, más del 50 % de los megaquirópteros duermen en árboles y el resto duermen en cuevas, debajo de los aleros, en las minas, en grietas, edificios y entre los cantos rodados. Se alimentan exclusivamente de plantas y algunas especies solo de néctar, polen, pétalos, brácteas, frutos, semillas u hojas (Mickleburgh *et al.*, 1992) (Figura 2).

Los microquirópteros presentan una gran variación en su forma y estructura, su tamaño varía entre 4 y 16 cm de longitud. Aproximadamente el 75 % se alimentan de insectos, el resto de las especies se alimentan de flores, frutos, lagartijas, ranas, pequeños mamíferos y sangre como es el caso del murciélago hematófago *Desmodus rotundus*, conocido como vampiro común. Se caracterizan por buscar y capturar su alimento mediante un sistema de ecolocalización con ultrasonidos que son emitidos por la boca o la nariz. Se distribuyen en todo el mundo con excepción de algunas islas y los polos. Utilizan una gran diversidad de hábitats para descansar y alimentarse como los bosques y tierras forestales, las zonas tropicales primarias o bien regeneradas y algunas especies se han adaptado bien a las zonas urbanas (Hutson *et al.*, 2001) (Figura 3).



Figura 2. Murciélagos del suborden Megaquiróptera (Tomada de: <http://nemiliztli.wordpress.com/>).

En México, se han reportado 138 especies de las cuales 100 se alimentan de insectos, 20 de frutos, 12 se alimentan de néctar y polen de las flores, tres ingieren sangre y cuatro más comen carne de pequeños vertebrados, desde peces hasta mamíferos (Medellín y Gaona, 2010).

Importancia ecológica

Los murciélagos, debido a la gran diversidad que presentan, tienen un gran impacto ecológico en diferentes niveles de las comunidades que conforman. Este impacto ha sido ampliamente estudiado, a tal punto que en algunas de esas comunidades se les ha catalogado como especie clave por los papeles que juegan en la evolución, estabilidad y funcionamiento de los ecosistemas, entre los que se encuentran:

Polinización

Se ha estimado que los murciélagos son polinizadores de al menos 500 especies de 96 géneros de plantas y actúan como eficientes agentes dispersores de polen, con lo cual contribuyen en la reproducción y la estructura poblacional de las especies que polinizan (Torres-Flores, 2005). Las flores de estas plantas presentan caracteres adaptativos relacionados con esta interacción, porque solo abren de noche o de madrugada; son grandes, blancas o de colores pálidos, con pétalos resistentes y emiten olores fuertes; por lo general se exponen fuera del folia-



Figura 3. Microquiróptero de la especie *Artibeus jamaicensis*. (Tomada de: <http://www.cameronparkzoo.com/jamaican-fruit-bat/>).

je, son largas y producen mucho néctar y polen para los altos requerimientos energéticos de los murciélagos (Ruiz y Soriano, 2000; Gándara *et al.*, 2006) (Figura 4).

Dispersores de semillas

Los murciélagos son los mamíferos dispersores de semillas más importantes en los trópicos debido a su capacidad de vuelo (Torres-Flores, 2005). Contribuyen a la propagación de muchas especies de plantas muy importantes dentro de las cadenas tróficas de estos ambientes (Galindo-González, 2004). Se estima que en las regiones tropicales, dispersan de 2 a 8 veces más semillas que las aves, lo cual los convierte en elementos fundamentales de la regeneración natural de las selvas. Se ha demostrado que en estaciones secas, entre el 80-100% de las semillas que llegan al suelo en bosques de tierras bajas son depositadas por murciélagos (MacSwiney, 2010).

Algunas especies presentan adaptaciones relacionadas con esta interacción, a tal punto que se ha propuesto una historia coevolutiva entre estos grupos. Las frutas tienen fuertes olores, colores apagados y



Figura 4. *Leptonycteris nivalis*, alimentándose del néctar del cactus saguaro (*Carnegiea gigantea*). (Tomada de: <http://www.sindioses.org/cienciaorigenes/evoflores.html>).

se producen en zonas del árbol libres de follajes. Los murciélagos, tienen un buen sentido del olfato, ojos grandes para enfocar la fruta desde el aire y una dentadura fuerte para desgarrarlo (Hutson *et al.*, 2001) (Figura 5).

Control poblacional de insectos

Entre los murciélagos existe una gran diversidad de especies insectívoras, son los principales consumidores de insectos nocturnos y en conjunto consumen diariamente decenas de toneladas de ellos. Algunas especies llegan a consumir entre 50 y 150 % de su peso corporal por noche (Hutson *et al.*, 2001), regulando las poblaciones de estos invertebrados en los ecosistemas tropicales, sobre todo de lepidópteros, coleópteros, homópteros, hemípteros y tricópteros (Palmeirim y Rodrigues, 1991) (Figura 6).

Creadores de nichos

Muchas especies de murciélagos viven en grutas o cuevas y con su actividad cotidiana generan nuevos nichos ecológicos que son habitados por comunidades de invertebrados (Palmeirim y Rodrigues, 1991). El guano es la principal materia orgánica para el sustento y desarrollo de estas comunidades donde se establecen complejas cadenas tróficas (Torres-Flores, 2005).

Funcionamiento de ecosistemas

Los murciélagos, son elementos clave de las regiones tropicales ya que contribuyen en las tasas de regeneración y diversidad, así como en el reciclamiento de nutrientes y transferencia de energía en los ecosistemas. Debido a su gran movilidad, tienen gran impacto en la redistribución de la energía, mejoran la heterogeneidad espacial de los nutrientes y contribuyen en la distribución espacial y la estructura genética de las poblaciones de plantas. Si aunamos a esto

su gran abundancia, los murciélagos pueden ser considerados especies clave en muchos ecosistemas tropicales (Torres-Flores, 2005). También, son fuente de alimento de otros vertebrados como reptiles, aves y otros mamíferos (MacSwiney, 2010). Algunas especies son responsables de iniciar el proceso de la regeneración de áreas devastadas por catástrofes naturales o humanas al dispersar las semillas de las plantas pioneras que promueven la recuperación de los ecosistemas (Medellín y Gaona, 2010).

Indicador biológico

En general, los murciélagos representan un grupo muy útil como indicador de la calidad de un ecosistema, debido a que muchas especies son sensibles a la pérdida o a la fragmentación de su hábitat. Cuando hay perturbaciones, las poblaciones reducen sus tamaños afectando la composición local y la diversidad de las comunidades (Torres-Flores, 2005).

Beneficios para el hombre

Los murciélagos proporcionan muchos beneficios directos e indirectos a la humanidad, muchos de ellos no muy bien conocidos ni valorados, entre los que encontramos:

Control de plagas

Los murciélagos consumen enormes cantidades de insectos proporcionando beneficios económicos, sociales y de salud, debido a que en su dieta se encuentran insectos que causan graves daños a cultivos y otros que son vectores de diversas enfermedades. Su actividad disminuye la necesidad de utilizar plaguicidas químicos, lo cual resulta en un gran aporte para la preservación del ambiente y un ahorro económico. El no contaminar el ambiente con sustancias químicas tóxicas constituye un atractivo turístico que genera una derrama económica para la región así como la producción de alimento orgánico (Gándara *et al.*, 2006). Por ejemplo, en México y Estados Unidos, el murciélago de cola libre (*Tadarida brasiliensis*), se alimenta de polillas que son plagas de cultivos de maíz y algodón causando pérdidas millonarias a la agricultura (Gándara *et al.*, 2006) (Figura 7).

Polinización y dispersión de semillas económicamente importantes

Al menos 443 productos utilizados por el hombre se obtienen de 163 especies de plantas que dependen de los murciélagos para su polinización o dispersión (Mickleburgh *et al.*, 1992). Sin ellos, no habría frutas como chicozapotes, zapotes negros, zapotes blancos, nanches, jobos, ciruelas criollas, capulines, ga-



Figura 5. Murciélago de la especie *Glossophaga soricina* (Tomada de: http://www.volkswagenstiftung.de/service/presse/bildangeboteallgemein/bild-detailansicht/bild/glossophaga-soricina.html?no_cache=1).

rambullos, hoja santa y pomarrosas; así como algunas maderas finas, fibras, bebidas y taninos (Mickleburgh *et al.*, 1992; Medellín y Gaona, 2010).

Entre las especies de plantas que polinizan estos mamíferos se encuentran los agaves. Gracias a esto, México tiene bebidas como el tequila y el mezcal, así como la barbacoa que se envuelve en pencas de maguey. Un caso particularmente importante es el del *Agave tequilana*, que en los últimos años ha sido atacado por infecciones de virus, bacterias y hongos. El problema es que todos estos agaves son genéticamente iguales debido al proceso de reproducción y cosecha que realizan los agricultores, ya que trasplantan los brotes que crecen de la raíz de la planta “madre” y ambos son exactamente iguales, lo cual significa, entre otras cosas, que son susceptibles a las mismas enfermedades. Aunado a esto, al agave se le corta el tallo floral antes de que florezca para mantener la máxima concentración de azúcar en la planta. Este mecanismo impide la polinización que deberían llevar a cabo los murciélagos, ya que permitiría que se mezclaran las características de dos plantas progenitoras, creando así individuos diferentes en cada generación y las enferme-

dades afectarían sólo a las plantas susceptibles y no a todo el cultivo (El siglo de Torreón, 2011).

Medicina

Desmodus rotundus es una especie de murciélago hematófaga, que por miedo, ha sido fuertemente atacado por el hombre debido a que es un vector de rabia y otras enfermedades. Sin embargo, la enzima de su saliva, conocida como DSPA (desmoteplasa), está siendo estudiada como una alternativa segura y eficaz en el tratamiento de los derrames cerebrales (Gándara *et al.*, 2006) (Figura 8).

Biotecnología

Investigadores de las universidades de Leeds y Southampton, en Inglaterra y Strathclyde, en Escocia, están estudiando los sonidos que emiten los murciélagos para encontrar objetos, con la finalidad de aplicarlo para crear sistemas médicos de ultrasonido más sensibles, desarrollar nuevas técnicas para la búsqueda de petróleo y fabricar implantes para personas sordas (Planeta tierra, 2011).

Fertilizante

Algunas colonias de murciélagos cavernarios producen una gran cantidad de guano que puede ser uti-



Figura 6. Murciélago de la especie *Macrotus waterhousii* (Tomada de: http://www.cayman.gov.ky/pls/portal30/PORTAL30.www_media.show?p_id=167651&p_currcornerid=164765&p_settingssetid=1&p_settingsiteid=393&p_siteid=393&p_type=text&p_textid=167652).

lizada como fertilizante porque es rico en nitrógeno y fósforo, además de contener elementos traza (micronutrientes) y microorganismos biorremediadores (limpian toxinas), fungicidas (que combaten a los hongos) y nematocidas (que ayudan a controlar a las poblaciones de nemátodos perjudiciales). En algunos sitios como la cueva Carlsbad en Nuevo México, el guano tuvo importancia económica en inicios del siglo 20 cuando se obtuvieron 101, 600 toneladas (Hutson *et al.*, 2001).

Amenazas y recomendaciones generales para la conservación de los murciélagos

Amenazas

Debido principalmente a la destrucción de su hábitat y a la caza por parte del hombre, en las últimas décadas muchas especies de murciélagos han tenido un drástico declive poblacional, a tal grado que más del 21 % de microquirópteros están amenazados y otro 23 % se consideran en riesgo. En México, la fragmentación, la deforestación y el cambio de uso del suelo los afectan, como a la mayoría de las especies, disminuyendo su abundancia y diversidad (Hutson *et al.*, 2001). Se ha demostrado que la pérdida de poblaciones de murciélagos tiene graves consecuencias sobre las redes de interacciones que forman

(Ruiz y Soriano, 2000), debido a su papel en las comunidades como polinizadores, dispersores de semillas, formadores de nichos y controladores de poblaciones de insectos.

Los murciélagos son muy susceptibles a las alteraciones de su hábitat debido a sus requerimientos especializados, a las grandes necesidades energéticas que tienen, a que algunas especies de regiones templadas tienen una baja tasa de reproducción (las hembras solo tienen una cría por año) y una longevidad extremadamente alta (25 años) en relación con su tamaño. Estas características hacen que las poblaciones sufran inestabilidades cuando la mortalidad es alta, debido a que su baja tasa de reproducción genera que la recuperación sea muy lenta (Palmeirim y Rodrigues, 1991).

La perturbación de sus refugios, como las cuevas, minas y fortificaciones abandonadas, causa graves daños a las poblaciones de murciélagos. En algunos casos puede inducir la mortandad de las crías debido a que las hembras abandonan el refugio; en otros casos, alteran el periodo de hibernación, provocando gastos energéticos que no se pueden solventar con los recursos disponibles que solo les alcanzan para subsistir en aletargamiento, por lo que no lo-



Figura 8. Murciélago hematófago *Desmodus rotundus* (Tomada de: <http://inguruaribegira.blogspot.com/2011/08/un-poco-de-biologia-de-los-murcielagos.html>).

gran sobrevivir hasta primavera (Palmeirim y Rodrigues, 1991).

También, las enfermedades pueden causar un gran impacto en las colonias de murciélagos, como es el caso de la nueva enfermedad llamada síndrome de la nariz blanca (SNB) provocado por un hongo blanco que crece en la nariz y a veces en las alas, orejas y cola. Este hongo (*Geomyces destructans*), nuevo para la ciencia, ha ocasionando el decline más agudo en la vida silvestre de América del Norte durante el último siglo, ya que ha matado a más de un millón de murciélagos en menos de cuatro años y amenaza con devastar a estas poblaciones a lo largo del continente. Aunque se cree que la principal vía de transmisión de este hongo es entre murciélagos, no se descarta la posibilidad de que los humanos puedan transportar inadvertidamente SNB de sitios infectados a lugares limpios (Bat Conservation, 2009), debido a que desafortunadamente, sus refugios son vulnerables a actividades como el turismo, la espeleología y la recolección del guano (Hutson *et al.*, 2001).

La contaminación del ambiente también genera graves daños a las poblaciones de murciélagos. Por ejemplo, el uso de insecticidas afecta considerablemente a las poblaciones de murciélagos insectívoros porque disminuye su fuente alimenticia y porque en ca-

so de que los murciélagos coman insectos contaminados con pesticidas, éste se acumula en su tejido adiposo y durante la hibernación las concentraciones de pesticida pueden ser mortales (Palmeirim y Rodrigues, 1991).

Por otro lado, la caza y la explotación comercial de murciélagos, principalmente megaquirópteros, se han traducido en la disminución de las poblaciones en muchos lugares, sobre todo cuando se introdujeron las armas de fuego en muchas comunidades (Mickleburgh *et al.*, 1992). Finalmente, es importante resaltar que las amenazas a los murciélagos son a menudo relacionados con la ignorancia de sus estilos de vida y los roles en el mantenimiento del ecosistema (Hutson *et al.*, 2001).

Recomendaciones

Existen muchas tareas pendientes en torno a la protección de los murciélagos que se deben abordar de una manera interdisciplinaria, debido a que los factores que los afectan son de índole económica, social, cultural y científica.

Desde el punto de vista legal, es importante revisar la Lista Roja de la UICN 2000 de especies amenazadas y actualizarla con la frecuencia necesaria para desarrollar planes de acción que garanticen un estado de conservación favorable para cada una de las especies de murciélagos. En general, para efectuar



Figura 7. *Tadarida brasiliensis* consumiendo una polilla (Tomada de: <http://www.fororeptiles.org/foros/showthread.php?13731-Mamiferos-mexicanos/page31>).

la conservación de murciélagos, es necesario aplicar los principios de los tratados internacionales apropiados, incluyendo el Convenio sobre la Diversidad Biológica y la Convención de la Conservación de Especies Migratorias de Animales Silvestres (Hutson *et al.*, 2001), enfocados en la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad.

En cuanto a la investigación, es prioritario continuar con estudios evolutivos, de ecolocalización, tipo de alimentación, poblacionales, migratorios y del papel que desempeñan en el mantenimiento de los ecosistemas. Así como llevar a cabo trabajos sistemáticos para resolver la situación de los taxones cuestionables, debido a que hay grupos que aún no se han descrito formalmente y esto lleva retrasos de la ejecución de planes de conservación. También, es prioritario desarrollar programas educativos dirigidos a una gran variedad de grupos, como los funcionarios públicos, administradores de tierras, espeleólogos, turistas, escuelas y al público en general, con la finalidad de difundir su importancia en las comunidades que se encuentran y evitar que se les ataque por miedo o falta de conocimiento (Hutson *et al.*, 2001).

Es importante establecer en sus hábitats programas de vigilancia y elaborar planes de gestión para sus refugios, así como iniciar programas de educación para explicar la importancia de las cuevas, minas y

otros sitios ocupados por los murciélagos, sobre todo en los lugares que presentan alta diversidad (Hutson *et al.*, 2001).

Consideraciones finales

Los murciélagos son uno de los grupos más importantes a nivel ecológico que actualmente se enfrenta a graves problemas, entre otras causas, por la falta de conocimiento sobre su diversidad y el importante papel que desempeñan en sus hábitats. Con la finalidad de contribuir a un mejor conocimiento del grupo, realizamos esta breve revisión bibliográfica, esperando aportar la información necesaria para mejorar su prestigio y al mismo tiempo su protección y la de su hábitat, implicando así la conservación de todos los servicios ecológicos generados por ellos, incluyendo la salud e integralidad del ecosistema.

Referencias

1. El siglo de Torreón. 2011. <http://www.elsiglodetorreon.com.mx/noticia/628427-murcielagos-aliados-para-elaborar-tequila.html>.
2. Bat Conservation. 2009. www.batcon.org/wms.
3. Galindo-González, J. 2004. Clasificación de los murciélagos de la región de los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana*, 20: 239-243.
4. Gándara, G., A.N. Correa y C.A. Hernández. 2006. Valoración económica de los servicios ecológicos que prestan los murciélagos *Tadarida brasiliensis* como controladores de plagas en el norte de México. Tecnológico de Monterrey. EGAP. Págs. 1-18.
5. Hutson, A. M., S. P. Mickleburgh y P. A. Racey. 2001. Microchiropteran bats: global status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Chiroptera Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 258 pp.
6. MacSwiney G.M.C. 2010. Murciélagos. En: Durán R. y M. Méndez (Eds). 2010. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. México. 496 pp.
7. Medellín, R y O. Gaona. 2010. Los murciélagos, los animales más calumniados y maltratados en México y en el mundo. *Oikos*. 1: 11-13.
8. Mickleburgh, S. P., A.M. Hutson y P. A. Racey. 1992. Old World Fruit Bats An Action Plan for their Conservation. IUCN/SSC Chiroptera Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland. On line.

9. Palmerim, J. y L. Rodrigues. 1991. Estatus y conservación de los murciélagos en Portugal. En: Benzal, J., y Paz, O. (Eds.). Monografías del ICONA, Colección Técnica. Págs. 163-179.
10. Planeta tierra. 2011. <http://huellasdecuatropatas.blogspot.com/2011/01/2011-ano-del-muecielago.html>.
11. QUO. 2011. http://www.quo.es/ciencia/naturaleza/el_ano_del_murcielago.
12. Ruiz, A. y P. J. Soriano. 2000. Los murciélagos como polinizadores y dispersores de semillas de las cactáceas columnares en los enclaves áridos andinos del norte de Suramérica. Universidad de los Andes, Venezuela. Págs. 279-289.
13. Simmons, N. B. 2005. Order Chiroptera. En: D. E. Willson y D. M. Reader, (Eds.). Mammal Species of the world: taxonomic and geographic reference, Third Edition. Volumen 1. Johns Hopkins University Press. Págs. 312-529
14. Torres Flores J. W. C. 2005. Estructura de una comunidad tropical de murciélagos presente en la cueva “El Salitre”, Colima, México. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Tesis de maestría. 132 pp.